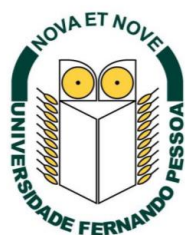


Ana Rita Miradouro Rodrigues

**Produtos Naturais na Descoberta de Fármacos**



Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2018



Ana Rita Miradouro Rodrigues

**Produtos Naturais na Descoberta de Fármacos**



Faculdade de Ciências da Saúde

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2018

Ana Rita Miradouro Rodrigues

**Produtos Naturais na Descoberta de Fármacos**

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para obtenção do  
grau de mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

---

Orientadora:

*Professora Doutora Carla Martins Lopes*

Porto, 2018

## Sumário

Desde sempre que os produtos naturais têm sido uma fonte rica para a descoberta de compostos bioativos a serem utilizados no desenvolvimento de medicamentos. Para isso muito contribui a grande diversidade de recursos naturais, quer terrestres quer marinhos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) alertou para a importância da biodiversidade, a qual seria capaz de fornecer soluções terapêuticas acessíveis para a maioria da população mundial.

A presente dissertação baseia-se numa revisão bibliográfica do uso de produtos naturais na descoberta de fármacos. Após uma contextualização histórica do tema, onde se verifica o uso de produtos naturais desde a antiguidade até à atualidade, analisaram-se os principais métodos utilizados na descoberta de fármacos a partir de produtos naturais, bem como, a sua evolução. Os fármacos foram de seguida categorizados tendo em conta a sua fonte de obtenção. Por fim, foram analisados mais pormenorizadamente produtos naturais usados no desenvolvimento de novos fármacos, com ênfase nalgumas moléculas importantes de fontes naturais que revolucionaram o tratamento de doenças.

## Abstract

Natural products have always been a rich source for the discovery of bioactive compounds to be used in drug discovery. The great diversity of natural resources, both terrestrial and marine, contributed to the discoveries. The World Health Organization (WHO) has warned about the importance of biodiversity, which would be able to provide therapeutic solutions accessible to most of the world's population. After a historical overview of the topic, where there is the use of natural products from an antiquity to the present, to analyze the main methods used in drug discovery from natural products, as well as their evolution. Finally, natural products were analyzed in more detail without development of new drugs, focusing on some important molecules from natural sources that revolutionized the treatment of diseases.

**Palavras-chave:** Produtos naturais; descoberta de fármacos; produtos naturais de origem microbiana; produtos naturais marinhos; plantas.

**Keywords:** Natural products; drug discovery; microbial natural products; marine natural products; plants.

## Índice

Sumário.....	- 1 -
Abstract.....	- 1 -
Índice de Figuras .....	- 3 -
Índice de Tabelas .....	- 5 -
Lista de abreviaturas .....	- 6 -
I. Introdução e Objetivos.....	- 7 -
II. Perspetiva Histórica.....	- 9 -
III. Métodos usados na descoberta de fármacos .....	- 14 -
IV. Classificação de fármacos de acordo com a sua origem .....	- 21 -
V. Produtos naturais usados no desenvolvimento de novos fármacos .....	- 27 -
<b>I. Plantas: .....</b>	<b>- 27 -</b>
<b>II. Organismos Marinhos.....</b>	<b>- 34 -</b>
<b>III. Microrganismos .....</b>	<b>- 37 -</b>
<b>IV. Outras fontes naturais .....</b>	<b>- 43 -</b>
V. Conclusão .....	- 44 -
VI. Bibliografia.....	- 45 -

## Índice de Figuras

Figura 1 - Morfina	- 11 -
Figura 2 – Digoxina	- 11 -
Figura 3 - Penicilina natural	- 11 -
Figura 4 - Estreptomicina	- 12 -
Figura 5 – Cloranfenicol	- 12 -
Figura 6 - Clortetraciclina	- 12 -
Figura 7 – Cefalosponica C	- 12 -
Figura 8 - Eritromicina	- 13 -
Figura 9 - Vancomicina	- 13 -
Figura 10 - Actinomicina	- 15 -
Figura 11 - Estreptotricina	- 15 -
Figura 12 - Kirromicina	- 18 -
Figura 13 - Oligomicina	- 18 -
Figura 14 - Rapamicinai	- 18 -
Figura 15 - Daunorrubicina	- 18 -
Figura 16: Mitomicina C	- 18 -
Figura 17 – Bleomicina	- 19 -
Figura 18 - Camptotecina	- 19 -
Figura 19 - Novos fármacos aprovados de 1981 - 2014; n=1562	- 23 -
Figura 20 - Fármacos aprovados por fonte e ano	- 24 -
Figura 21 - Categorias de fármacos N, NB, ND e S* aprovados por ano, 1981– 2014	- 24 -
Figura 22 - Ácido Salicílico	- 29 -
Figura 23 - Ácido Acetilsalicílico	- 29 -
Figura 24 - Paclitaxel	- 30 -
Figura 25 - Vareniclina	- 30 -
Figura 26 - Cistisina	- 30 -
Figura 27 - Homoharringtonina	- 31 -
Figura 28 - Cefalotaxina	- 31 -
Figura 29 - Mebutato de ingenol	- 31 -
Figura 30 - Artemotil	- 32 -

Figura 31 - Artemisinina	- 32 -
Figura 32 - Bromidrato de Galantamina	- 32 -
Figura 33 - Apomorfina	- 32 -
Figura 34 - Tubocaurarina	- 33 -
Figura 35 - Dapagliflozina	- 34 -
Figura 36 - Dapagliflozina + Metformina	- 34 -
Figura 37 - Ziconotida	- 36 -
Figura 38 – Eribulina	- 37 -
Figura 39 - Trabectedina	- 37 -
Figura 40 - Penicilina G	- 39 -
Figura 41 - Cefazolina	- 39 -
Figura 42 - Cefadroxil	- 39 -
Figura 43 - Mevastatina	- 39 -
Figura 44 - Lovastatina	- 39 -
Figura 45 - Ivermectina	- 39 -
Figura 46 - Coclosporina	- 40 -
Figura 47 - Norcadicina	- 40 -
Figura 48 – Imipenemo	- 40 -
Figura 49 - Aztreonam	- 41 -
Figura 50 - Avermectina	- 42 -
Figura 51 - Fingolimod	- 42 -
Figura 52 - Acarbose	- 43 -
Figura 53 - Anfotericina B	- 43 -
Figura 54 - Ergometrina	- 43 -
Figura 55 - Ácido Fusídico	- 43 -
Figura 56 - Nistatina	- 43 -
Figura 57 - Captopril	- 44 -
Figura 58 - Enalapril	- 44 -
Figura 59 - Extenatida	- 44 -

## Índice de Tabelas

Tabela 1 -Testes fenotípicos de triagem para detecção de mecanismos de resistência bacteriana mais comuns - 15 -

Tabela 2 - Novas entidades químicas e indicações médicas por fonte de composto 1/1/1981 – 12/31/2014 - 24 -

## Lista de abreviaturas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

HTPS: *High Throughput Pharmacological Screening*

API: Ingrediente farmacêutico ativo, do inglês *Active Pharmaceutical Ingredient*

B: Macromolécula biológica

N: Produto natural inalterados

NB: Produto natural botânico

ND: Derivado de produtos naturais

S: Sintético

NM: Produto natural mimetizado

S\*: Sintético com farmacóforo de produtos naturais

V: Vacina

ATP: Adenosina trifosfato, do inglês *Adenosine triphosphate*

FDA: *Food and Drug Administration*

OMS: Organização Mundial de Saúde

USDA: *United States Department of Agriculture*

NCI: *National Cancer Institute*

CFDA: do inglês *China Food and Drugs Administration*

SGLT2: Co-transportador de sódio e glucose 2, do inglês *sodium/glucose cotransporter*

2

VIH: Vírus da imunodeficiência humana

ROVs: Veículo operado remotamente, do inglês *Remotely Operated Vehicle*

## I. Introdução e Objetivos

Ao longo do tempo, os humanos têm utilizado muitos recursos oferecidos pela Natureza para combater um largo espectro de doenças. Antes do século XX, extratos de plantas, animais, microrganismos e minerais representavam os únicos produtos disponíveis para o tratamento das doenças, sendo que as plantas constituíram a principal base racional para o desenvolvimento de vários produtos utilizados na medicina tradicional (Lahlou, 2013).

Segundo Lahlou (2013), um produto natural é:

*“(...) um composto químico ou substância produzida por um organismo vivo encontrado na natureza, que geralmente possui uma atividade farmacológica ou biológica para uso na descoberta de fármacos e no seu design. Este produto pode ser considerado como tal, mesmo que possa ser preparado por síntese total. Pode ser extraído de tecidos de plantas terrestres, organismos marinhos ou microrganismos. Um extrato bruto (não tratado) de qualquer uma dessas fontes geralmente contém novos compostos químicos estruturalmente diversos.”*

Os produtos de origem natural detêm uma enorme variabilidade química estrutural e funcional devido à flexibilidade metabólica necessária à adaptação destes produtos a diversas situações de stresse ambiental (causadas por vários fatores como agentes químicos, físicos e biológicos), conseqüentemente, constituem uma fonte renovável de metabolitos especializados, isto é, verifica-se uma acumulação de metabolitos secundários por parte dos organismos vivos. Estes metabolitos têm um papel determinante na adaptação às condições ambientais, uma vez que os organismos são obrigados a ativar determinados mecanismos bioquímicos e genéticos para conseguirem sobreviver.

Os produtos naturais podem ser empregues *in natura* (por exemplo, como infusões de plantas medicinais), em preparações galénicas simples (por exemplo, como tinturas e extratos fluidos), em medicamentos fitoterápicos (por exemplo, vegetais ou frações dos mesmos, quimicamente caracterizados e padronizados, incorporados em formas farmacêuticas), ou substâncias puras (como por exemplo a penicilina que tem origem microbiana). Estes produtos podem ainda ser usados como estrutura de base para obter moléculas farmacologicamente ativas, com recurso a processos de síntese parcial, com o objetivo de melhorar as propriedades farmacológicas, ou podem ser usados como

modelos moleculares para a síntese total de novos compostos bioativos (Simões *et al.*, 2017).

Considerando os aspetos focados anteriormente, a presente dissertação tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica dos produtos naturais que estiveram na origem do desenvolvimento de fármacos, analisar os obstáculos encontrados na sua aplicação, a perspetiva da Indústria Farmacêutica, os processos utilizados para identificar potenciais produtos naturais candidatos a fármacos e o futuro da química de produtos naturais.

A pesquisa bibliográfica foi realizada recorrendo a artigos científicos publicados no *PubMed*, com base nas seguintes palavras-chave: *natural products; drug discovery; new drugs; microbial natural products; marine natural products; sources of new drugs, natural product drugs.*

## II. Perspetiva Histórica

As propriedades terapêuticas dos produtos naturais foram documentadas durante séculos, sendo que um dos primeiros registos, em escrita cuneiforme da Mesopotâmia, remonta a aproximadamente 2600 a.C.. Este registo documenta o uso de aproximadamente 1000 substâncias derivadas de plantas, como os óleos essenciais das espécies *Cupressus sempervirens* (Cipreste), *Commiphora sp.* (mirra), *Cedrus sp.* (cedro) *Glycyrrhiza glabra* (alcaçuz), e *Papaver somniferum* (papoila-dormideira), ainda usadas atualmente em diversos transtornos patológicos (Dias *et al.*, 2012; Borchardt, 2002).

O registo mais conhecido na área farmacêutica é provavelmente o Papiro Ebers, de 2900 a.C.. É um dos tratados médicos mais antigo e importante, escrito no Antigo Egito, que documenta mais de 700 medicamentos, principalmente de origem vegetal, que variam desde gargarejos a pílulas, infusões e pomadas.

Em termos de documentos, importa ainda fazer referência à Matéria Médica Chinesa, que foi extensamente documentada ao longo dos séculos, com o primeiro registo em 1100 a.C. por Wu Shi Er Bing Fang, contendo indicação de tratamentos, com base em fitoterápicos, para 52 doenças. Este livro também foi registado no Shennong Herbal, que data de aproximadamente 100 a.C., englobando 365 medicamentos, e na Tang Herbal, de 659 d.C., com referência a 850 fitoterápicos (Cragg and Newman, 2013; Jütte *et al.*, 2017).

O sistema de documentação Indiano, medicina Ayurveda, é anterior a 1000 a.C., dividindo-se em Charaka com 341 fármacos e Sushruta e Samhitas com 516 fármacos, com origem, principalmente, em produtos vegetais (Dev, 1999).

Os gregos e romanos contribuíram substancialmente para o desenvolvimento racional do uso de compostos bioativos à base de plantas no antigo mundo ocidental (Cragg and Newman, 2013). O filósofo grego e cientista natural, Theophrastus, em 300 a.C., examinou várias ervas medicinais. No ano 100 d.C., Dioscorides, médico grego, registou a recolha, o armazenamento e as indicações de diversas ervas medicinais.

Galeno, considerado o pai da Farmácia, foi médico e professor de farmácia e do medicamento, em Roma, no período de 130-200 d.C.. Ficou conhecido pelas suas receitas e fórmulas utilizadas na composição de medicamentos complexos.

Durante a idade média, os árabes preservaram o conhecimento greco-romano e expandiram o uso dos seus próprios recursos, juntamente com ervas chinesas e indianas desconhecidas no mundo greco-romano. Por outro lado, o conhecimento Ocidental foi preservado em mosteiros na Inglaterra, Irlanda, França e Alemanha (Dias *et al.*, 2012).

