

Número Temático - Suplemento 2
Bioprospecção, 2022

REVISTA

FITOS[®]

e-ISSN: 2446-4775 | ISSN: 1808-9569

Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Medicamentos da Biodiversidade

Foto de capa: *Garcinia mangostana* L. (Clusiaceae)
Fonte: amazon.in



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz





e-ISSN: 2446-4775 | ISSN: 1808-9569

Presidente da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ): Nísia Trindade Lima

Diretor do Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos): Jorge Souza Mendonça

Coordenador do Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (CIBS): Glauco de Kruse Villas-Bôas

Editores

Editor de Pesquisa Maria Helena Durães Alves Monteiro, FIOCRUZ, Brasil

Editor de Desenvolvimento e Inovação Glauco de Kruse Villas-Bôas, FIOCRUZ, Brasil

Editores Associados

Emiliano de Oliveira Barreto, UFAL, Brasil
Érica Speaglich, USP, Brasil
Israel Felzenszwalb, UERJ, Brasil
Ivanildes Vasconcelos Rodrigues, UFJF, Brasil
João Paulo Viana Leite, UFV, Brasil
Marcelo Neto Galvão, FIOCRUZ, Brasil
Marcos Sorrentino, USP, Brasil
Marisa Fernandes Mendes, UFRRJ, Brasil
Paulo Rogério Lopes, UFPR, Brasil
Rodolfo Santos Barboza, UFRJ, Brasil

Editora Executiva Rosane de Albuquerque dos Santos Abreu, FIOCRUZ, Brasil

Corpo Editorial:

Benjamin Gilbert, FIOCRUZ, Brasil
Cecília Veronica Nunez, INPA, Brasil
Edeltrudes de Oliveira Lima, UFPB, Brasil
Jan Carlo Delorenzi, Universidade Presbiteriana Mackenzie, Brasil
Jislaine de Fátima Guilhermino, FIOCRUZ, Brasil
João Marcos Hausmann Tavares, UFRJ, Brasil
José Maria Guzman Ferraz, UFSCar, Unicamp, Brasil
Katia Soares da Poça, INCA, Brasil
Maria Aparecida Medeiros Maciel, UFRN, Brasil
Maria Cecilia Tomassini Urti, Universidad de República Uruguay, Uruguai
Maria Cristina Marcucci Ribeiro, UNIBAN, Brasil
Nilson do Rosário Costa, Fiocruz, Brasil
Norma Albarello, UERJ, Brasil
Sarita Albagli, IBICT, Brasil

REVISTA FITOS

Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ

Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos

Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde - CIBS

Correspondência / Mail

Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde - CIBS

FIOCRUZ, Farmanguinhos, Complexo Tecnológico de Medicamentos - CTM

Av. Comandante Guarany, 447 Jacarepaguá - Rio de Janeiro, RJ, Brasil

CEP 22775-903

revistafitos@far.fiocruz.br

Tel.: +55 21 3348.5370 / +55 21 3348.5598

Informações para cadastro e submissão / Registration and submission information

<https://revistafitos.far.fiocruz.br>

Tel: +55 21 3348.5370 / +55 21 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br

Acesso online / Online access

Artigos disponíveis em formatos PDF, HTML e XML no endereço eletrônico:

<https://revistafitos.far.fiocruz.br>

Classificação CAPES-Qualis

Qualis B4 – Interdisciplinar, Medicina Veterinária e Odontologia

Escritório Editorial - CIBS

Yolanda de Castro Arruda – Revisão textual e normativa

Eugênio Telles – Editoração digital

Apoio CIBS

Preciosa de Jesus Meireles de Oliveira – Assessoria de gestão

Denise Monteiro da Silva – Assessoria de comunicação e divulgação

Associada à ABEC

Associação Brasileira
de Editores Científicos



Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

Revista Fitos: pesquisa, desenvolvimento e inovação em fitoterápicos. /
Fundação Oswaldo Cruz; Instituto de Tecnologia em Fármacos; Centro
de Inovação em Biodiversidade e Saúde. – v.1, n.1, (Jun. 2005), - .
Rio de Janeiro: CIBS, 2005 – v.: il.

Anual: 2007 e 2011

Interrompida: 2008, 2014

Quadrimestral: 2010, 2018

Trimestral: 2012, 2015, 2016, 2019, 2020, 2021

Semestral: 2005, 2006, 2009, 2013, 2017

ISSN 1808-9569

e-ISSN 2446-4775

1. Fitoterápicos. 2. Fitofármacos. 3. Medicamentos de origem vegetal.
4. Biodiversidade. 5. Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (PD&I) I.
Fundação Oswaldo Cruz. II. Instituto de Tecnologia em Fármacos. Centro
de Inovação em Biodiversidade e Saúde.

CDD 615.32

Revista Fitos

e-ISSN 2446-4775 | ISSN 1808-9569

Suplemento 2 - Bioprospecção

EDITORIAL

Divulgação do conhecimento científico na utilização de plantas medicinais, com foco na bioprospecção 155

Claudia do Ó Pessoa.

ARTIGO DE PESQUISA

Bioprospecção de plantas medicinais com potencial anticancerígeno no Brasil: caracterização e métodos de extração 156-175

Bioprospecting of medicinal plants with anticancer potential in Brazil: characterization and extraction methods

Assumpção, Isabela Cristina Porto; Silva, Brunno Almeida de Carvalho e; Mendes, Marisa Fernandes.

Descoberta de fármacos a partir de produtos naturais e a abordagem Molecular Power House (MPH) 176-192

Natural Product-based Drug Discovery and the Molecular Power House (MPH) Approach

Trivella, Daniela Barretto Barbosa; Bruder, Marjorie Christine Paule; Oliveira, Fábio Cesar Bonafé; Porcaro, Renata; Bonalumi, Joane Kathelen Rustiguel; Ribeiro, Leonardo Bergamasco; Felício, Rafael de; Cunha, Marcos Guilherme da; Nascimento, Andrey Fabrício Ziem; Zeri, Ana Carolina Mattos; Pessa, Lisandra Ravanelli; Mascarello, Alessandra; Guimarães, Cristiano Ruch Werneck; Azevedo, Hatylas; Perfeito, Marcia Luana Gomes; Pagani, Eduardo; Ropke, Cristina Dislich.

O potencial fitoterapêutico da *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Rubiaceae: monitoramento científico e tecnológico 193-205

The phytotherapeutic potential of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Rubiaceae: scientific and technological monitoring

Simões, Evelyne Rolim Braun; Machado, Rejane Ramos; Pessoa, Claudia do Ó; Marques, Lana Grasiela Alves.

PERSPECTIVA

O “Des-Envolvimento” Insustentável e Agricultura Molecular na produção de bioativos 206-211

Unsustainable Development and Molecular Agriculture in Bioactive Production

Veiga Junior, Valdir Florencio; Yamaguchi, Klenicy Kazumy de Lima.

RELATO DE EXPERIÊNCIA

Bioprospecção de plantas da Caatinga com potencial para produção de fitomedicamentos 212-226

Bioprospection of Caatinga plants with potential for phytomedicine production

Souza, Ana Valéria Vieira de; Hernandez, Camila; Souza, Danilo Diego de; Costa, Evelyn Sophia Silva; Bispo, Luma dos Passos; Oliveira, Flávio José Vieira de; Pereira, Ana Maria Soares.

Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica: a atuação da REBIFLORA no Litoral do Paraná e Santa Catarina 227-237

Bioprospecting and Innovation in the Atlantic Forest: REBIFLORA's performance on the coast of Paraná and Santa Catarina

Silva, Luiz Everson; Dotto, Ana Rafaela Freitas; Rebelo, Ricardo Andrade.

Molecular bioprospecting of plant extracts: Experience report of the BIOPROS/UFV group in the search for antitumor compounds 238-246

Almeida, Alisson Andrade; Leite, João Paulo Viana; Simão, Marcos Vinícius Ribeiro de Castro; Silva, Hugo Rody Vianna.

REVISÃO

Bioprospecção de atividade anticâncer dos gêneros *Garcinia* e *Clusia*: uma breve revisão 247-266

Bioprospecting of anticancer activity of genera *Garcinia* and *Clusia*: a brief review

Brito, Lavinia de Carvalho; Figueiredo, Maria Raquel.

Desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica 267-292

New medicinal plants derivatives development for neglected diseases: a bibliometric analysis

Ferreira Neto, Paula Teixeira Pinto; Santos, Taís Rubia; Tellis, Carla Junqueira Moragas.

O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas 293-314

The impact of bioprospecting for the discovery of new drugs

Marques, Lana Grasiela Alves; Vieira Neto, José de Brito; Sales, Sarah Leyenne Alves; Costa, Pedro Mikael da Silva; Guimarães, Celina de Jesus; Manso, Mariana Palmeira; Pereira, João Victor de Melo; Pessoa, Claudia do Ó.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Normas para submissão e apresentação do manuscrito 315-319

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1433>

Divulgação do conhecimento científico na utilização de plantas medicinais, com foco na bioprospecção

Neste número temático de Bioprospecção, a Revista Fitos aborda a importância da publicação científica de acesso aberto, ratificando o seu compromisso na divulgação do conhecimento científico, com foco na bioprospecção.

Os artigos deste número temático apresentam temáticas de como transformar os recursos naturais em ganhos econômicos, afim de, alavancar o desenvolvimento científico e tecnológico, e agregar valor aos bens e serviços provenientes da biodiversidade brasileira.

Nesse propósito, essa edição visa trazer à luz do conhecimento temas que abordam a utilização das plantas medicinais, conhecimento e o estabelecimento de programas de bioprospecção no mundo. Destacando-se que, o Brasil está entre os países megadiversos e, portanto, urge a necessidade de um plano nacional estratégico, fundamentado nos três eixos ou elementos: pesquisar, transformar em produtos e comercializar, melhorando a qualidade de vida e fortalecendo a indústria nacional, gerando riqueza e empregos.

Esperamos que os artigos deste número temático contribuam para o fortalecimento das ações estratégicas da bioeconomia do país.

Boa leitura!

Dr^a Claudia do Ó Pessoa
Professora Titular de Fisiologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia
Universidade Federal do Ceará

Bioprospecção de plantas medicinais com potencial anticancerígeno no Brasil: caracterização e métodos de extração

Bioprospecting of medicinal plants with anticancer potential in Brazil: characterization and extraction methods

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1251>

Assumpção, Isabela Cristina Porto^{1*}; Silva, Brunno Almeida de Carvalho e¹; Mendes, Marisa Fernandes¹.

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química. Coordenação de Pós-Graduação em Engenharia Química, BR 465, Km 07, CEP 23890-000, Seropédica, RJ, Brasil.

*Correspondência: icporto@gmail.com.

Resumo

O câncer é um problema de saúde pública mundial e pesquisas têm apontado que o número de novos casos deve atingir 29,4 milhões até 2040. Além disso, o avanço desigual da doença causará maior impacto nos países de baixa e média renda. Nesse contexto, o avanço da doença associado aos efeitos adversos dos tratamentos empregados atualmente revela a urgência de avaliar métodos alternativos para combater o câncer. Com isso, o uso de plantas medicinais é desejável, por apresentarem menores contraindicações, graças ao baixo efeito antiproliferativo em tecidos saudáveis e elevada inibição para diversas linhagens tumorais. Sob a perspectiva brasileira, a bioprospecção de espécies vegetais é promissora, devido à elevada biodiversidade nacional. Com isso, o objetivo do presente trabalho foi de avaliar as vertentes da pesquisa na área de extração de compostos bioativos a partir de fontes vegetais, identificando as espécies, perfil fitoquímico e técnicas de extração mais utilizadas. Pode-se concluir que o uso de solventes orgânicos é massivo, o que prejudica o "scale-up" dos processos e pode inviabilizar o uso efetivo de fitoterápicos de plantas medicinais em escala industrial.

Palavras-chave: Fitoterápicos. Atividade antiproliferativa. Plantas medicinais. Extração supercrítica. Bioprospecção.

Abstract

Cancer is a worldwide public health issue, and the research has indicated that the number of new cases will reach 29.4 million by 2040. In addition, the uneven spread of the disease will show greater impact in low- and middle-income countries. In this context, the disease growth associated with the adverse effects of the treatments currently used reveals the urgency of evaluating alternative methods to reach this challenge. Thus, the use of medicinal plants is desirable, since they display fewer contraindications, due to the low antiproliferative effect on healthy tissues and high inhibition for several tumor lines. Under the Brazilian

perspective, the bioprospecting of plants is promising, because of the high national biodiversity. Therefore, the aim of the present work was to evaluate research's aspects of bioactive compounds extraction from plant sources, identifying the species, phytochemical profile, and most used extraction techniques. It can be concluded that the use of organic solvents is massive, which impairs the scale-up of the process, and may limit the effective use of phytotherapy's from medicinal plants on an industrial scale.

Keywords: Herbal medicines. Antiproliferative activity. Medicinal plants. Supercritical extraction. Bioprospecting.

Introdução

O câncer é, atualmente, um problema de saúde pública mundial. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2018 foram constatados 18,1 milhões de novos casos da doença e 9,6 milhões de mortes, em que 1 em cada 6 mortes foram devido à patologia. As projeções mostram que até 2040 serão contabilizados 29,4 milhões de casos por ano, representando um aumento de mais de 60%^[1].

Pesquisas revelaram ainda que, em 2019, 90% dos países desenvolvidos possuíam tratamentos adequados para os pacientes oncológicos em seu sistema público de saúde. Em contrapartida, nos países de baixa renda, essa quantidade era de 15%, culminando em elevadas taxas de mortalidade; em comparação com os países ricos, o impacto do avanço do câncer nas próximas duas décadas pode ser até 81% maior nas regiões carentes. Isso se justifica por uma associação de fatores, em especial pelo diagnóstico tardio de carcinomas preveníveis, prognóstico ineficaz e baixa disponibilidade de tratamento e medicamentos^[2].

Atualmente, é comum a utilização de terapias antineoplásicas para o tratamento do câncer, com destaque para a quimioterapia, radioterapia, hormonioterapia e cirurgia. Não obstante, nota-se que o emprego dessas técnicas possui uma série de efeitos colaterais decorrentes de sua toxicidade, que afetam não apenas as células doentes, mas também os tecidos saudáveis. Como consequência, tem-se, em alguns casos, complicações no quadro clínico dos pacientes que podem levar à descontinuação do tratamento, devido à elevada agressão sofrida pelo organismo^[3,4].