No século VII, os árabes foram os primeiros a privatizar as farmácias, tendo Avicena, um farmacêutico, médico, filósofo e poeta persa, contribuído muito para as ciências da farmácia e medicina, através de obras como a *Canon Medicinae* (Dias *et al.*, 2012; Clausen *et al.*, 2001).

A grande revolução do pensamento relativamente ao uso de fármacos deu-se no século XX, com o aparecimento da ideia de que o efeito do fármaco no corpo humano é mediado por interações específicas da molécula de fármaco com macromoléculas biológicas, como as proteínas, isto é, a teoria dos recetores de ação do fármaco (Lahlou, 2013). Com estes novos conhecimentos, concluiu-se que compostos químicos individuais são responsáveis pela atividade do fármaco e não os fatores sobrenaturais, que até esse momento eram associados ao sucesso dos tratamentos.

Baseado nestas conclusões, surgiu uma nova era na área da farmacologia, em que produtos químicos puros, em vez de extratos puros e semi-puros de animais, plantas, microrganismos e minerais, passaram a ser utilizados como o tratamento padrão para as doenças. Desta forma, muitos compostos bioativos responsáveis pelos efeitos dos extratos puros foram descobertos e tiveram a sua estrutura química explicada.

Alguns exemplos clássicos de fármacos descobertos desta forma são a morfina (Figura 1), o agente ativo no ópio, e a digoxina (Figura 2), um digitálico oriundo da flor *Digitalis lanata* (Lahlou, 2013).

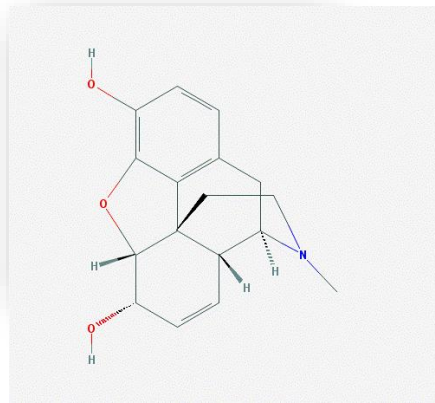


Figura 1 – Morfina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

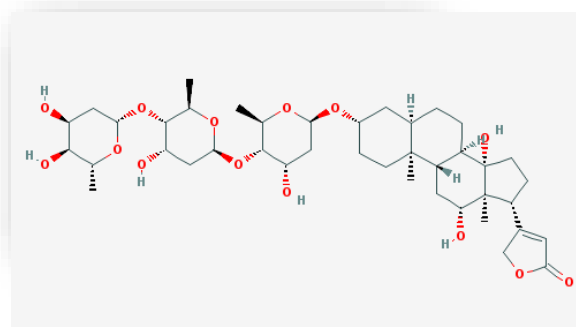


Figura 2 – Digoxina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Outro grande avanço na área da farmacologia foi a descoberta do filtrado antibacteriano, "penicilina", por Fleming em 1928 (Figura 3). O seu isolamento e estudos clínicos, desenvolvidos por Chain, Florey e colegas, no início da década de 1940, e a comercialização de penicilinas sintéticas revolucionaram a pesquisa de novos fármacos (Butler, 2004).

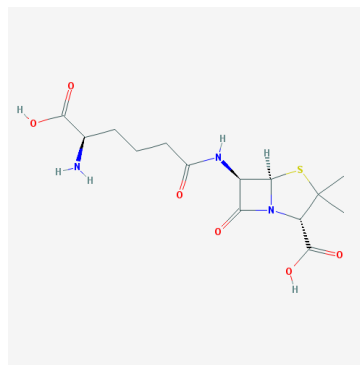


Figura 3 - Penicilina natural: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Devido ao sucesso terapêutico da penicilina, as Indústrias Farmacêuticas e os grupos de investigação reuniram grandes coleções de culturas de microrganismos com o objetivo de descobrir novos antibióticos. A produção de antibióticos nos primeiros anos desta pesquisa foi prolífica e incluiu vários exemplos de compostos, como a estreptomicina (Figura 4), o cloranfenicol (Figura 5), a clortetraciclina (Figura 6), a cefalosporina C (Figura 7), a eritromicina (Figura 8) e a vancomicina (Figura 9) (Butler, 2004).

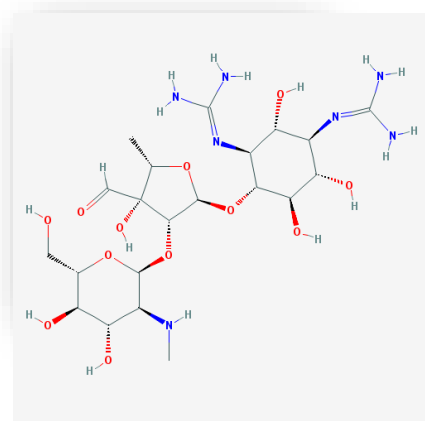


Figura 4 - Estreptomicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

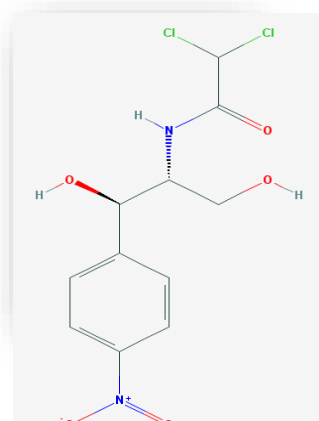


Figura 5 – Cloranfenicol: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

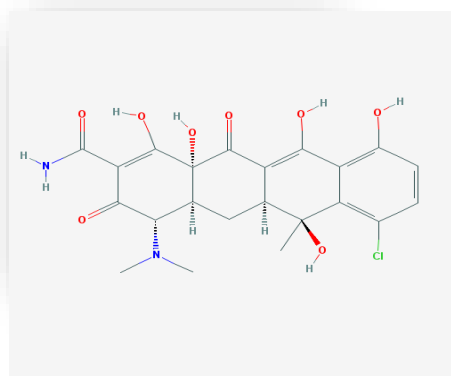


Figura 6 - Clortetraciclina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

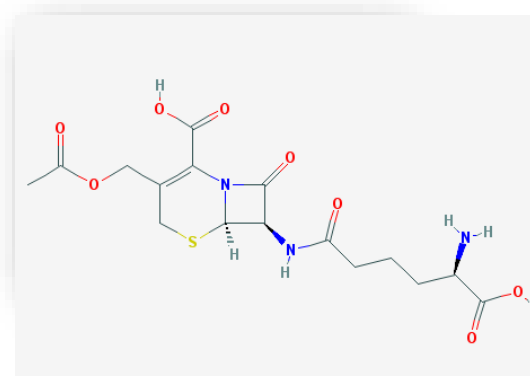


Figura 7 – Cefalosponica C: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

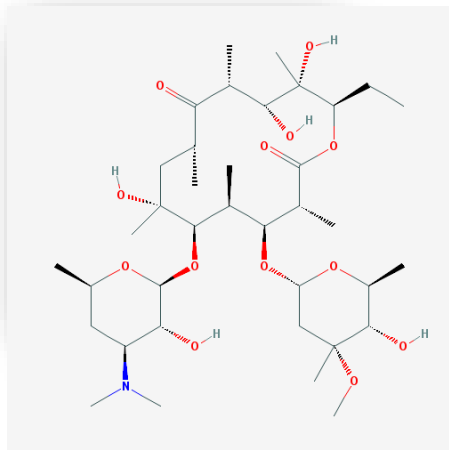


Figura 8 - Eritromicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

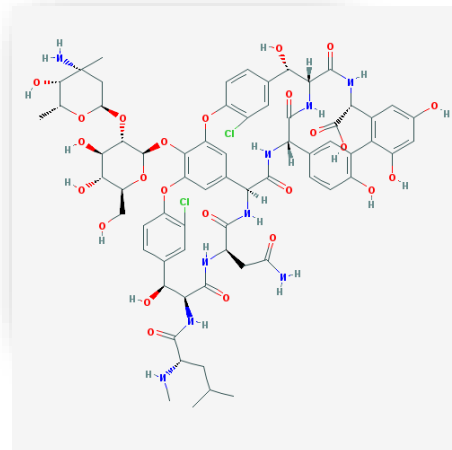


Figura 9 – Vancomicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Relativamente aos fármacos nos seus primórdios, os produtos naturais foram a fonte da maioria das substâncias ativas dos medicamentos. Antes do aparecimento de técnicas de síntese mais avançadas e da era pós-genómica, mais de 80% das substâncias medicamentosas eram produtos naturais ou análogos inspirados em produtos naturais. Tal facto justifica-se em parte, devido à enorme diversidade estrutural e química dos produtos naturais e às suas incríveis propriedades moleculares e farmacológicas, o que provocou um reaparecimento do uso de produtos naturais nos anos 1990 e 2000. Uma análise às fontes de novos fármacos entre os anos 1994 e 2007, permite constatar que quase metade compostos aprovados foram baseados em produtos naturais (Harvey, 2008).

### III. Métodos usados na descoberta de fármacos

Para que um candidato a fármaco seja aprovado pelas agências regulamentares e possa ser comercializado, necessita de passar por diversas etapas com o objetivo de serem cumpridos os requisitos fundamentais da qualidade, da eficácia e da segurança do produto. As especificações são fundamentalmente as mesmas, independentemente de o candidato a fármaco ser uma substância sintética, semissintética ou de ser um produto isolado de uma fonte natural. Desta forma, o processo de aprovação de fármacos compreende quatro grandes fases (Simões *et al.*, 2017):

1. Identificação dos compostos moleculares (i.e., *lead compounds*);
2. Otimização dos protótipos através de ferramentas químicas, com vista ao desenvolvimento das propriedades biofarmacêuticas;
3. Farmacologia e toxicologia pré-clínicas;
4. Farmacologia e toxicologia clínicas.

A descoberta de produtos naturais para utilização como fármacos tem sofrido uma grande evolução desde a década de 40 do século XX. Durante os primeiros 30 anos, as estratégias eram relativamente simples, melhoradas, em termos de produtividade, pelos avanços ocorridas na tecnologia nas duas décadas seguintes. No entanto, foram esses mesmos progressos que intensificaram o interesse por fármacos de síntese química e, conseqüentemente, o uso de produtos naturais na procura de novos fármacos decresceu de forma intensiva (Katz and Baltz, 2016).

A descoberta da penicilina e o seu uso durante a Segunda Guerra Mundial levou à triagem sistemática de Actinomicetos, bactérias Gram-positivas obtidas a partir de amostras de solo, resultando no aparecimento de compostos como a Actinomicina (Figura 10), a Estreptotricina (Figura 11) e a Estreptomina (Figura 4). Como consequência destas descobertas, as Indústrias Farmacêuticas obtiveram extratos de Actinomicetos e fungos para atuarem principalmente contra bactérias patogénicas. Este procedimento exigia a aquisição de microrganismos para fermentação, o posterior isolamento do produto e realização de testes de caldos de fermentação e compostos purificados, comparando-os com os organismos de teste. Para concretizar estes testes, utilizavam-se bioensaios de *screening* fenotípico.

Os testes de *screening* fenotípico empregam uma linha celular, como bactérias, leveduras, células, tecidos eucarióticos em cultura, entre outros, e um método para determinar uma resposta a um composto teste, sem conhecimento prévio do seu mecanismo de ação, sendo a leitura mais acessível a inibição ou a morte celular. Esta técnica foi usada para identificar mais de 1000 produtos naturais com atividade antibacteriana ou antifúngica, incluindo dezenas de compostos que foram posteriormente aprovados como fármacos (Katz and Baltz, 2016).

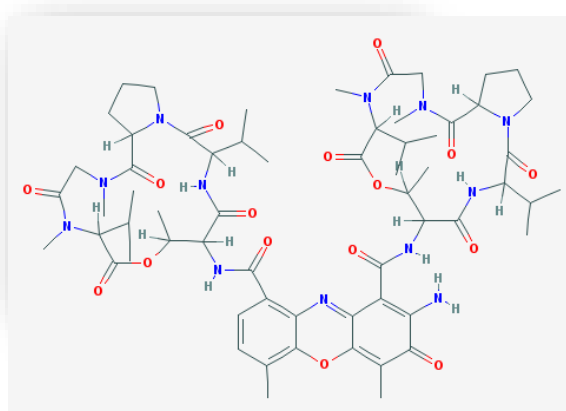


Figura 10 - Actinomicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

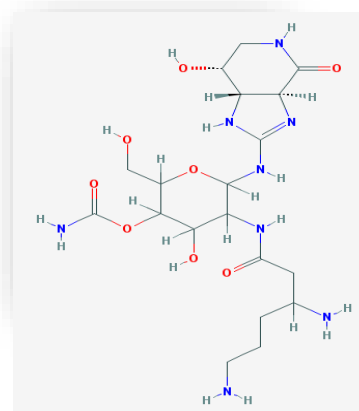


Figura 11 - Streptotricina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Atualmente, esta técnica ainda é usada como alternativa aos testes moleculares, uma vez que são testes capazes de detectar com precisão bactérias resistentes (Tabela 1) (Gales et al., 2008).

Tabela 1 - Testes fenotípicos de triagem para detecção de mecanismos de resistência bacteriana mais comuns. Tabela adaptada de (Gales et al., 2008)

Microrganismos	Resistência	Screening fenotípico	Meio de cultura e tempo de incubação	Testes confirmatórios	Controlo de qualidade
<i>S. aureus</i>	Oxacilina	Teste de triagem agar diluição	MH suplementado com 4% de NaCl + 6µg/ml de OXA 33 – 35°C durante 24h	Testes de diluição	<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (S) <i>S. aureus</i> ATCC 43300 (R)
<i>S. aureus</i> e <i>S. lugdunensis</i>	Oxacilina	Disco difusão, halos de inibição: CFO (30µg) ≤ 21 mm = mecA (+) ≥ 22 mm = mecA (-)	MH 33 – 35°C, 16 a 18h	Microdiluição em caldo	<i>S. aureus</i> ATCC 25923 mecA (-), 23 – 29 mm <i>S. aureus</i> ATCC 43300 mecA (+), ≤ 21 mm

Durante as primeiras três décadas de pesquisa de antibióticos na Indústria Farmacêutica, muitos produtos naturais foram descobertos a partir de fontes microbianas. Muitos destes compostos, ou seus derivados semissintéticos de segunda, terceira ou quarta geração, ainda são usados atualmente na prática clínica.

Um número significativo de novas entidades químicas, foram descobertas a partir do rastreio de amostras de solo, mas apenas um pequeno número serviu de base para o desenvolvimento de fármacos. No entanto, o sucesso alcançado a partir do lançamento comercial de um único composto foi suficiente para manter este processo inalterado por mais de 30 anos, apesar de ser considerado um procedimento de baixo rendimento, estando limitado pelo crescimento lento dos Actinomicetos e dos fungos examinados.

Os primeiros 30 anos de descoberta de produtos naturais seguiram o seguinte padrão (Katz and Baltz, 2016):

1. *Screening* fenotípico,
2. Isolamento do composto e caracterização estrutural,
3. Estudos de mecanismo de ação em alguns casos,
4. Desenvolvimento pré-clínico e, se bem-sucedido,
5. Desenvolvimento clínico e comercialização.

Durante este período, os esforços foram direcionados principalmente para descobrir compostos antibacterianos e antifúngicos sendo a leitura baseada na morte celular (ou na inibição da proliferação microbiana).

Os primeiros medicamentos contra o cancro também foram detetados com base no teste de *screening* fenotípico, usando linhas celulares estáveis de cancro, primeiro cultivadas em modelos animais e, posteriormente, *in vitro* (Kingham *et al.*, 2016).

Na década de 50, as Indústrias Farmacêuticas ficaram interessadas em expandir os esforços para encontrar compostos para o tratamento do cancro. Os agentes anticancerígenos foram testados observando a redução de tumores transplantados ou induzidos experimentalmente em roedores, ou observando os efeitos citotóxicos das linhas celulares tumorais cultivadas (Iftime *et al.*, 2016). Como exemplos de fármacos obtidos com base nesta estratégia citam-se a Kirromicina (Figura 12), a Oligomicina (Figura 13) ou o agente antifúngico Rapamicina (Figura 14). Por outro lado, os mesmos ensaios foram usados para identificar inicialmente as atividades antitumorais dos

compostos Daunorrubicina (Figura 15), Mitomicina C (figura 16), Bleomicina (Figura 17) e Camptotecina (figura 18) (Kinghorn *et al.*, 2016; Katz and Baltz, 2016).

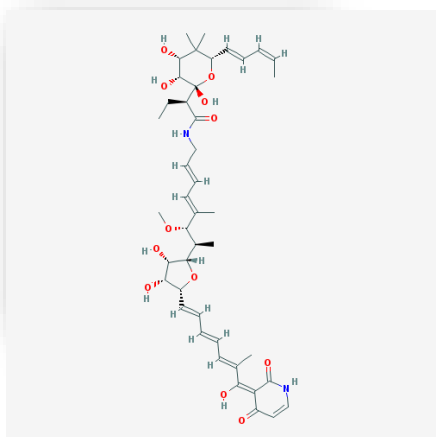


Figura 12 - Kirromicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

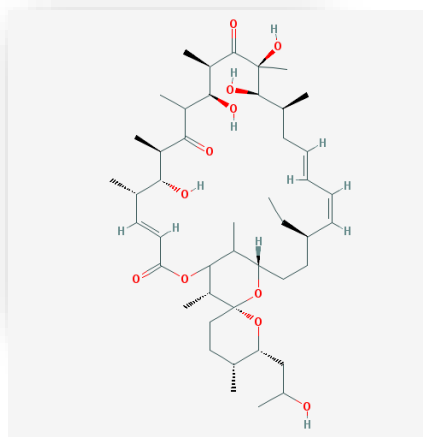


Figura 13 - Oligomicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

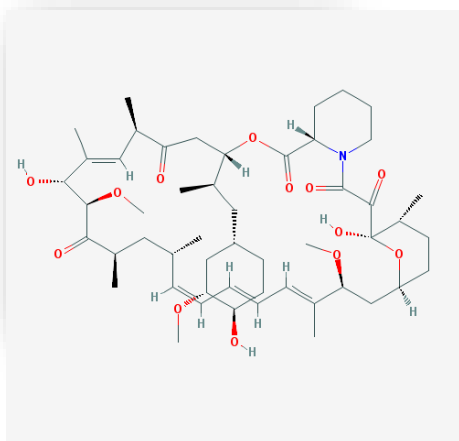


Figura 14 - Rapamicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

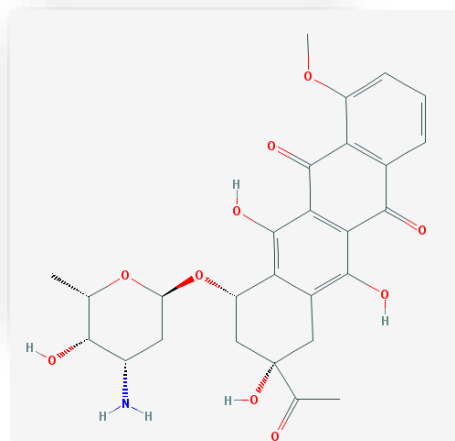


Figura 15 - Daunorrubicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

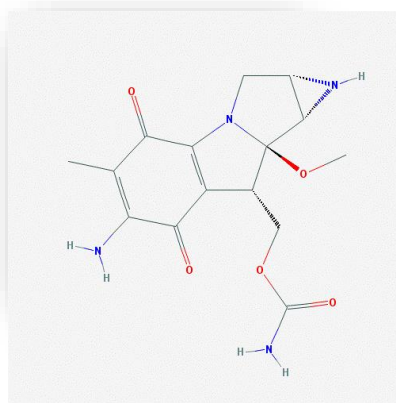


Figura 16: Mitomicina C: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

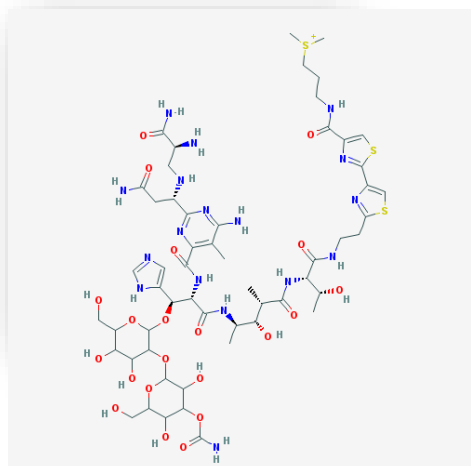


Figura 17 – Bleomicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

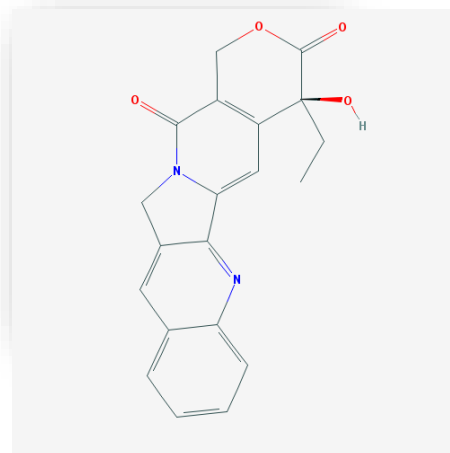


Figura 18 - Camptotecina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Nas décadas de 1970 a 2000 assistiu-se ao desenvolvimento de novas metodologias e estratégias de triagem. Os avanços nas tecnologias de ADN (ácido desoxirribonucleico) recombinante e outras tecnologias de engenharia genética permitiram aos investigadores determinarem de forma mais rápida o mecanismo de ação dos produtos naturais e dos seus análogos semissintéticos e sintéticos. Desta forma, o rápido desenvolvimento de ensaios bioquímicos ou celulares originou as conhecidas técnicas de *screening* baseadas em alvo (*target-based screening*) (Katz and Baltz, 2016).

Esta nova técnica, associada a outros fatores, como à crescente compreensão da regulação do ciclo celular, do papel dos recetores nas respostas biológicas, das bases genéticas do cancro, e ainda as melhorias nas metodologias de culturas celulares e ao conhecimento obtido através da técnica de *screening* fenotípico sobre compostos ativos contra o cancro e várias doenças neurológicas, metabólicas ou cardíacas, permitiram o desenvolvimento de um grande número de fármacos (Katz and Baltz, 2016)

Tal como referido anteriormente, na técnica de *screening* fenotípica, o mecanismo de ação (ou seja, o alvo molecular) do composto testado não é conhecido. Em contrapartida, o *screening* baseado em alvo apoia-se na compreensão validada de que a interação do composto testado com o alvo designado (geralmente, uma enzima, complexo enzimático ou um recetor) resulta no efeito farmacológico desejado (Garcia-Castro *et al.*, 2016). O *screening* fenotípico é um ensaio que fornece uma leitura mensurável se o composto testado interagir especificamente com o alvo. Os ensaios de

*screening* baseados em alvo podem ser tão simples quanto os ensaios de enzimas *in vitro*. Estes ensaios também podem utilizar leveduras ou bactérias geneticamente modificadas em leituras de sobrevivência de células inteiras, semelhantes às utilizadas no *screening* fenotípico (Garcia-Castro *et al.*, 2016).

Durante o período compreendido entre os meados da década de 1990 e meados da década de 2000, milhões de compostos foram examinados em centenas de alvos em áreas relacionadas com as doenças metabólicas, cancro, neurobiologia, doenças cardiovasculares, imunologia e doenças infecciosas. Neste período, foram analisados mais testes do que nos últimos 60 anos de descoberta de medicamentos. Tal facto pode ser explicado pela aplicação da técnica de *High Throughput Pharmacological Screening* (HTPS) (Littleton *et al.*, 2005).

O HTPS é uma metodologia eficaz e bem estabelecida para avaliar o efeito biológico de grandes coleções de compostos químicos. Esta metodologia evoluiu e foi intensamente aplicada ao longo dos anos em grandes Indústrias Farmacêuticas, originando mais novos ingredientes farmacêuticos ativos (API, do inglês *Active Pharmaceutical Ingredients*) do que qualquer outra abordagem racional (Katz and Baltz, 2016).

Entre as ferramentas utilizadas nas fases de identificação e otimização dos protótipos bioativos estão o HTPS e predições *in silico*, isto é, através de simulações computacionais, tanto para a pesquisa de alvos de ação, quanto para estudos farmacocinéticos (i.e. de absorção, distribuição, metabolismo e excreção) (Schmitt *et al.*, 2016).

A avaliação fenotípica com modelos animais é a estratégia que apresenta melhor correspondência com as doenças humanas, devido aos dados produzidos (bases fisiopatológicas da doença, relações farmacocinéticas e farmacodinâmicas, identificação de novos alvos moleculares, previsão de esquemas posológicos e avaliação da segurança) (Simões *et al.*, 2017).

A crescente demanda de novos fármacos estimulou o desenvolvimento de processos biotecnológicos para o estabelecimento de tecnologias *in vitro*, com o objetivo de manter uma produção contínua, sob condições monitorizadas e maiores teores de metabolitos secundários (Eder *et al.*, 2014).

Os avanços na síntese química indicavam que iria ser possível sintetizar em laboratório substâncias derivadas de plantas com interesse farmacêutico, mas tal não foi possível, uma vez que esta síntese costuma ser extremamente complexa, com rendimento baixo e, conseqüentemente, baixo interesse económico (Simões *et al.*, 2017).

## IV. Classificação de fármacos de acordo com a sua origem

De acordo com alguns autores (Newman and Cragg, 2016, 2012; Newman *et al.*, 2003; Cragg *et al.*, 1997), os fármacos podem ser classificados de acordo com a sua origem em diferentes grupos, nomeadamente:

- B: Macromolécula biológica
- N: Produto natural inalterados
- NB: Produto natural botânico
- ND: Derivado de produtos naturais
- S: Sintético
- NM: Produto natural mimetizado
- S\*: Sintético com farmacóforo de produtos naturais
- V: Vacina

As macromoléculas biológicas (B) são geralmente moléculas compostas por péptido ou proteína isolada de um organismo/linha celular ou produzida com recursos a meios biotecnológicos num hospedeiro substituto

Os fármacos pertencentes ao grupo N são produtos naturais inalterados, enquanto os fármacos NB são misturas botânicas reconhecidas pela FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) e outras entidades relacionadas com o medicamento (Newman and Cragg, 2012).

Os compostos ND são derivados de uma fonte de produtos naturais, isto é, são de origem semissintéticos.

Os compostos classificados como S são fármacos obtidos por síntese química e os fármacos S\* são de fonte sintética, mas originalmente modelados de um produto natural, ou seja, o farmacóforo deste composto é obtido a partir de um produto natural.