Assim, os efeitos adversos dos tratamentos tradicionais podem ser mitigados pelo uso das plantas medicinais, que possuem menores contraindicações, devido aos efeitos citotóxicos serem mais amenos. Combinado com as vantagens de haver grande disponibilidade de plantas, como é o caso do Brasil, e baixo custo para sua aquisição, a atividade anticancerígena dos constituintes à base de plantas é uma abordagem desejável para o manejo da doença^[3,5,6].

As plantas medicinais vêm sendo utilizadas pela humanidade desde a antiguidade, sabendo-se hoje que seus constituintes estão associados à resposta farmacológica e ao potencial medicamentoso de diversas espécies vegetais^[7]. O uso de ervas com finalidade terapêutica tem se mostrado promissor, dada a grande variedade de compostos e estruturas químicas associadas à bioatividade das plantas^[5,6]. Além disso, os produtos naturais têm tido papel fundamental no desenvolvimento de drogas, visto que no período de 1940 até 2014, 83% das 136 novas substâncias químicas registradas para ação anticancerígena foram obtidas a partir de fontes naturais, direta ou indiretamente. Estima-se ainda que 49% das moléculas aprovadas no mesmo período tenham sido originadas dos produtos naturais e seus derivados^[8].

Sob a perspectiva brasileira, o país apresenta condições favoráveis para progredir no tema, tanto pela elevada biodiversidade nacional, quanto pelo conhecimento herdado dos povos indígenas sobre o manejo das plantas medicinais, sendo o uso sustentável dos recursos naturais fomentado pelo Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos [9]. Apesar disso, pode-se dizer que a fração de espécies disponíveis nos biomas brasileiros que já foram estudadas do ponto de vista etnofarmacológico permanece insignificante [10].

Os extratos obtidos das matrizes vegetais têm ação anticancerígena em diversas linhagens tumorais. De acordo com a literatura, compostos como polifenóis, alcaloides e terpenos são amplamente utilizados por terem ação antiproliferativa e desempenharem efeitos quimiopreventivos [11].

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a obtenção de metabólitos secundários dos extratos de plantas medicinais, sendo por diversas vezes separados em métodos convencionais e alternativos. No primeiro grupo estão inclusas as técnicas tradicionais, como maceração, decocção, Soxhlet, infusão e hidrodestilação. Já o segundo grupo abrange as técnicas mais sofisticadas e modernas, podendo-se citar como exemplos a extração supercrítica, extração em contracorrente, extração assistida por ultrassom, enzimas ou micro-ondas [12].

Apesar das técnicas convencionais continuarem sendo amplamente utilizadas, elas apresentam algumas desvantagens claras, como a dificuldade de recuperação do solvente, a necessidade de etapas de purificação e as elevadas temperaturas do processo, que podem levar à degradação térmica dos componentes de interesse [13]. Quanto ao emprego dos métodos não-convencionais, pode-se mencionar como principais vantagens o menor consumo de solventes orgânicos, maior seletividade, menor produção de resíduos, menor tempo de extração, abordagem menos poluente ao ambiente, menores temperaturas envolvidas no processo e maior pureza. Contudo, o maior desafio para a utilização dessas técnicas está relacionado à limitada aplicação desses processos em larga escala, pelos elevados custos com equipamentos, de forma que seu uso fica restrito à obtenção de produtos com alto valor agregado [12].

Dentre as técnicas alternativas, a extração supercrítica apresenta características muito vantajosas para a obtenção de extratos naturais. A técnica permite a obtenção de extratos livres de solventes e a variação das condições operacionais do processo (pressão e temperatura) modificam a densidade do fluido, conferindo alta seletividade ao método. Dentre os fluidos supercríticos utilizados, o principal é o dióxido de carbono (CO₂), devido ao fato do mesmo ser inerte, atóxico, de baixo custo, apresentar alta disponibilidade e propriedades críticas relativamente baixas (304 K e 7,38 MPa) [13].

Diante do potencial das plantas medicinais e da crescente necessidade de viabilizar tratamentos confiáveis para o câncer, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar quais são as vertentes inovadoras de pesquisa na área de extração dos compostos bioativos com ação anticancerígena a partir de matéria prima vegetal, identificando as espécies estudadas, a composição química, os métodos de extração utilizados e a resposta biológica, priorizando trabalhos nacionais.

Metodologia

A metodologia empregada neste trabalho consistiu em uma revisão bibliográfica realizada nas bases científicas Science Direct e PubMed. No Science Direct foram considerados apenas artigos que se enquadrassem nos tipos “*Review articles*” e “*Research articles*”, enquanto no PubMed não foi utilizado

nenhum filtro quanto ao tipo de trabalho. Em ambos os casos, considerou-se o período de 2015 a 2021. A **TABELA 1** sumariza os indexadores utilizados na busca e o total de trabalhos encontrados aplicando os filtros mencionados.

TABELA 1: Indexadores e total de trabalhos encontrados nas bases científicas utilizadas.

| Indexadores | Science Direct | PubMed | Total |
|--|----------------|--------|-------|
| 'cancer' AND 'Brazil' AND 'plants' AND 'anticancer' AND 'antitumoral' AND 'bioactive' | 77 | 10 | 87 |
| 'bioactive compounds' AND 'extraction' AND 'Brazilian' AND 'cancer' AND 'antiproliferative' AND 'activity' | 299 | 7 | 306 |
| Total | 376 | 17 | 393 |

Assim, foram adotados critérios visando abordar os pontos mais relevantes sobre o potencial anticancerígeno das plantas medicinais, fornecendo dados acerca do perfil fitoquímico, metodologia empregada no processo de extração e realização de ensaios para verificar a atividade biológica dos extratos. Ademais, a escolha de trabalhos brasileiros tem por objetivo ratificar a importância de estudos etnofarmacológicos em âmbito nacional, dadas as condições favoráveis para o desenvolvimento de pesquisas no ramo e à necessidade de maior inserção da medicina alternativa para o combate de doenças como o câncer no Brasil.

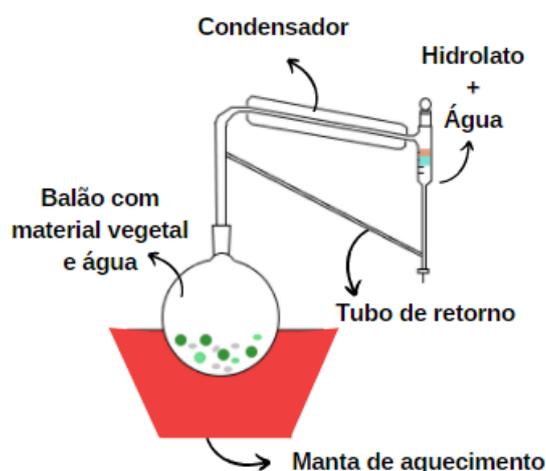
Em seguida, o potencial anticancerígeno de diferentes espécies de plantas é discutido, conforme apresentado na **TABELA 2**. Os extratos dessas matrizes vegetais foram obtidos a partir de diferentes técnicas de extração e avaliados em diferentes linhagens tumorais, visando mostrar a versatilidade de aplicação de plantas medicinais no tratamento do câncer.