Os produtos naturais mimetizados (NM) incluem fármacos sob ambas as subdivisões principais S\* e S que, embora totalmente sintéticos, são modelados num inibidor do produto natural do alvo molecular de interesse ou inibem competitivamente o substrato endógeno de um local ativo, como a ATP (adenosina trifosfato, do inglês *adenosine triphosphate*), aminas adrenérgicas e endotelinas.

Os fármacos V referem-se a vacinas (Newman *et al.*, 2003).

A Figura 19 representa a distribuição percentual e unitária de fármacos aprovados, classificados de acordo com a sua origem, entre o ano 1981 e 2014 (Newman and Cragg, 2016). É possível concluir que, apesar dos fármacos desenvolvidos com base em produtos naturais não representarem o grupo com maior percentagem de aprovações, ainda detêm uma percentagem de 40% (relativa aos fármacos N; NB; ND; S\* e S\*/NM).

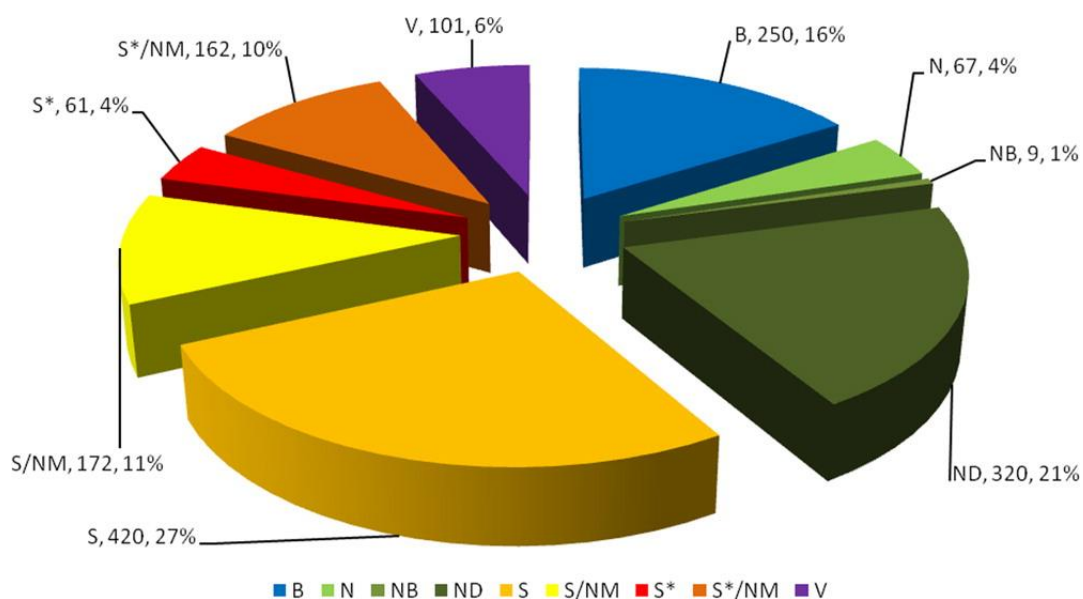


Figura 19 - Novos fármacos aprovados de 1981 - 2014; n=1562: Imagem adaptada de (Newman and Cragg, 2016)

A Figura 20 apresenta a distribuição anual de fármacos aprovados de acordo com a fonte de obtenção (Newman and Cragg, 2016). Nos últimos anos, verifica-se uma tendência para a aprovação de fármacos com origem biológica (B), e sintética (S e S/NM), no entanto, também se pode verificar um aumento na aprovação de fármacos de origem sintética, mas com farmacóforo de produtos naturais (ou seja, compostos classificados com as letras S\* e S\*/NM). A principal razão para se verificar esta tendência é provavelmente o grande avanço na área da biotecnologia.

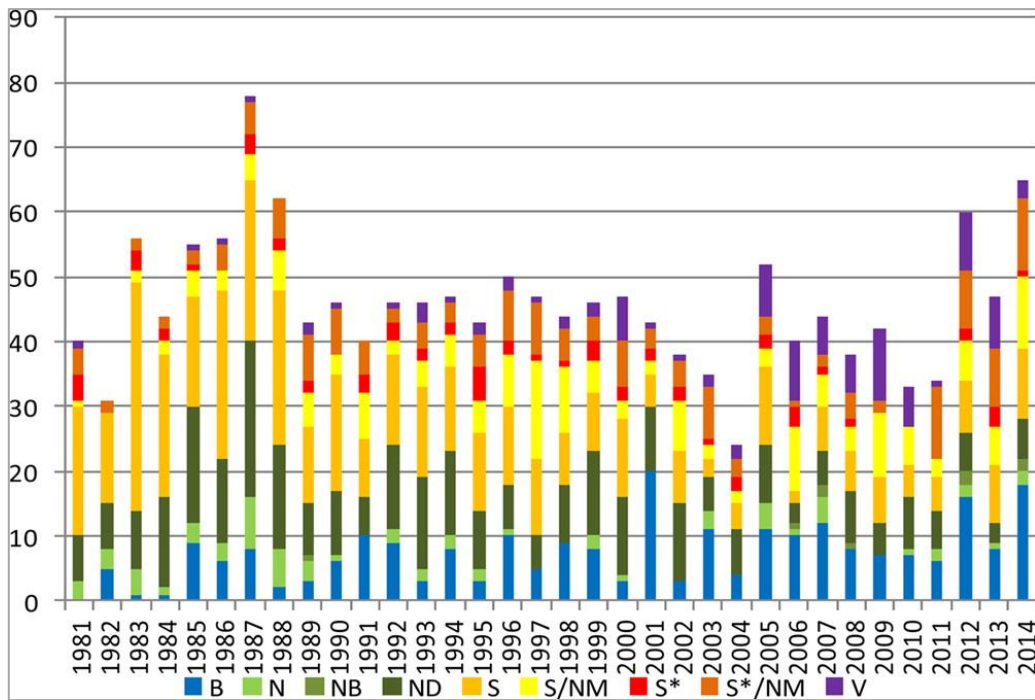


Figura 20 - Fármacos aprovados por fonte e ano: Imagem adaptada de (Newman and Cragg, 2016)

A distribuição anual dos fármacos aprovados baseados em produtos naturais encontra-se representada na Figura 21 (Newman and Cragg, 2016). De acordo com os dados apresentados, constata-se que a classificação predominante transversal a todos os anos é a ND (compostos derivados de produtos naturais), isto é, de uma forma geral, a maioria dos fármacos baseados em produtos naturais aprovados são derivados de produtos naturais.

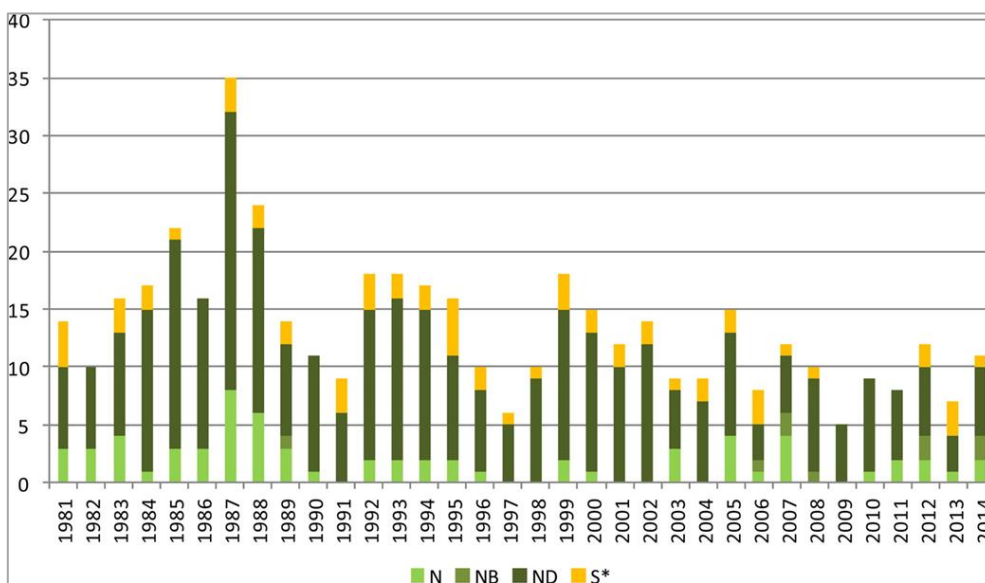


Figura 21 - Categorias de fármacos N, NB, ND e S\* aprovados por ano, 1981–2014: Imagem adaptada de (Newman and Cragg, 2016)

A Tabela 2 refere todos os novos fármacos aprovados no período de 1981 a 2014, divididos por grupo terapêutico, onde para o mesmo grupo é possível observar as diferentes origens (Newman and Cragg, 2016).

*Tabela 2 - Novas entidades químicas e indicações médicas por fonte de composto 1/1/1981 – 12/31/2014:  
Tabela adaptada de (Newman and Cragg, 2016)*

<b>Indicação Terapêutica</b>	<b>To tal</b>	<b>B</b>	<b>N</b>	<b>N b</b>	<b>N d</b>	<b>S</b>	<b>S/ N m</b>	<b>S*</b>	<b>S* /N m</b>	<b>V</b>
<b>Doença pulmonar obstrutiva</b>	8						3		5	
<b>Analgésico</b>	17		1			11	3	2		
<b>Anestésico</b>	5					5				
<b>Doença de Alzheimer</b>	6	1	1		1		3			
<b>Doença de Gaucher</b>	5	3			1				1	
<b>Antiparkinsoniano</b>	12				1	1	5	1	4	
<b>Antialérgico</b>	18		1	1	4	12				
<b>Antianginoso</b>	5					5				
<b>Antiarrítmico</b>	17		1			14			2	
<b>Antiartrítico</b>	22	6	1	1	3	4	6		1	
<b>Antiasmático</b>	14	1			3	2	6		2	
<b>Antibacteriano</b>	140	1	11		71	29			1	27
<b>Anticancerígeno</b>	174	33	17	1	38	23	20	13	24	5
<b>Anticoagulante</b>	22	5			13			1	3	
<b>Antidepressivo</b>	27					8	17		2	
<b>Antidiabético, Tipos 1 E 2</b>	52	23	1		6	4	11	1	6	
<b>Antiemético</b>	11					1	2		8	
<b>Antiepilético</b>	17				2	11		2	2	
<b>Antifúngico</b>	32	1			3	25	3			
<b>Antiglaucoma</b>	14				5		5	1	3	
<b>Anti-histamínico</b>	14					14				
<b>Anti-hiperprolactinemia</b>	4				4					
<b>Anti-hipertensor</b>	80				2	28	15	2	33	
<b>Anti-inflamatório</b>	51	1			13	37				
<b>Cefaleias</b>	10					2	1		7	
<b>Anti-obesidade</b>	6				1	1	4			
<b>Antiparasitário</b>	16		2		5	5		3		1
<b>Anti-psoriático</b>	11	4		1	3		1	1	1	
<b>Antipsicótico</b>	11					3	6		2	
<b>Anti-trombótico</b>	30	13	1		5	2	6		3	

<b>Antiulceroso</b>	34	1	1		12	20				
<b>Antiviral</b>	13 9	14			4	14	5	24	17	61
<b>Ansiolítico</b>	10					8	2			
<b>Hiperplasia benigna da próstata</b>	4		1		1	1	1			
<b>Broncodilator</b>	8				2				6	
<b>Metabolismo do cálcio</b>	20				8	9	3			
<b>Cardiotónico</b>	13				3	2	3		5	
<b>Agente quelante</b>	4					4				
<b>Anticoncepcionais</b>	9				8		1			
<b>Fibrose Cística</b>	4	1				3				
<b>Diurético</b>	6					4	2			
<b>Agentes reguladores da eritropoiese</b>	5	5								
<b>Prócínético Gástrico</b>	4					1	2		1	
<b>Agentes reguladores da hematopoieses</b>	7	7								
<b>Hemofilia</b>	19	19								
<b>Hemostático</b>	4	4								
<b>Hormona</b>	22	12			10					
<b>Terapia hormonal de substituição</b>	8				8					
<b>Hiperfosfatémia</b>	5					5				
<b>Hipnótico</b>	12					12				
<b>Hipocolesterolémico</b>	13		4		1	2	1		5	
<b>Hipolipidémico</b>	8		1			7				
<b>Imunomodulador</b>	4	2	1		1					
<b>Imunostimulante</b>	12	6	3		2	1				
<b>Imunossupressor</b>	14	6	5		3					
<b>Síndrome do intestino irritável</b>	5				1	1			3	
<b>Degeneração macular</b>	6	4			1	1				
<b>Disfunção sexual masculina</b>	5								5	
<b>Esclerose múltipla</b>	10	4			2	2		1	1	
<b>Relaxante muscular</b>	10				4	2	1	3		
<b>Neuroléptico</b>	9					1	6		2	
<b>Nootrópico</b>	8				3	5				
<b>Osteoporose</b>	6	3			2	1				
<b>Antiagregante plaquetário</b>	4				3		1			
<b>Síndrome de dificuldade respiratória</b>	7	4	1			1	1			
<b>Incontinência urinária</b>	6					2	3		1	
<b>Vasodilatação</b>	5				3	2				
<b>Cicatrizante</b>	8	5			2	1				
<b>Total</b>	<b>13 28</b>	<b>18 9</b>	<b>54</b>	<b>4</b>	<b>26 8</b>	<b>35 9</b>	<b>14 9</b>	<b>55</b>	<b>15 6</b>	<b>94</b>

Quando se analisa a lista de novos medicamentos aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA), nas últimas três décadas, verifica-se que um terço dos

medicamentos de moléculas pequenas (isto é, não incluindo medicamentos biológicos, como por exemplo vacinas) baseia-se em produtos naturais ou são derivados de produtos naturais. Adicionalmente, a maioria das moléculas envolvidas em ensaios clínicos, em particular os agentes anticancerígenos e antimicrobianos, foram desenvolvidas a partir de produtos naturais (Annamalai *et al.*, 2017).