Conforme será visto adiante, os trabalhos selecionados empregaram as técnicas da maceração, Soxhlet, hidrodestilação, extração assistida por ultrassom e extração supercrítica. As **FIGURAS 2 a 6** exibem representações esquemáticas simplificadas dos métodos utilizados pelos autores, a fim de facilitar a compreensão do procedimento experimental.

A técnica de maceração consiste em utilizar folhas, que podem ser frescas ou secas, cominuídas. O material vegetal é então macerado junto ao solvente e, em seguida, a amostra é filtrada e concentrada em rotaevaporador para obtenção do extrato.

A hidrodestilação com aparelho tipo Clevenger está representada na **FIGURA 1**. O método consiste em inserir uma mistura de material vegetal com água destilada em um balão localizado sobre uma manta de aquecimento. O aquecimento do conjunto provoca o arraste do vapor de água e do óleo essencial extraído da planta. O vapor é então condensado e, ao final do processo, uma camada de óleo (hidrolato), cuja densidade é inferior à da água, forma-se sobre a água, de modo que o óleo essencial pode então ser separado da água.

FIGURA 1: Representação simplificada do processo de extração por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger.



A técnica de extração assistida por ultrassom, **FIGURA 2**, consiste em empregar o material vegetal seco e moído em um processador ultrassônico (ultrassom) em que, a propagação de ondas ultrassônicas causa intenso colapso de bolhas nos vasos da planta (cavitação), ocasionando a ruptura de tecidos e promovendo a liberação dos metabólitos no solvente. O material é então filtrado e concentrado em rotaevaporador.

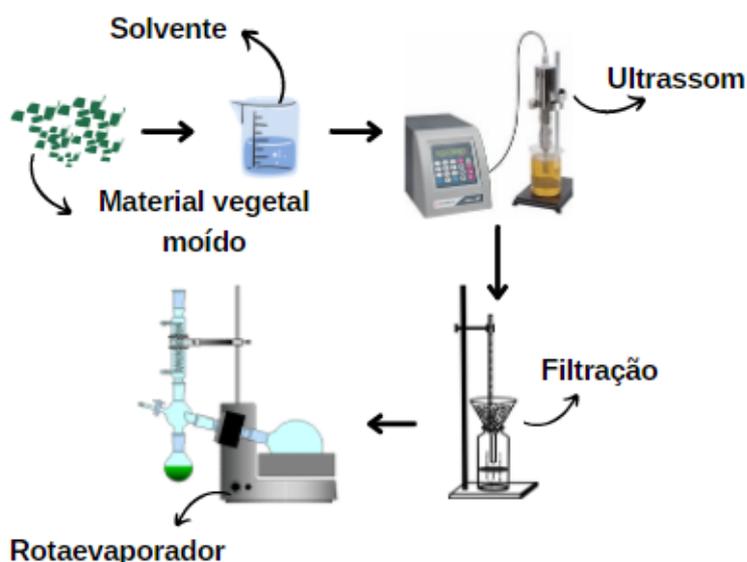
TABELA 2: Panorama dos trabalhos selecionados para a revisão, incluindo espécie vegetal, família botânica, parte da planta utilizada, método de extração, perfil fitoquímico e linhagens celulares avaliadas.

| Espécie | Família | Parte da planta | Método de Extração | Perfil fitoquímico | Linhagens celulares | Ref. |
|---|-----------------|-----------------|----------------------------------|--|--|------|
| <i>Solidago chilensis</i> Meyen | Asteraceae | Partes aéreas | Maceração | Solidagenona e quercitrina | U-251, MCF-7, 786-, NCI-H460 e PC-3 | [14] |
| <i>Anacardium occidentale</i> L. | Anacardiaceae | Folhas | Maceração | Ácido gálico, galoil hexosídeo | HL-60, NCI-H292, HCT-116, P815 e L929 | [15] |
| | | Casca | | | | |
| <i>Miconia burchellii</i> Triana | Melastomataceae | Folhas | Maceração | Feoforbida A, caempferol, caempferol-3-O- β -glucopiranosídeo, ácido oleanólico, ácido ursólico, lupeol e b-sitosterol | HCT-116 e L929 | [16] |
| <i>Syzygium malaccense</i> | Myrtaceae | Frutas | Maceração | Cianidina-3-O-glucosídeo, cianidina-3,5-O-diglucosídeo e peonidina-3-O-glucosídeo | HepG2 | [17] |
| <i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg | Myrtaceae | Frutas | Maceração | Demetoximateucinol, aureniatina A, dimetilchalcona A, champanona A e champanona D | B16-F10, MCF-7, PC-3, 786-O, HepG2 e NIH/3T3 | [18] |
| <i>Tabernaemontana catharinensis</i> A. DC. | Apocynaceae | Caules | Extração assistida por ultrassom | Afinisina | WM1366, SK-MEL-28, A375 e CCD-1059Sk | [19] |
| <i>Heliopsis longipes</i> S.F. Blake | Asteraceae | Raízes | Soxhlet | Espilantol | HaCaT, HeLa e MCF-7 | [20] |
| <i>Annona crassiflora</i> Mart. | Annonaceae | Casca | Extração assistida por ultrassom | Epicatequina e catequina | U-251, MCF-7, NCI-ADR/RES, NCI-H460, PC-3, OVCAR-3, HT-29, K-562 e HaCaT | [21] |
| | | Sementes | | Quercetina, epicatequina, ácido clorogênico e ácido cafeico | | |

| | | | | | | |
|--|---------------|--------|-----------------------|--|---|------|
| <i>Psidium guineense</i> Sw. | Myrtaceae | Folhas | Hidrodestilação | Espatulenol | U-251, MCF-7, NCI-ADR/RES, 786-O, NCI-H460, PC-3, OVCAR-3, HT-29, K-562 e HaCaT | [22] |
| <i>Senna spectabilis</i> (sin. <i>Cassia excelsa</i> var. <i>Acutifolia</i> , <i>Cassia carnaval</i> , <i>Cassia spectabilis</i>) | Fabaceae | Flores | Maceração | (-)-Cassina e (-)-espectralina | A549, MCF-7, Hs578T, HepG2, U138MG, U-251MG e CCD-1059Sk | [23] |
| <i>Piper nigrum</i> L. | Piperaceae | Frutas | Maceração | Cariofileno e α -copaeno | MCF-7 | [24] |
| | | | Extração supercrítica | Cariofileno e piperina | | |
| <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi | Anacardiaceae | Frutas | Extração supercrítica | δ -3-careno, α -felandreno, limoneno, germacreno D e cariofileno | NCI-ADR/RES, HT-29, MCF-7, OVCAR-3, PC-3, 786-O, NCI-H460, U-251, K-562 e HaCaT | [25] |

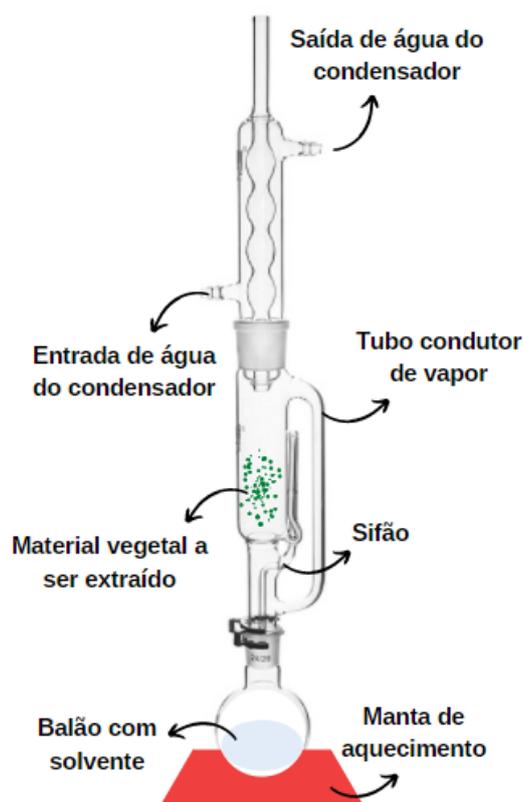
Linhagens celulares: Glioblastoma (U-251, U138MG, U-251MG), mama (MCF-7, Hs578T), rim (786-O), pulmão (NCI-H460, NCI-H292, A549), próstata (PC-3), leucemia (HL-60, K-562), cólon (HCT-116, HT-29), mastocitoma (P815), fibroblastos saudáveis (L929, NIH/3T3), fígado (HepG2), melanoma (B16-F10, WM1366, SK-MEL-28, A375), epitelial saudável (CCD-1059Sk), queratinócitos normais (HaCaT), cervical (HeLa), ovário (OVCAR-3) e ovário com resistência a drogas (NCI-ADR/RES).

FIGURA 2: Representação simplificada do processo de extração assistida por ultrassom.



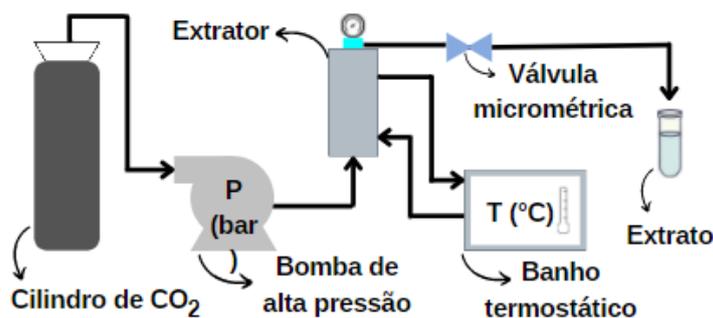
A extração por Soxhlet representada na **FIGURA 3** é uma extração que ocorre sob refluxo. O material a ser extraído é inserido no cartucho e o solvente é inserido no balão. O conjunto é aquecido pela ação da manta de aquecimento e segue um fluxo ascendente no equipamento. Ao ser resfriado na região do condensador, o solvente goteja sobre o material promovendo sua extração. O processo ocorre em ciclos devido à ação do sifão e o material obtido é então concentrado em um rotaevaporador para remoção do solvente.

FIGURA 3: Representação simplificada do processo de extração por Soxhlet.



A extração supercrítica é representada de maneira simplificada na **FIGURA 4**. O dióxido de carbono (solvente) é pressurizado pela ação de uma bomba de alta pressão, equipamento que permite manter constante a pressão desejada para o experimento. O extrator, que é alimentado com a matriz vegetal a ser extraída, é conectado à linha pressurizada de CO₂ e ao banho termostático, que mantém a temperatura desejada. O extrato é coletado pela abertura de uma válvula micrométrica para obtenção do produto puro.

FIGURA 4: Representação simplificada do processo de extração supercrítica.



Resultados e Discussão

O potencial antiproliferativo da quercitrina (flavonoide) e solidagenona (diterpeno) extraídos a partir de *Solidago chilensis* Meyen foi investigado por Gomes *et al.* No estudo, foram utilizadas as seguintes linhagens celulares: glioblastoma (U-251), mama (MCF-7), rim (786-O), pulmão (NCI-H460) e próstata (PC-3)^[14].

As partes aéreas da planta foram secas a 25°C, moídas em moinho de facas e, em seguida, peneiradas para selecionar as partículas de 425 µm (Mesh/Tyler 35). Posteriormente, 10 g do material moído e desidratado foram extraídos por maceração utilizando diclorometano (DES) e etanol (HES) durante cinco dias. O material foi filtrado e os solventes foram eliminados à pressão reduzida utilizando rotaevaporador, produzindo dois extratos^[14].

A técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) foi empregada para caracterizar os extratos. Observou-se que HES apresentou quercitrina como componente majoritário, enquanto a solidagenona foi o principal constituinte de DES. Os compostos foram então isolados de seus respectivos extratos e submetidos ao ensaio *in vitro*, a fim de avaliar sua performance contra diferentes linhagens tumorais. Doxorubicina (DOX) foi usada como controle positivo nas concentrações de 0,0025, 0,25, 2,5 e 25 µg.mL⁻¹^[14].

Os autores observaram que, para concentrações na faixa de 0,25 a 250 µg.mL⁻¹ durante um tempo de exposição de 48 h, entre os extratos de alta e baixa polaridade (HES e DES), DES apresentou os melhores resultados para as concentrações de 25 e 250 µg.mL⁻¹, sendo que, devido à baixa diferença de inibição das células tumorais nas duas concentrações, pode-se afirmar que a 25 µg.mL⁻¹ foi a melhor condição estudada. A solidagenona apresentou uma elevada ação antiproliferativa para todas as linhagens tumorais estudadas e o melhor resultado foi obtido para U-251 em DES (33,24 µg.mL⁻¹). Já quanto ao flavonoide isolado, quercitrina, observou-se que não houve inibição significativa no crescimento de nenhuma das células tumorais analisadas. Os resultados encontrados, portanto, permitiram mostrar o elevado potencial da solidagenona extraída de *S. chilensis*, sendo um resultado promissor para a continuação de estudos *in vivo*, a fim de coletar maiores informações acerca do potencial anticancerígeno da espécie^[14].

O potencial antitumoral da *Anacardium occidentale* L., espécie nativa da América do Sul e largamente utilizada devido às suas propriedades medicinais, foi estudada por Costa *et al.*^[15]. Os pesquisadores produziram dois extratos, a partir das folhas (150 g) e das cascas da planta (120 g). O material foi lavado, seco, moído e macerado com 1500 mL de etanol 96% durante 72 h. Em seguida, as amostras foram filtradas e o solvente eliminado pela ação de um rotaevaporador em condição de pressão reduzida.

Por meio de espectrometria de massa de alta resolução, os autores caracterizaram as amostras LEAo (extrato das folhas) e BEAo (extrato obtido da casca) e, para o primeiro extrato, foram identificados 11 compostos e seis para o segundo, sendo que desses, dois não possuíam identificação na literatura. As amostras LEAo e BEAo apresentaram dois compostos em comum, o ácido gálico e o galolil hexosídeo, ambos tendo como precursor a quercetina. Isso mostra que, nos extratos obtidos a partir da *A. occidentale*, há predominância de flavonoides, compostos amplamente associados à atividade anticancerígena^[15].

Para verificar o efeito anticancerígeno dos extratos, foram empregues cinco linhagens celulares, leucemia (HL-60), pulmão (NCI-H292), câncer de cólon (HCT-116), mastocitoma (P815) e fibroblastos (L929). A curcumina foi utilizada como padrão para as análises *in vitro*. O estudo foi feito com os extratos que apresentaram atividade para inibição do crescimento celular maior que 75%, determinando-se posteriormente o IC₅₀, índice que mostra a concentração capaz de inibir 50% do crescimento celular^[15].