## V. Produtos naturais usados no desenvolvimento de novos fármacos

### I. Plantas:

Como mencionado anteriormente, as plantas foram bem documentadas pelos seus usos medicinais durante milhares de anos. As propriedades farmacológicas destes produtos naturais foram utilizadas como fonte primária de medicamentos e para a descoberta precoce de fármacos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1985, 80% da população mundial confiava nos medicamentos tradicionais baseados em plantas para os cuidados primários de saúde (Farnsworth *et al.*, 1985).

O conhecimento científico associado à medicina tradicional promoveu novas investigações de plantas medicinais como potenciais fontes de compostos bioactivos, procedendo-se ao isolamento de muitos produtos naturais que, posteriormente, foram aprovados como produtos farmacêuticos (Dias *et al.*, 2012). São vários os exemplos destes fármacos, alguns dos quais são apresentados a seguir.

O ácido salicílico (Figura 22), extraído da casca do salgueiro-branco (*Salix alba*) (contém salicina, componente que depois de metabolizado pelo organismo transforma-se em ácido salicílico), tornou-se uma medicação popular no século XIX. Os salicilatos são especialmente úteis para o tratamento e o alívio da dor de doentes com problemas reumáticos. Embora o ácido acetilsalicílico tenha sido sintetizado pela primeira vez em 1853, Felix Hoffman, químico alemão da *Bayer*, elaborou o primeiro procedimento sintético de grande escala para adicionar um radical acetil ao ácido salicílico em 1897. O ácido acetilsalicílico (Figura 23) possui as propriedades anti-inflamatórias da casca de salgueiro e do ácido salicílico, mas apresenta a vantagem de ser menos irritante para o trato gastrointestinal (Schrör, 2016).

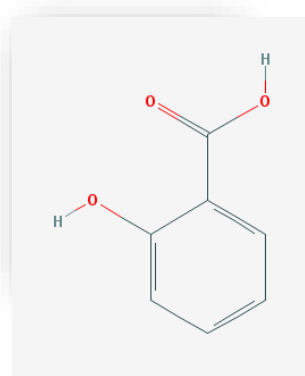


Figura 22 - Ácido Salicílico: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

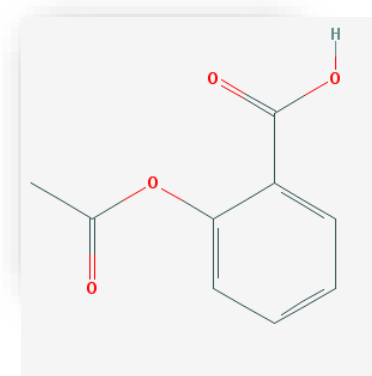


Figura 23 - Ácido Acetilsalicílico: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

Nos últimos 50 anos, os produtos naturais têm desempenhado um papel importante na área da quimioterapia, uma vez que a partir destes foram desenvolvidos compostos considerados como fármacos líder para otimização sintética. Adicionalmente, foram sintetizadas substâncias para detetar mecanismos de ação celulares e moleculares relevantes para a inibição da proliferação celular. De um total de 175 fármacos anticancerígenos introduzidos na terapia em países ocidentais durante um período de aproximadamente 70 anos, cerca de 49% foram obtidos diretamente de organismos ou foram derivados de produtos naturais (Kinghorn *et al.*, 2016).

Um dos fármacos mais utilizados no tratamento de cancro da mama é o Paclitaxel (Figura 24), comercialmente denominado de Taxol<sup>®</sup>, isolado pela primeira vez da casca de *Taxus brevifolia* (Teixo do Pacífico). A casca desta árvore foi recolhida pela primeira vez em 1962, pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, do inglês *United States Department of Agriculture*), como parte do seu programa exploratório de triagem de plantas para o Instituto Nacional de Cancro (NCI, do inglês *National Cancer Institute*). Algumas informações relevantes deste procedimento incluem a necessidade de recolher a casca de cerca de três árvores de 100 anos para produzir um grama de fármaco, e sabe-se que um ciclo de tratamento pode necessitar de dois gramas de composto. A demanda atual deste fármaco implica a sua síntese em laboratório, como explorado numa secção posteriormente (Kasaei *et al.*, 2017; Dias *et al.*, 2012).

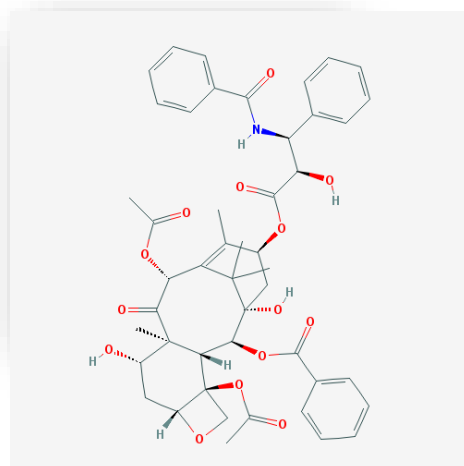


Figura 24 - Paclitaxel: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

A Pfizer desenvolveu o fármaco Vareniclina (Figura 25), um agonista parcial do subtipo recetor de acetilcolina nicotínico  $\alpha_4\beta_2$ , aprovado em 2006, para o tratamento da dependência do tabaco. Este fármaco é produzido a partir de um alcaloide natural da cistisina, encontrada em vários membros da família *Leguminosae / Fabaceae*. A própria Cistisina (Figura 26) é utilizada, desde 1960, como tratamento adjuvante na cessação tabágica e encontra-se atualmente disponível na Europa Oriental, com a designação comercial de Tabex<sup>®</sup> (Butler et al., 2014).

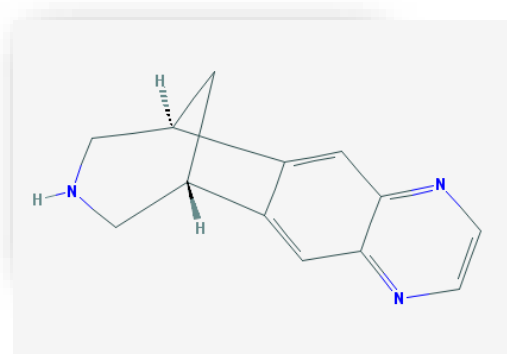


Figura 25 - Vareniclina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

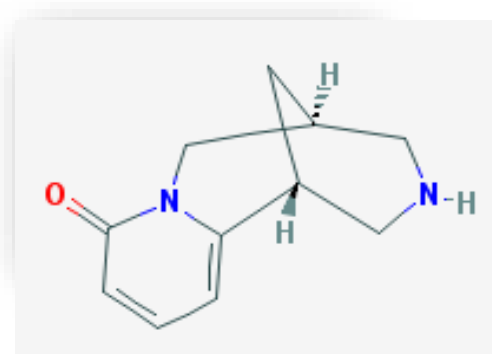


Figura 26 - Cistisina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

A Homoharringtonina (Figura 27), um inibidor da síntese proteica, foi aprovada pela FDA em Outubro de 2012, como um novo agente anti-leucémico e é derivado do alcaloide da Cefalotaxina (Figura 28). Este alcaloide foi isolado a partir de duas espécies de *Cephalotaxus*.

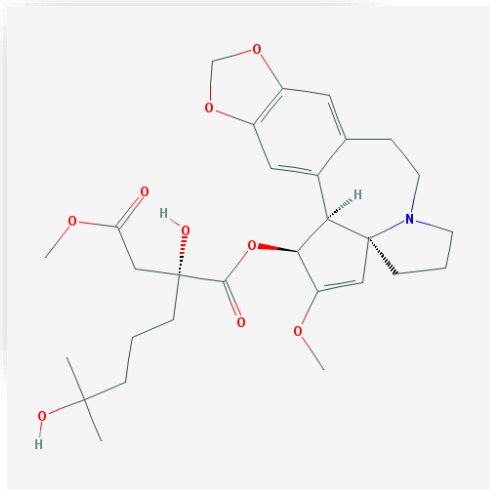


Figura 27 - Homoharringtonina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

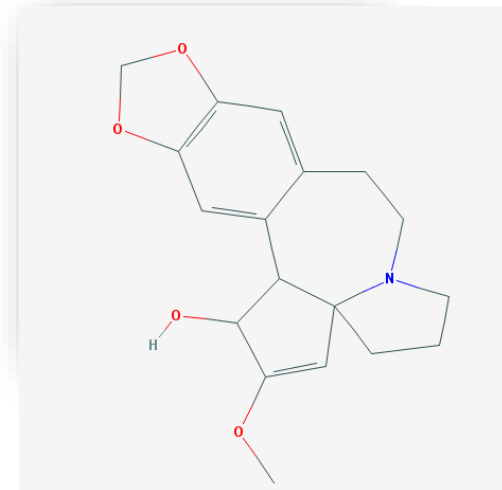


Figura 28 - Cefalotaxina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Outra substância vegetal aprovada, em 2012, foi o Mebutato de ingenol (Figura 29), usado no tratamento tópico da queratose actínica, comumente referida como queratose solar ou manchas do sol, uma condição que pode levar ao carcinoma de células escamosas (Kinghorn *et al.*, 2016).

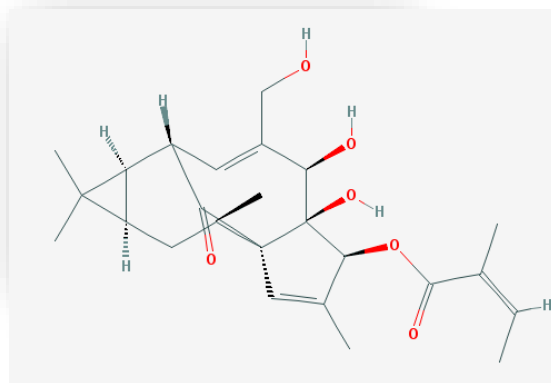


Figura 29 - Mebutato de ingenol: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

O Artemotil (Figura 30), introduzido em Maio de 2000 na Alemanha, é um derivado da artemisinina (visível na Figura 31) que foi introduzida em 1987 pela CFDA (do inglês *China Food and Drugs Administration*). Foi isolado pela primeira vez da planta *Artemisia annua* e ambos são fármacos antimaláricos aprovados. A planta era usada na medicina tradicional chinesa como “remédio” para calafrios e febres. Youyou Tu, com

base em textos chineses antigos, isolou a artemisinina da planta *Artemisia annua*, a qual se apresentou altamente eficaz contra o parasita da malária (Mckerrow, 2015).

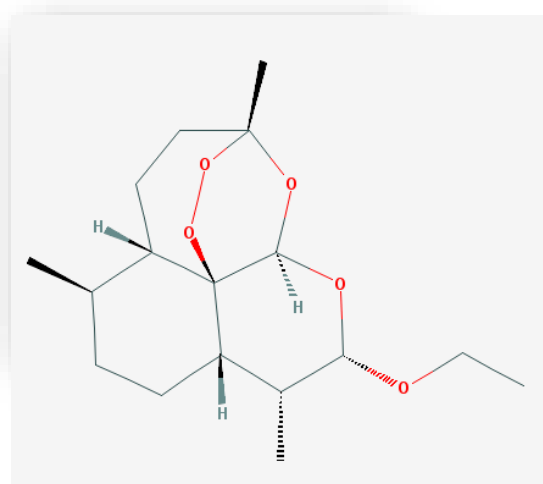


Figura 30 - Artemotil: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

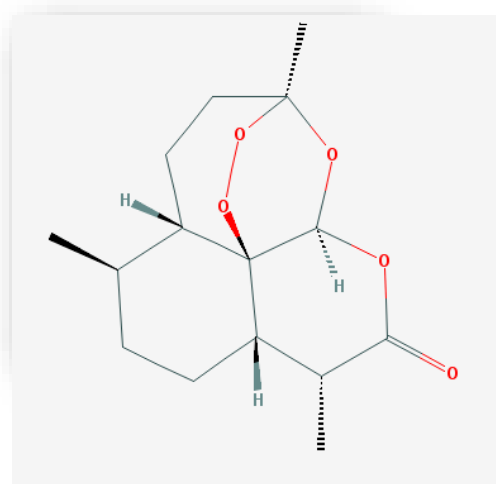


Figura 31 - Artemisinina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

O Bromidrato de Galantamina (Figura 32) é um alcaloide obtido da planta *Galanthus nivalis*. Este composto tem sido usado tradicionalmente na Turquia e na Bulgária em diversas condições neurológicas e é indicado para o tratamento da doença de Alzheimer (Heinrich and Lee Teoh, 2004).