Os autores observaram que os extratos de *A. occidentale* apresentaram ação anticancerígena promissora contra as quatro linhagens tumorais após 72 h de exposição. Sabendo-se que para IC₅₀ < 30 µg.mL⁻¹ o resultado é considerado promissor, pode-se dizer que, quanto menor for o IC₅₀, melhor o resultado, dado que

o extrato, mesmo em baixa concentração, é capaz de inibir o crescimento das células tumorais. Dessa forma, notou-se que o melhor efeito foi observado para o câncer de cólon (HCT-116) no extrato da casca, BEAo, cujo IC₅₀ foi o menor observado (9,44 µg.mL⁻¹). Já para as células normais (L929), o extrato apresentou uma baixa citotoxicidade em todos os casos analisados, uma vez que os IC₅₀ foram superiores a 50 µg.mL⁻¹^[15].

Com os resultados encontrados por Costa *et al.*^[15], pode-se afirmar que o extrato da planta foi capaz de inibir o crescimento de diferentes linhagens tumorais e, além disso, o efeito citotóxico foi seletivo às células cancerígenas, preservando as células saudáveis. Contudo, apesar dos resultados positivos obtidos pelos pesquisadores, torna-se necessário ainda avaliar os mecanismos de ação associados às propriedades farmacológicas dos extratos.

O perfil fitoquímico e a atividade dos extratos das folhas de *Miconia burchellii* Triana foram avaliados por Cunha *et al.*^[16]. O ensaio *in vitro* por MTT avaliou cinco linhagens tumorais e uma célula saudável após 72 h de exposição aos extratos. Astrocitoma (SNB-19), cólon (HCT-116), próstata (PC3), leucemia (HL-60) e mama (MCF-7) foram as linhagens tumorais empregadas no ensaio, enquanto fibroblastos (L929) representaram as células normais.

As folhas de *M. burchellii* Triana foram secas durante 24 h em estufa a 45°C e moídas em moinho de facas. Em seguida, 2250 g do material foram extraídos por maceração, utilizando hexano (MBLE-H), acetato de etila (MBLE-A) e metanol (MBLE-M), para obtenção de três frações de extratos. Os autores obtiveram respectivamente, 7,1 g de MBLE-H, 22,8 g de MBLE-A e 99,6 g de MBLE-M^[16].

A caracterização dos extratos foi feita por cromatografia, resultando na identificação de oito compostos: feoforbida A, caempferol, caempferol-3-O-β-glucopiranosídeo, ácido oleanólico, ácido ursólico, lupeol e β-sitosterol. Os compostos isolados foram caracterizados por meio de ressonância magnética nuclear 1D e 2D (NMR) e a feoforbida A, isolada por cromatografia a partir da fração MBLE-A, foi submetida ao ensaio *in vitro* a fim de avaliar o efeito citotóxico do extrato nas células do estudo^[16].

No estudo do percentual de inibição do crescimento celular foi utilizada uma concentração única de 100 µg.mL⁻¹ para o extrato cru (MBLE) e suas frações (MBLE-H, MBLE-A e MBLE-M), enquanto uma dose de 10 µg.mL⁻¹ foi empregada para o composto puro (feoforbida A). Dos extratos avaliados, a fração MBLE-A resultou em inibição superior a 75% para todas as linhagens, exceto de câncer de próstata (PC3), com inibições variando de 79,38 a 93,11%; contudo, a fração também inibiu o crescimento de células saudáveis em 93,45%. A fração de hexano apresentou elevada toxicidade contra a linhagem HL-60 (leucemia) e baixa citotoxicidade contra as células saudáveis (L929) com inibições de, respectivamente, 90,33 e 42,34%. Tanto o extrato metanólico quanto o extrato cru apresentaram baixas citotoxicidades para cinco das seis linhagens celulares estudadas, sendo que o efeito moderado foi observado apenas contra a leucemia, com uma inibição de 68,93 e 69,87%. Por fim, o composto puro, feoforbida A, apresentou baixa citotoxicidade contra as linhagens SNB-19, HCT-116, PC3 e MCF-7, sendo a maior inibição para as células de câncer de mama com percentual de 42,01%. O composto teve efeito de citotoxicidade elevada para HL-60 (leucemia), entretanto, a feoforbida A também se mostrou citotóxica contra as células saudáveis (L929), com inibição de 75,06%^[16].

Devido ao resultado promissor encontrado por Cunha *et al.*^[16] para o extrato MBLE-A, obtido com acetato de etila, a amostra foi submetida a um ensaio para determinação do IC₅₀, utilizando ainda doxorubicina como controle positivo. Ademais, foi avaliado também o comportamento do componente puro (feoforbida

A) no ensaio. Além do IC₅₀, os autores avaliaram o SI, um índice de seletividade dado pela razão entre a célula saudável (nesse caso, L929) e a linhagem tumoral avaliada. Observou-se que a fração MBLE-A apresentou maior potencial de inibição contra a linhagem SNB-19, cujo IC₅₀ foi de 37,72 µg.mL⁻¹. A feoforbida A também mostrou potencial de inibição contra as linhagens estudadas, contudo, nenhuma das amostras mostrou seletividade entre as células normais de fibroblastos e as células tumorais, necessitando de mais estudos sobre a espécie para garantir a segurança do extrato em aplicações medicinais.

A espécie *Syzygium malaccense* foi investigada por Vuolo *et al.*,^[17] utilizando as cascas da planta que, apesar de haver indícios indicando a riqueza de compostos bioativos nessa região, sua atividade ainda não foi investigada em linhagens tumorais, sendo o alvo deste estudo. As frutas de jamba vermelho foram manualmente descascadas, sendo posteriormente liofilizadas, trituradas, homogeneizadas e congeladas a -18°C para estocagem. A técnica de maceração com etanol foi utilizada pelos autores, em que 25 g de material foram extraídos com 100 mL de solvente (99,5%) em temperatura ambiente. O etanol foi evaporado e suspenso em água ultrapura. A amostra foi liofilizada até utilização nos ensaios colorimétricos e de cromatografia. O rendimento obtido no processo foi de 44,82%.

Dos compostos químicos identificados no extrato, cianidina-3-O-glucosídeo, cianidina-3,5-O-diglucosídeo e peonidina-3-O-glucosídeo foram os constituintes majoritários caracterizados. Com relação aos compostos fenólicos, observou-se a presença de ácido gálico, ácido clorogênico e (-)-epigalocatequina, que foram encontrados pela primeira vez no extrato de casca de *S. malaccense*^[17].

O extrato etanólico foi testado quanto à inibição da proliferação celular de hepatoma (HepG2). As células tumorais foram tratadas com extratos em diferentes concentrações, variando de 1 a 50 mg.mL⁻¹ após 72 h de exposição. O melhor efeito proliferativo foi observado com resultado de EC₅₀ igual a 40,92 mg.mL⁻¹ na máxima concentração estudada. Os autores não conseguiram estabelecer uma correlação significativa entre o efeito anticancerígeno contra as células HepG2 e os compostos bioativos encontrados no extrato. Portanto, os efeitos anticancerígenos podem ocorrer devido à presença de um constituinte em especial ou por causa do efeito sinérgico entre os constituintes presentes no extrato vegetal. Por fim, os autores conseguiram mostrar pela primeira vez o efeito de inibição do extrato de casca de jamba vermelho contra HepG2, indicando seu potencial terapêutico^[17].

Devido à falta de informações sobre os efeitos da gabioba na proliferação de células cancerígenas, Silva *et al.*^[18] estudaram a espécie nativa do Cerrado brasileiro, *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg. Os frutos da planta foram separados em duas partes, casca (DEGPE) e polpa com sementes (DEGPU) e, as duas partes foram secas em estufa de convecção a 37°C até completa desidratação, durante cerca de 48 h. Em seguida, os materiais foram extraídos exaustivamente por maceração durante 15 dias em temperatura ambiente, empregando diclorometano como solvente, com renovação a cada cinco dias. Finalizado o processo, os extratos foram filtrados e concentrados em evaporador rotativo para eliminação do solvente, sendo estocados em freezer a -20°C.

Os extratos da casca e polpa, respectivamente, DEGPE e DEGPU, foram caracterizados por cromatografia líquida ultrarrápida e, ao todo, 30 compostos foram encontrados, mas apenas 13 foram identificados, apresentando os mesmos constituintes para os dois extratos. Desses, sete compostos foram isolados, a saber: 7-hidroxi-5-metoxi-6-C-metilflavanona, 5,7-dihidroxi-6-C-metilflavanona, 5,7-dihidroxi-6,8-C-

metilflavanona (demetoximateucinol), 4',6'-dihidroxi-3'-metil-2'-metoxi chalcona (aurenciatina A), 4',6'-dihidroxi-3',5'-dimetil-2'-metoxi chalcona (dimetilchalcona), champanona C e champanona D^[18].

Ensaio de viabilidade celular foram realizados contra diversas linhagens celulares B16-F10 (melanoma murino), MCF-7 (mama), PC-3 (próstata), 786-O (rim), HepG2 (fígado) e NIH/3T3 (fibroblastos). Os resultados mostraram que os efeitos antiproliferativos e a seletividade de DEGPE foram maiores que os de DEGPE, com destaque para a inibição no crescimento celular de B16-F10, PC-3 e HepG2. Dentre os compostos isolados utilizados no ensaio *in vitro*, os compostos demetoximateucinol, aurenciatina A, champanona C, dimetilchalcona e champanona D apresentaram atividade contra B16-F10, sendo que a dimetilchalcona (DMC) revelou o melhor resultado, com IG_{50} de $7,11 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e seletividade maior que dois^[18].

Foram investigados ainda os efeitos do extrato DEGPE e do composto DMC isolado na indução de apoptose baseados nas alterações de morfologia e ativação de caspase-3 nas células de melanoma. Os autores puderam observar que as células B16-F10 tratadas com diferentes concentrações de DEGPE, DMC e doxorubicina (controle negativo) foram induzidas à apoptose. Isso se deu por modificações na membrana e formação de corpos apoptóticos. A maior indução foi verificada para o extrato da polpa (DEGPE) na concentração de $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ para os tempos de exposição de 24 e 48 h. O tratamento a $250 \mu\text{g.mL}^{-1}$ foi letal para as células estudadas em ambos os períodos. Já o DMC induziu apoptose de 54% das células com exposição de 24 h e 84% a 48 h na concentração de $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$. As análises da caspase-3 mostraram que $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de DEGPE foram capazes de ativar cerca de 30% das caspase-3, quando comparado ao controle negativo, enquanto DMC ($20 \mu\text{g.mL}^{-1}$) não foi capaz de ativá-la^[18].

Os resultados obtidos por Silva *et al.*^[18] foram promitentes e indicaram, de forma preliminar, que o extrato DEGPE obtido de *Campomanesia adamantium* é uma possível fonte de compostos bioativos com ação anticancerígena. Em adição, a dimetilchalcona isolada pode ser considerada como um agente anticâncer para as células de melanoma (B16-F10).

O melanoma, tumor originado nos melanócitos, é um câncer agressivo que acomete a pele. Tradicionalmente compostos como temozolomida, cisplatina e dacarbazina são os agentes quimioterápicos empregados no tratamento da doença, contudo, devido aos efeitos adversos causados pelas medicações, os autores^[19] optaram por avaliar os efeitos do biocomponente afinisina, isolado da *Tabernaemontana catharinensis* A. DC. na proliferação celular e na apoptose de diferentes linhagens de melanoma (WM1366, SK-MEL-28 e A375), sendo também avaliado em uma linhagem de pele não-tumoral (CCD-1059Sk).

Conforme procedimento experimental descrito por Rosales *et al.*^[19], do mesmo grupo de pesquisa, as inflorescências foram removidas dos caules que, em seguida, foram secos em estufa com circulação de ar forçada a 30°C durante sete dias. O material seco foi moído em moinho de facas e, posteriormente foi extraído por ultrassom utilizando etanol (10 mL.g^{-1}) como solvente, com o equipamento configurado a 40% de amplitude, a uma potência de 500 W, durante 30 minutos. A amostra foi então filtrada e o solvente removido em rotaevaporador à pressão reduzida. O sólido remanescente foi extraído pela técnica de extração ácido-base para a obtenção dos extratos fracionados, totalizando 29 frações. O composto afinisina foi isolado por cromatografia de camada fina (TLC), totalizando uma massa de 0,02697 g, que corresponde a um rendimento de 0,3%.

O ensaio para determinação do IC₅₀ foi realizado nas quatro linhagens celulares para tempos de exposição de 24 e 48 h. Os resultados de viabilidade celular mostraram que o composto foi capaz de inibir 50% do crescimento celular das três células de melanoma estudadas. O melhor resultado para o ensaio de 24 h foi observado para a WM1366, cujo IC₅₀ foi de 48,22 µg.mL⁻¹, seguido da célula SK-MEL-28, com IC₅₀ de 57,84 µg.mL⁻¹. Para a condição de exposição de 48 h, o comportamento observado foi o mesmo, sendo que os IC₅₀ foram de respectivamente, 32,86 e 41,51 µg.mL⁻¹. Com isso, o melhor resultado foi após 48 h de exposição para a linhagem de SK-MEL-28. Nos ensaios, a afinisina se mostrou seletiva para A375 após 24 h, com IC₅₀ igual a 75,04 µg.mL⁻¹, e para CCD-1059Sk após 48 h, com índice de inibição de 77,81 µg.mL⁻¹. Isso indica que a afinisina apresenta alguma seletividade às células saudáveis, dado que foi o maior IC₅₀ observado no estudo^[19].

Devido ao ensaio com 48 h de exposição ter fornecido os melhores resultados, os autores fixaram essa condição para os demais testes. O grupo de pesquisadores realizou um teste de anexina, para investigar se a inibição no crescimento celular observado foi causada por apoptose, que é um mecanismo envolvido na inibição de proliferação de células cancerígenas. Os autores concluíram que a afinisina induziu apoptose significativa em todas as células de melanoma avaliadas. Além disso, a indução de apoptose aliada à parada nas fases G₀/G₁ indicaram que o composto isolado tem potencial farmacológico para o desenvolvimento de agentes quimioterápicos contra o melanoma, sendo um resultado promissor para a pesquisa etnofarmacológica^[19].