A apomorfina (Figura 33) é um derivado da morfina, que por sua vez é isolada da papoila (*P. somniferum*). Este composto atua como agonista da dopamina D1 e D2 de curta ação, com um poderoso efeito emético, e tem sido usado para esse efeito em situações de envenenamento agudo. Também foi utilizado no diagnóstico e tratamento da doença

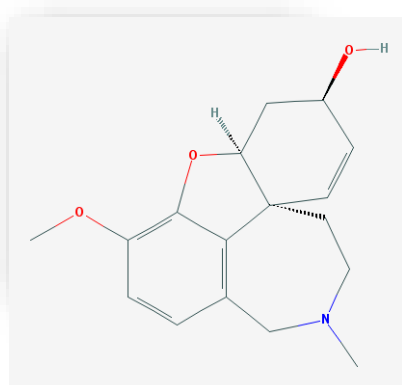


Figura 32 - Bromidrato de Galantamina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

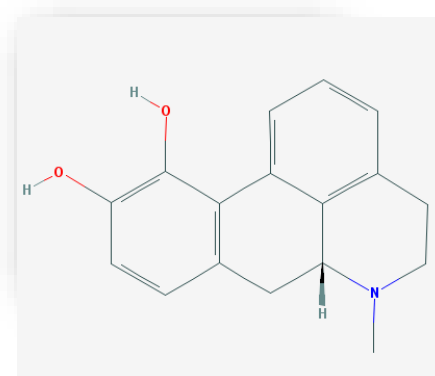


Figura 33 - Apomorfina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

de Parkinson, mas os seus efeitos adversos limitam o seu uso (Deleu *et al.*, 2004).

A Tubocaurarina (Figura 34), isolada da planta *Chondrodendron tomentosum* (*Menispermaceae*), é um dos constituintes ativos utilizados como relaxante muscular em operações cirúrgicas, reduzindo a necessidade de anestesia profunda. A disponibilidade limitada de tubocurarina exigiu o desenvolvimento de uma série de análogos sintéticos que atualmente são usados em detrimento do produto natural (Dias *et al.*, 2012).

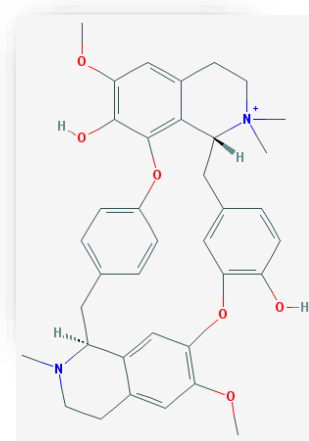


Figura 34 - Tubocaurarina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

A Dapagliflozina (Figura 35) é um derivado da folicina, que foi isolada pela primeira vez da casca de macieiras em 1835. Este composto atua como inibidor seletivo do cotransportador-2 de sódio/glucose (SGLT2, do inglês *Sodium/Glucose cotransporter 2*), tendo sido proposto como terapia adjuvante aos hábitos alimentares e à prática de exercício físico, no tratamento da diabetes tipo 2. Em abril de 2012, a EMA (do inglês, *European Medicines Agency*) recomendou a autorização de comercialização de dapagliflozina, indicando que dados de qualidade, segurança e eficácia, mostraram um perfil de benefícios favorável e, em janeiro de 2014, concedeu também a autorização de comercialização em combinação com a metformina (Xigduo<sup>TM</sup> - Figura 36).

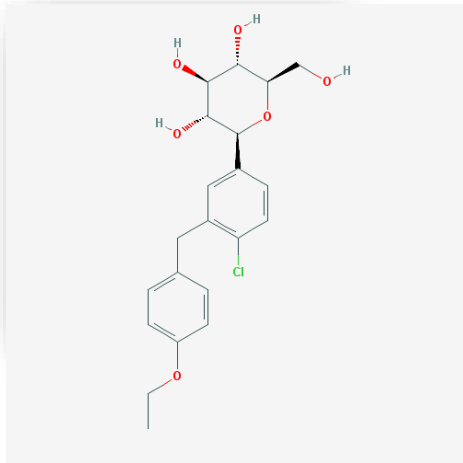


Figura 35 - Dapagliflozina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

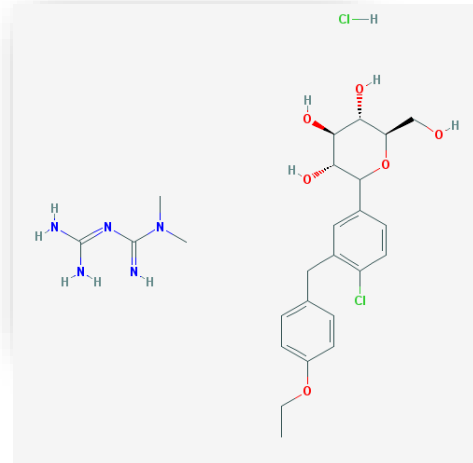


Figura 36 - Dapagliflozina + Metformina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

O produto botânico Crofelemer (Fulyzaq<sup>®</sup>) foi aprovado pela FDA, em dezembro de 2012, com a indicação de alívio dos sintomas de diarreia em doentes infetados com o vírus VIH (*Virus da Imunodeficiência Humana*) que fazem terapia antirretroviral. O medicamento é um oligômero de proantocianidina purificado, extraído do látex da casca vermelha da planta *Croton lechleri*.

O Veregen<sup>™</sup>, uma mistura definida de catequinas extraídas das folhas de chá verde usadas para o tratamento de verrugas genitais, foi o primeiro produto botânico aprovado em outubro de 2006 pela FDA (Butler *et al.*, 2014)

## II. Organismos Marinhos

O ambiente marinho é uma fonte muito rica em diversos produtos naturais com atividades antibacterianas, antifúngicas, antivirais, antiparasitárias, antitumorais, anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomoduladoras (Abdelmohsen *et al.*, 2017).

Os oceanos cobrem mais de 70% da superfície terrestre. No entanto, a investigação sistemática em ambientes marinhos como fonte de novos agentes bioativos só começou a intensificar-se em meados da década de 1970. Antes do desenvolvimento de técnicas confiáveis de mergulho, a coleção de organismos marinhos era limitada àqueles que podiam ser obtidos por mergulho livre. Posteriormente, as profundidades compreendidas entre os 3 metros e os 40 metros tornaram-se facilmente alcançáveis e o meio marinho tem sido explorado cada vez mais como fonte de novos agentes com atividade farmacológica.

A forma mais adequada de recolher águas profundas é através de submersíveis tripulados ou veículos operados remotamente (ROVs, do inglês *Remotely Operated Vehicle*), uma vez que por drenagem ou arrasto (técnicas usadas até então) podem ocorrer mais danos ambientais e a amostragem não é considerada seletiva. No entanto, o elevado custo destas estratégias de coleta exclui o seu uso extensivo nas operações de recolha de rotina.

Embora os organismos marinhos não apresentem um histórico na medicina tradicional, os Fenícios já utilizavam uma secreção química de moluscos marinhos para produzir corantes roxos para as lãs. Para além disso, as algas têm sido utilizadas para fertilizar o solo (Cragg and Newman, 2013).

Durante o período compreendido entre os anos 1977 e 1987, cerca de 2.500 novos metabolitos secundários foram descobertos a partir de uma grande variedade de organismos marinhos. Segundo Blunt *et al.* (2012), em 2010 foram descobertos 1003 novos compostos marinhos com atividade farmacológica. Estes estudos demonstraram que o meio marinho é uma fonte rica de compostos bioativos, muitos dos quais pertencem a classes químicas totalmente novas que não foram encontradas em fontes naturais terrestres.

O primeiro fármaco derivado de produtos marinhos a obter autorização de introdução no mercado foi a Ziconotida (Figura 37), um analgésico não narcótico, que atualmente é

comercializado com a designação de Prialt<sup>®</sup>. Apesar da eficácia comprovada da Ziconotida, este composto tem aplicação limitada, uma vez que é administrado por via intratecal (Cragg and Newman, 2013). A Ziconotida foi isolada do veneno de caracóis marinhos do género *Conus*, e é constituído por vários péptidos neurotóxicos, designados de conotoxinas (Bulaj *et al.*, 2003). As propriedades farmacológicas deste composto estão a ser investigadas com o objetivo de alterar a sua estrutura química para poder ser administrado por via oral (Clark *et al.*, 2012).

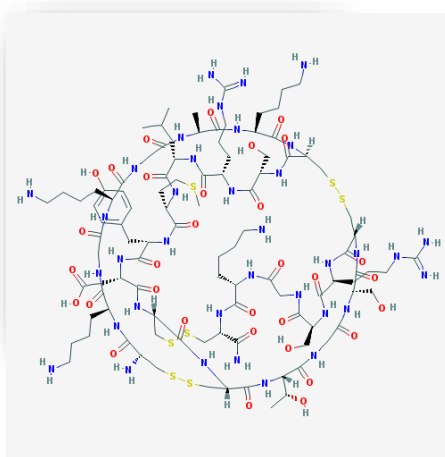


Figura 37 - Ziconotida: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

Entre o ano 2014 e 2016, foram aprovados compostos derivados de produtos naturais de invertebrados marinhos para o tratamento de vários tipos de cancro, como a Eribulina e a Trabectedina.

A Eribulina (Figura 38), autorizada a sua comercialização na Europa, é um análogo da halicondrina B, uma substância derivada de uma esponja marinha (*Lissodendoryx sp.*) com atividade antineoplásica e potencial regressão tumoral, é indicado para o tratamento de cancro da mama localmente avançado ou metastático que progrediu após pelo menos um regime quimioterapêutico para a doença avançada.

A Trabectedina (Figura 39), autorizada na Europa em Setembro de 2009, foi isolada do *Ecteinascidia turbinata* e apresenta potencial atividade antineoplásica, uma vez que tem capacidade para bloquear o ciclo celular na fase G2. Está indicado em situações de sarcoma dos tecidos moles em estado avançado (Katz and Baltz, 2016).

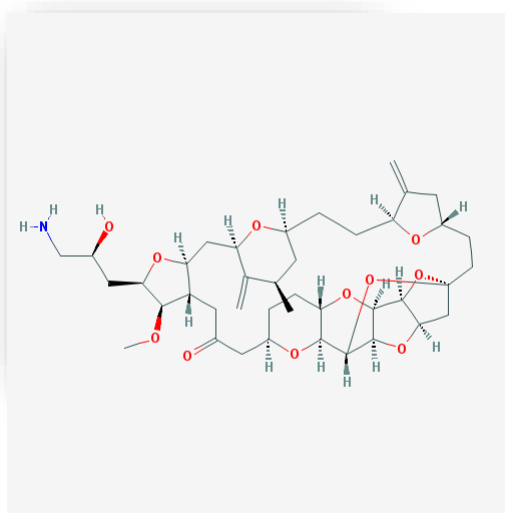


Figura 38 – Eribulina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

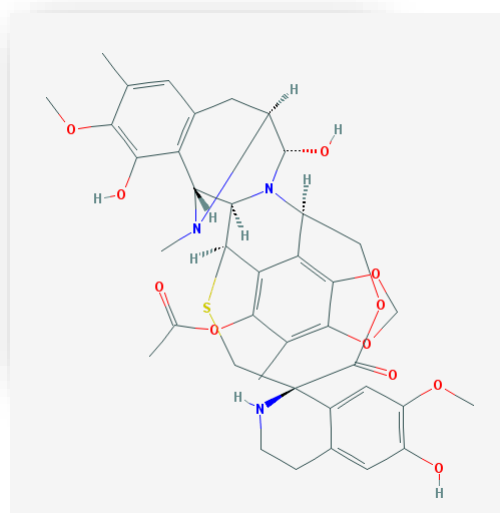


Figura 39 - Trabectedina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

### III. Microrganismos

Uma das fontes mais importantes para a descoberta de novos antibióticos nas últimas décadas foram os produtos naturais derivados de microrganismos, com um importante número de fármacos introduzidos no mercado e ainda hoje utilizados na prática clínica (Genilloud, 2014).

A descoberta da penicilina a partir do fungo filamentosso, *Penicillium notatum*, por Fleming, em 1929, e a observação do amplo uso terapêutico deste agente na década de 1940, inaugurou uma era revolucionária na medicina, "A Era de Ouro dos Antibióticos". Estes acontecimentos promoveram uma investigação intensiva da Natureza como fonte de novos agentes ativos (Dias *et al.*, 2012).

Após a publicação dos primeiros dados clínicos sobre a penicilina G (Figura 40), entre 1942-1944, houve um esforço mundial para descobrir novos antibióticos e compostos com outras atividades a partir de microrganismos e de outros produtos naturais. Alguns exemplos desses produtos incluem (Cragg and Newman, 2013):

- Agentes antibacterianos, como penicilinas (de espécies de *Penicillium*); cefalosporinas (de *Cephalosporium acremonium*), como a Cefazolina (Figura 41) e o Cefadroxil (Figura 42); aminoglicosídeos, como a Estreptomicina (Figura 4); e tetraciclinas (dos *Actinomycetales*), como a Aureomicina, a qual mais tarde passou a ser denominada de Clortetraciclina (Figura 6);
- Agentes hipocolesterolémicos, tais como Mevastatina na Figura 43 (de espécies de *Penicillium*) e Lovastatina na Figura 44 (de espécies de *Aspergillus*);
- Anti-helmínticos e antiparasitários, como as Ivermectinas na Figura 45 (de espécies de *Streptomyces*);
- Agentes imunossupressores, como as Ciclosporinas na Figura 46 (das espécies de *Trichoderma* e *Tolypocladium*) e Rapamicina (Figura 14) (das espécies de *Streptomyces*).

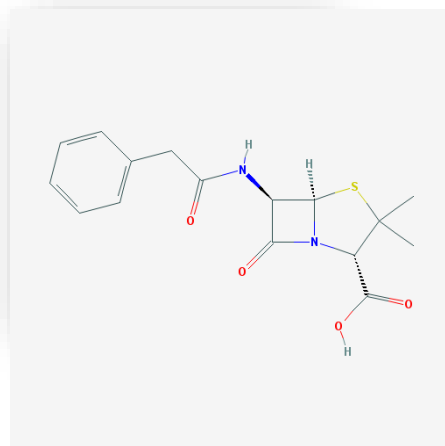


Figura 40 - Penicilina G: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

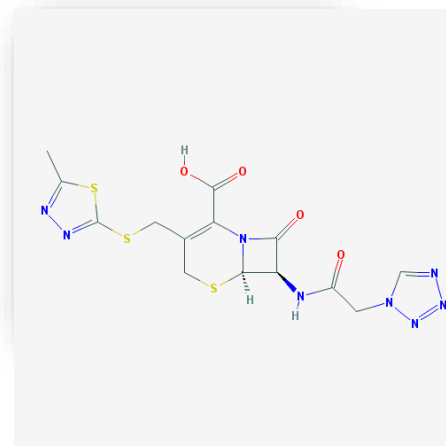


Figura 41 - Cefazolina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

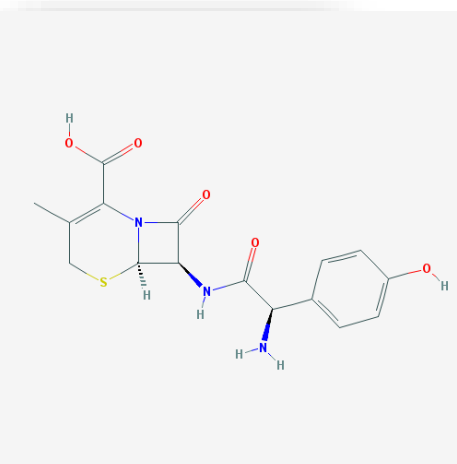


Figura 42 - Cefadroxil: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

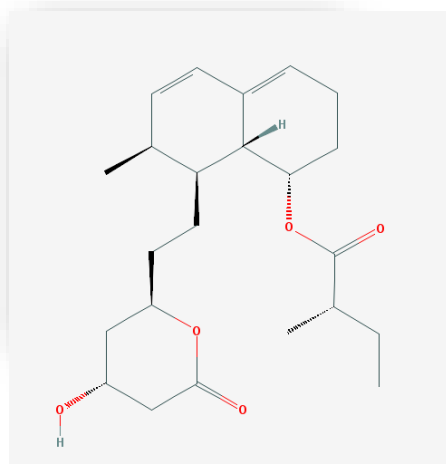


Figura 43 - Mevastatina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

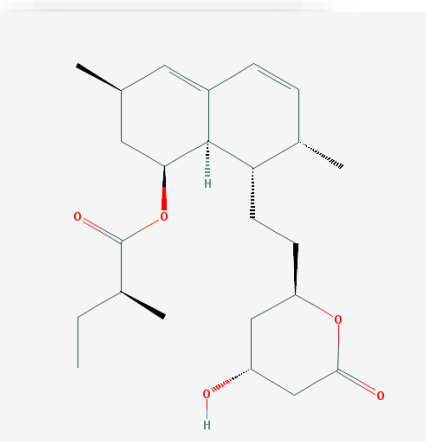


Figura 44 - Lovastatina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

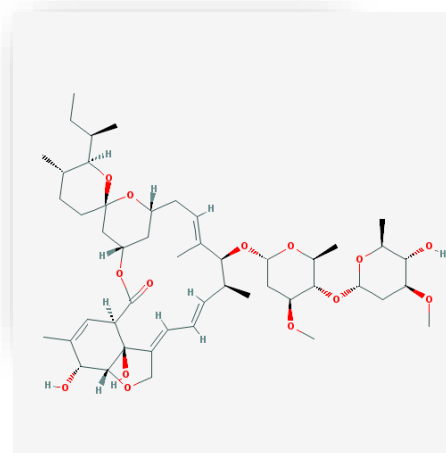


Figura 45 - Ivermectina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

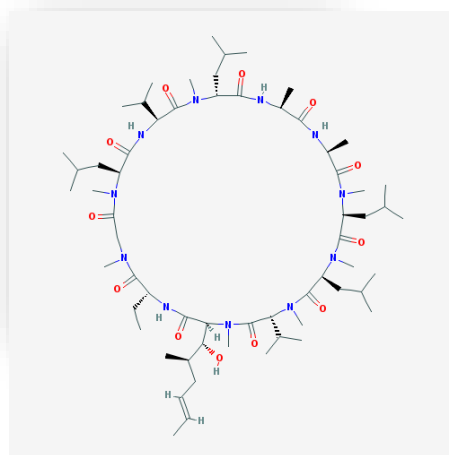


Figura 46 - Coclosporina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Nos anos 70, introduziram-se novos métodos de triagem, produziram-se estirpes bacterianas supersensíveis a antibióticos  $\beta$ -lactâmicos, realizaram-se testes de inibição de  $\beta$ -lactamases e testes de especificidade de metabolitos contendo enxofre. Todos estes acontecimentos culminaram na descoberta de novas classes estruturais de antibióticos, como as Nocardicinas, os Carbapenemos e os Monobactâmicos, incluindo o isolamento dos antibióticos Nocardicina A (Figura 47), Imipenemo (Figura 48) e Aztreonam (Figura 49). Esta é uma área ainda com elevado interesse, e há novos  $\beta$ -lactâmicos, em diversas etapas de desenvolvimento, a serem avaliados para obterem autorização de introdução no mercado (Dias et al., 2012)

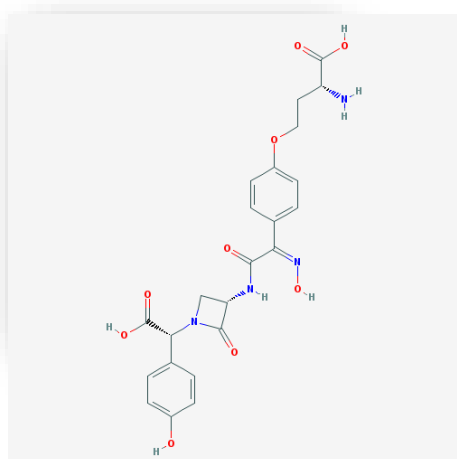


Figura 47 - Norcardicina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

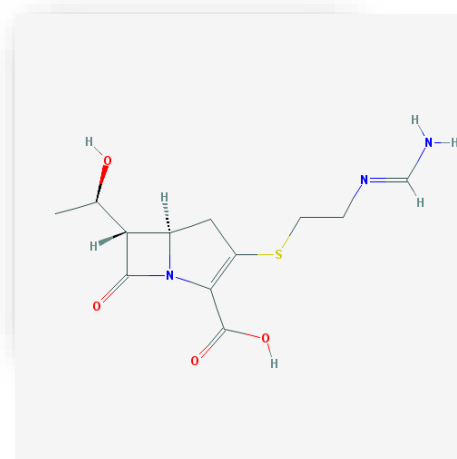


Figura 48 - Imipenemo: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

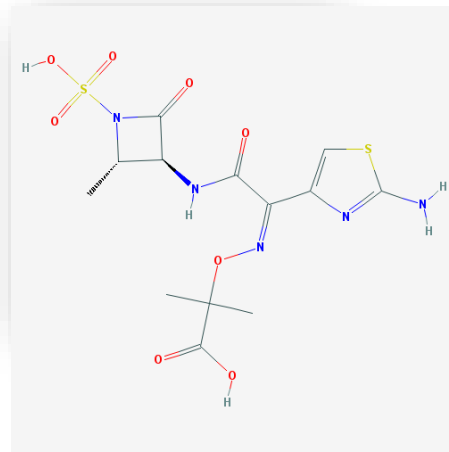


Figura 49 - Aztreonam: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Como foi referido anteriormente, o desenvolvimento de fármacos a partir das espécies de *Taxus* apresenta alguns inconvenientes, nomeadamente é pouco eficiente, extremamente caro e com impacto negativo para o meio ambiente. Atendendo a estes factos, foram realizadas muitas tentativas de encontrar uma fonte alternativa de taxol. Desta forma, diferentes métodos de extração foram examinados para aumentar quantitativamente a concentração deste composto, já que as *Taxus sp.* são plantas raras, de crescimento lento, e muito sensíveis aos esforços de cisalhamento. Consequentemente, a busca por fontes microbianas alternativas de produção de taxol foi expandida nas duas últimas décadas (Elavarasi *et al.*, 2012). Alguns fungos endofíticos (i.e. fungos que passam a totalidade ou parte do seu ciclo de vida dentro dos tecidos saudáveis das plantas hospedeiras, tipicamente não causando sintomas distintos da doença) têm a capacidade de produzir compostos bioativos como os originados nas suas plantas hospedeiras. Neste caso, o composto bioativo a isolar é o taxol, e fungos como *Cladosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizophora sp.* e *Taxomyces sp.* possuem um conjunto de genes definidos para a biossíntese de taxol, mostrando assim potencial para a sua utilização na produção de Paclitaxel (Figura 24) (Kasaei *et al.*, 2017).

O Prémio Nobel de Fisiologia ou Medicina de 2015 foi atribuído a três cientistas que fizeram descobertas pioneiras de fármacos atualmente usados para tratar doenças tropicais negligenciadas (referem-se a um grupo de problemas globais de saúde que afetam centenas de milhões de pessoas nos países em desenvolvimento e são responsáveis por elevada morbidade e mortalidade). A Avermectina (Figura 50) e o seu análogo, a Ivermectina (Figura 45), usadas no tratamento de cegueira do rio e filariose

linfática, foram descobertas e desenvolvidas por William C. Campbell (Campbell, 2016) e Satoshi Omura (Omura, 2016). Omura isolou um grupo de bactérias *Streptomyces* do solo e cultivou com sucesso novas estirpes de *Streptomyces*. William Campbell verificou que um dos componentes das culturas era ativo contra *Onchocerca volvulus*, responsável pela oncocercose e filariose linfática (ou elefantíase). O terceiro cientista a ganhar o prémio foi Youyou Tu, já referido anteriormente pelo isolamento do Artemotil (Figura 30) (Mckerrow, 2015).

O fármaco Fingolimod (Figura 51), baseado na estrutura do metabolito fúngico mirosina, foi aprovado nos Estados Unidos em setembro de 2010, na Europa em março de 2011 e no Japão em setembro de 2011, com a indicação de redução de recidivas e atraso na progressão da deficiência em doentes com formas recorrentes de esclerose múltipla, sendo mais tarde identificado como imunossupressor. É um pró-fármaco que é fosforilado pela esfingosina quinase *in vivo*, originando um potente agonista dos recetores de esfingosina-1-fosfato (Butler *et al.*, 2014)

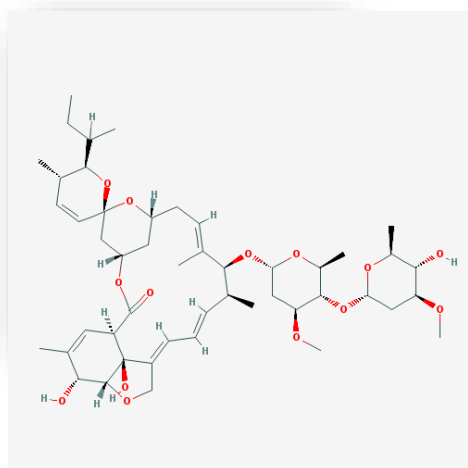


Figura 50 - Avermectina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

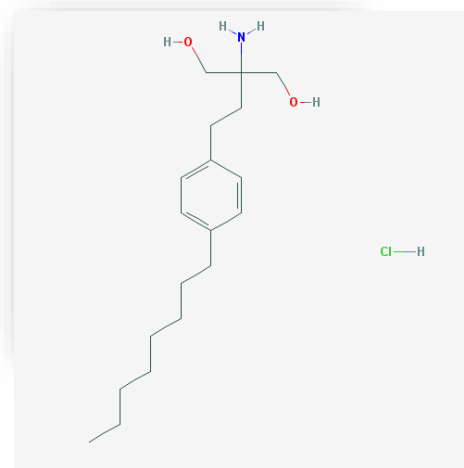


Figura 51 - Fingolimod: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim *et al.*, 2016)

Outros fármacos descobertos a partir de microrganismos incluem (Katz and Baltz, 2016): a Acarbose (Figura 52), um metabolito secundário produzido a partir de *Actinoplanes sp.*; a anfotericina B (Figura 53), sintetizada a partir de *Streptomyces nodosus*; a Ergometrina (Figura 54), sintetizada a partir de *Claviceps purpúrea*; o ácido fusídico (Figura 55), originado a partir de *Fusidium coccineus*; a Nistatina (Figura 56), produzida a partir de *Streptomyces noursei*

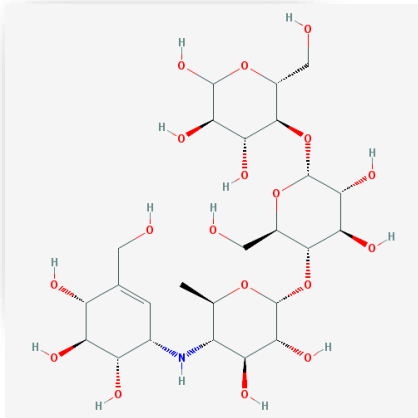


Figura 52 - Acarbose: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

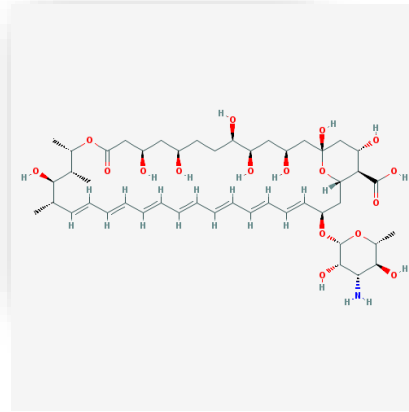


Figura 53 - Anfotericina B: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

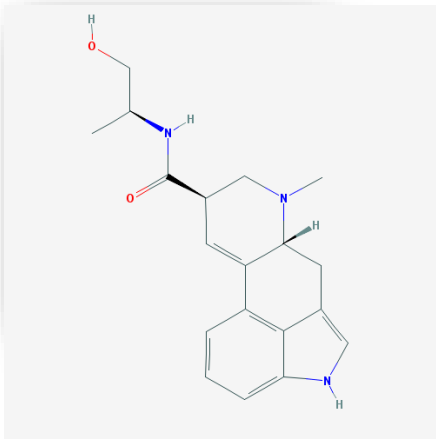


Figura 54 - Ergometrina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

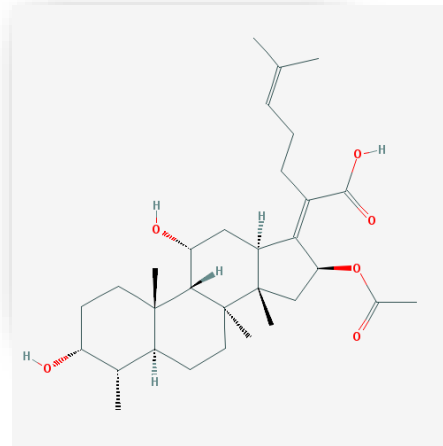


Figura 55 - Ácido Fusídico: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

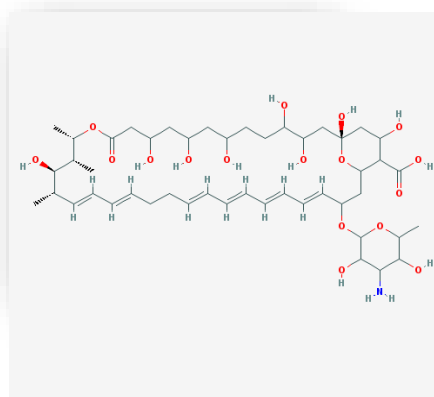


Figura 56 - Nistatina: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

#### IV. Outras fontes naturais

O Teprotide, isolado do veneno da víbora *Bothrops jaracaca*, serviu de base para o *design* e síntese dos inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ECA), Captopril (Figura 57) e Enalapril (Figura 58), utilizados no tratamento de doenças cardiovasculares.

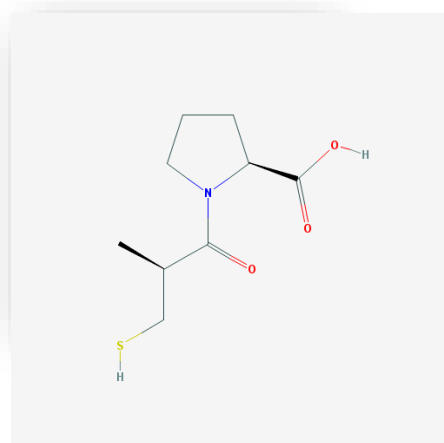


Figura 57 - Captopril: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

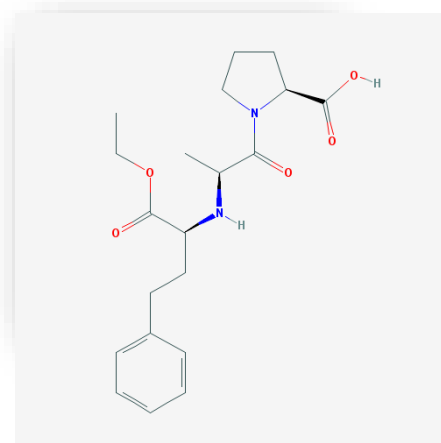


Figura 58 - Enalapril: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

Outra descoberta notável foi o isolamento da exendina-4 do veneno do Monstro-de-Gila, *Heloderma suspectum*, que permitiu o desenvolvimento do polipéptido de Extenatida (Figura 59) (Byetta<sup>®</sup>). Este medicamento injetável é usado no controlo da glicémia em adultos com diabetes tipo 2 (Cragg and Newman, 2013).

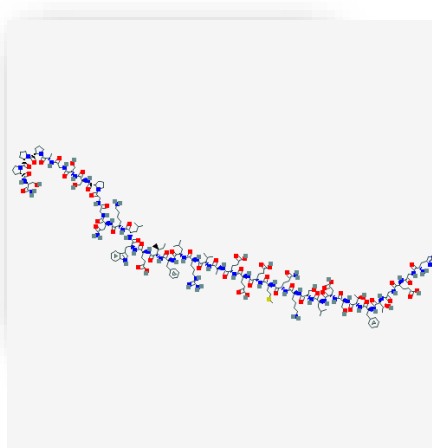


Figura 59 - Extenatida: Estruturas químicas adaptada da base de dados PubChem (Kim et al., 2016)

## V. Conclusão

Antes do aparecimento do HTPS e da era pós-genómica, mais de 80% das substâncias medicamentosas eram produtos naturais, ou inspiradas em produtos naturais.

A síntese de novos compostos bioativos tem um papel decisivo no desenvolvimento de novos fármacos. Com o esclarecimento dos alvos terapêuticos de muitas doenças permitindo assim o planeamento e síntese de novos fármacos.

Aliado a isto junta-se o facto de apenas cerca de 10% da biodiversidade mundial ter sido estudada relativamente à sua atividade biológica potencial. Desta forma, esta área possui um elevado potencial para explorar, mostrando-se bastante promissora na descoberta de novos fármacos

Além disso, os produtos naturais oferecem uma grande diversidade estrutural e funcional, o que os torna interessantes para a pesquisa de novos compostos bioativos, no entanto a sua complexidade é também a sua maior desvantagem. Devido à sua complexidade são isolados em baixas quantidades, e a obtenção está dificultada através de métodos sintéticos rápidos.

Com os avanços da tecnologia e das técnicas de investigação está aberto um novo caminho para o uso de microrganismos e produtos marinhos na descoberta de fármacos. O aumento de resistências aos antibióticos intensificou a necessidade de desenvolver medicamentos contra os agentes patogénicos resistentes, levou ao aumento da exploração do meio marinho, um local com elevada quantidade de produtos naturais ainda não investigados. Já há vários medicamentos anti-infecciosos em fase 1, 2 e 3 de ensaios clínicos.

Até à data, a relativa facilidade de acesso às plantas resultou na descoberta de um elevado número de fármacos derivados destas. No entanto, conclui-se que as fontes microbianas merecem uma especial atenção na procura de antibióticos.

## VI. Bibliografia

- Abdelmohsen, U.R., Balasubramanian, S., Oelschlaeger, T.A., *et al.* (2017). Potential of marine natural products against drug-resistant fungal, viral, and parasitic infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 17, pp. 30 - 41.
- Annamalai, M., Hristeva, S., Bielska, M., *et al.* (2017). Highly Stereoselective Synthesis of a Compound Collection Based on the Bicyclic Scaffolds of Natural Products. *Molecules*, 22, pp. 827.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Keyzers, R.A., *et al.* (2012). Marine natural products. *Natural product reports*, 29, pp. 144-222.
- Borchardt, J.K. (2002). The Beginnings of Drug Therapy: Ancient Mesopotamian Medicine. *Drug News Perspect*, 15, pp. 187-192.
- Bulaj, G., Buczek, O., Goodsell, I., *et al.* (2003). Efficient oxidative folding of conotoxins and the radiation of venomous cone snails. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, pp. 14562-14568.
- Butler, M.S. (2004). The role of natural product chemistry in drug discovery. *Journal of natural products*, 67, pp. 2141-2153.
- Butler, M.S., Robertson, A.a.B. e Cooper, M.A. (2014). Natural product and natural product derived drugs in clinical trials. *Natural Product Reports*, 31, pp. 1612-1661.
- Campbell, W.C. (2016). Lessons from the History of Ivermectin and Other Antiparasitic Agents. *Annual review of animal biosciences*, 4, pp. 1-14.
- Clark, R.J., Akcan, M., Kaas, Q., *et al.* (2012). Cyclization of conotoxins to improve their biopharmaceutical properties. *Toxicon*, 59, pp. 446-455.

- Clausen, C., Demaitre, L., Fitzgerald, J., *et al.* 2001. *Medieval Manuscripts* [Em linha]. U.S. National Library of Medicine. Disponível em: <https://www.nlm.nih.gov/hmd/medieval/introduction.html> [Consultado em 6 de Junho 2017].
- Cragg, G.M. e Newman, D.J. (2013). Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1830, pp. 3670-3695.
- Cragg, G.M., Newman, D.J. e Snader, K.M. (1997). Natural products in drug discovery and development. *Journal of Natural Products*, 60, pp. 52-60.
- Deleu, D., Hanssens, Y. e Northway, M.G. (2004). Subcutaneous apomorphine : an evidence-based review of its use in Parkinson's disease. *Drugs Aging*, 21, pp. 687-709.
- Dev, S. (1999). Ancient-modern concordance in Ayurvedic plants: some examples. *Environmental Health Perspectives*, 107, pp. 783-789.
- Dias, D.A., Urban, S. e Roessner, U. (2012). A historical overview of natural products in drug discovery. *Metabolites*, 2, pp. 303-336.
- Eder, J., Sedrani, R. e Wiesmann, C. (2014). The discovery of first-in-class drugs: origins and evolution. *Nature reviews drug discovery*, 13, pp. 577-587.
- Elavarasi, A., Rathna, G.S. e Kalaiselvam, M. (2012). Taxol producing mangrove endophytic fungi *Fusarium oxysporum* from *Rhizophora annamalayana*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2, pp. S1081-S1085.
- Farnsworth, N.R., Akerele, O., Bingel, A.S., *et al.* (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63, pp. 965-981.
- Gales, A.C., Frigatto, E.a.D.M. e Andrade, S.S.D. 2008. *Boas Práticas em Microbiologia Clínica* [Em linha]. MC boas prática: ANVISA. Disponível em:

[http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede\\_rm/cursos/boas\\_praticas/modulo5/cepas.htm](http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo5/cepas.htm) [Consultado em 23/11/2017].

- Garcia-Castro, M., Zimmermann, S., Sankar, M.G., *et al.* (2016). Scaffold Diversity Synthesis and Its Application in Probe and Drug Discovery. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 55, pp. 7586-7605.
- Genilloud, O. (2014). The re-emerging role of microbial natural products in antibiotic discovery. *Antonie van Leeuwenhoek*, 106, pp. 173-188.
- Harvey, A.L. (2008). Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 13, pp. 894-901.
- Heinrich, M. e Lee Teoh, H. (2004). Galanthamine from snowdrop--the development of a modern drug against Alzheimer's disease from local Caucasian knowledge. *Journal of ethnopharmacology*, 92, pp. 147-162.
- Iftime, D., Kulik, A., Härtner, T., *et al.* (2016). Identification and activation of novel biosynthetic gene clusters by genome mining in the kirromycin producer *Streptomyces collinus* Tü 365. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 43, pp. 277-291.
- Jütte, R., Heinrich, M., Helmstädter, A., *et al.* (2017). Herbal medicinal products – Evidence and tradition from a historical perspective. *Journal of Ethnopharmacology*, 207, pp. 220-225.
- Kasaei, A., Mobini-Dehkordi, M., Mahjoubi, F., *et al.* (2017). Isolation of Taxol-Producing Endophytic Fungi from Iranian Yew Through Novel Molecular Approach and Their Effects on Human Breast Cancer Cell Line. *Current Microbiology*, 74, pp. 702-709.
- Katz, L. e Baltz, R.H. (2016). Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 43, pp. 155-176.

- Kim, S., Thiessen, P.A., Bolton, E.E., *et al.* (2016). PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research*, 44, pp. D1202-D1213.
- Kinghorn, A.D., Ej, D.E.B., Lucas, D.M., *et al.* (2016). Discovery of Anticancer Agents of Diverse Natural Origin. *Anticancer Research*, 36, pp. 5623-5637.
- Lahlou, M. (2013). The Success of Natural Products in Drug Discovery. *Pharmacology & Pharmacy*, 04, pp. 17-31.
- Littleton, J., Rogers, T. e Falcone, D. (2005). Novel approaches to plant drug discovery based on high throughput pharmacological screening and genetic manipulation. *Life Sciences*, 78, pp. 467-475.
- Mckerrow, J.H. (2015). Recognition of the role of Natural Products as drugs to treat neglected tropical diseases by the 2015 Nobel prize in physiology or medicine. *Natural Product Reports*, 32, pp. 1610-1611.
- Newman, D.J. e Cragg, G.M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75, pp. 311-335.
- Newman, D.J. e Cragg, G.M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 79, pp. 629-661.
- Newman, D.J., Cragg, G.M. e Snader, K.M. (2003). Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *Journal of natural products*, 66, pp. 1022-1037.
- Omura, S. (2016). A Splendid Gift from the Earth: The Origins and Impact of the Avermectins (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition*, 55, pp. 10190-10209.
- Schmitt, E.K., Hoepfner, D. e Krastel, P. (2016). Natural products as probes in pharmaceutical research. *The Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 43, pp. 249-260.

Schrör, K. (2016). Acetylsalicylic Acid. Segunda ed. Alemanha, pp. 6-10.

Simões, C., Schenkel, E., Mello, J., *et al.* (2017). Farmacognosia do produto natural ao medicamento. Porto Alegre, pp. 502 - 537.