Heliopsis longipes S. F. Blake é uma planta pertencente à família Asteraceae, que possui como metabólitos característicos a presença de N-alquilamidas, compostos conhecidos por suas propriedades: anti-inflamatória, imunomoduladora, analgésica e anticancerígena. Os autores^[20] investigaram os efeitos do extrato da planta em linhagens de HeLa (câncer cervical), HaCaT (queratinócitos), K-562 (leucemia) e MCF-7 (mama). Para a obtenção do extrato de *H. longipes* empregou-se a técnica de extração com Soxhlet, utilizando n-hexano como solvente por três dias. O extrato rico em alquilamidas obtido das raízes secas e moídas da planta foi submetido à pressão reduzida com temperatura de 40°C e foi posteriormente estocado no escuro sob refrigeração mantida a -20°C. A análise de cromatografia permitiu a identificação do espilantol como composto majoritário presente no extrato HLE.

O extrato HLE e o espilantol foram utilizados em testes para determinação da viabilidade celular, determinando-se também a seletividade dos extratos. Para HLE foram realizados ensaios com 24 e 48 h de exposição, enquanto para o espilantol apenas a condição de 48 h foi estudada. O HLE foi mais seletivo para as células de leucemia, com SI de 10,57. Quanto à inibição do crescimento celular, tanto para 24 quanto para 48 h, o IC₅₀ observado para as células HaCaT, foi superior a 300 µg.mL⁻¹, mostrando que o extrato não atinge as células saudáveis. A maior inibição do HLE para as condições estudadas ocorreu no ensaio de 48 h para a linhagem K-562, cujo índice IC₅₀ foi de 87,14 µg.mL⁻¹. Já os resultados para o componente isolado foram mais potentes que os obtidos para o extrato HLE para todas as células estudadas. O índice IC₅₀ para HaCaT foi superior a 100 µg.mL⁻¹, mostrando que o composto apresenta alguma seletividade entre as células cancerígenas e normais. A maior seletividade ocorreu para K-562, assim como foi observado para HLE (39,39 µg.mL⁻¹) por Willig *et al.*^[20].

Os autores verificaram que o efeito inibitório às células tumorais foi relacionado à fase G₂/M, estando associado a apoptose celular dependente da caspase. Pode-se então concluir que os resultados obtidos por Willig *et al.*^[20] indicaram que o extrato da planta apresentou atividade anticancerígena, sem produzir

efeitos citotóxicos em células saudáveis. Além disso, apesar dos resultados com o componente puro indicarem maior inibição do crescimento celular, o tratamento com HLE parece fornecer maior segurança às células normais, já que a inibição do espilantol foi levemente significativa para HaCaT.

Os efeitos antioxidante, antiproliferativo e curativo dos extratos obtidos a partir das cascas e sementes de *Annona crassiflora* Mart. foram estudados por Prado *et al.*^[21]. As frutas maduras foram lavadas com água destilada e manualmente separadas entre polpa, sementes e casca. As cascas e sementes foram liofilizadas e moídas em moinho de facas. Os materiais foram embalados a vácuo e estocadas a -20°C. Procedeu-se à extração assistida por ultrassom, onde 1 g de amostra foi homogeneizado com uma mistura 7:7:6 v/v/v (15 mL) de metanol, acetona e água aplicando vórtex por 30 segundos. Em seguida, as amostras foram levadas para o ultrassom em temperatura ambiente por 30 minutos e, posteriormente, foram levadas para a centrifuga. Os sobrenadantes foram coletados e os resíduos foram extraídos mais duas vezes. Depois, os sobrenadantes coletados foram combinados e evaporados em pressão reduzida a 35°C. Esse processo foi repetido três vezes e a amostra foi guardada a vácuo sob -20°C.

O conteúdo dos extratos da casca e sementes foi caracterizado. No primeiro extrato se observou a presença de epicatequina e catequina como compostos majoritários, enquanto o segundo apresentou quercetina, epicatequina e ácidos clorogênio e cafeico^[21].

Os extratos foram avaliados contra diversas células: glioma (U-251), mama (MCF-7), ovário (NCI-ADR/RES com fenótipo de resistência a drogas), pulmão (NCI-H460), próstata (PC-3), ovário (OVCAR-3), cólon (HT-29), leucemia (K-562) e queratinócitos (HaCaT). Os valores de concentração necessários para inibir completamente a proliferação celular (TGI) foram investigados. Os resultados mostraram que o extrato da casca apresentou melhor inibição contra as células de glioma (37,64 µg.mL⁻¹), enquanto o extrato da semente apresentou maior efeito antiproliferativo contra NCI-ADR/RES. De forma geral, o extrato da semente apresentou efeitos antiproliferativos superiores ao da casca para todas as linhagens estudadas. Cabe ressaltar que o controle positivo (doxorrubicina) exerceu elevado efeito contra as células saudáveis, com TGI igual a 0,092 µg.mL⁻¹. Isso mostra que, apesar dos extratos apresentarem efeitos citotóxicos contra células normais, a ação é muito mais amena se comparada ao controle negativo^[21].

Desse modo, a espécie *A. crassiflora* apresentou resultados *in vitro* promissores, apesar de o conteúdo fenólico ter se mostrado baixo. Com isso, a planta tem potencial para o desenvolvimento de drogas antiproliferativas, em especial para NCI-ADR/RES (TGI = 5,36 µg.mL⁻¹)^[21].

O potencial farmacológico de *Psidium guineense* (Sw.) foi investigado por Nascimento *et al.*^[22]. O óleo essencial foi obtido das folhas frescas, extraídas pelo método de hidrodestilação em aparelho Clevenger durante 4 h. A identificação dos componentes obtidos no extrato foi realizada por GC-MS e o procedimento resultou na caracterização de 38 compostos, sendo que o espatulenol (sesquiterpeno) foi o componente majoritário obtido, representando 80,71% do óleo. Posteriormente, o espatulenol foi purificado em uma coluna de cromatografia.

As atividades do extrato (EOPG) e do composto isolado (PG-1) foram analisadas contra células tumorais de glioma (U-251), mama (MCF-7), ovário com resistência a drogas (NCI-ADR/RES), rim (786-O), pulmão (NCI-H460), próstata (PC-3), ovário (OVCAR-3), cólon (HT-29), leucemia (K-562) e queratinócitos (HaCaT), sendo a última uma linhagem saudável. O EOPG mostrou inibição celular para todas as linhagens

avaliadas, sendo o melhor resultado para OVCAR-3, mostrando significativa inibição com GI_{50} de 0,89 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Já o composto isolado exibiu um efeito antiproliferativo moderado, cujo valor foi de 49,30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Assim, é possível observar que o efeito sinérgico do óleo essencial apresentou melhor resultado do que o espatulenol isolado, mostrando a importância da associação dos compostos presentes nos extratos obtidos por fontes vegetais para o desempenho de sua atividade biológica. Contudo, o EOPG também apresentou inibição da proliferação celular das células não-tumorais (HaCaT), com GI_{50} de 7,98 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto o espatulenol teve um efeito mais moderado (61,27 $\mu\text{g.mL}^{-1}$)^[22].

Com isso, os resultados obtidos indicaram ação anticancerígena do óleo essencial das folhas de *P. guineese* para diversas linhagens tumorais, com desempenho superior para o câncer de ovário, OVCAR-3. São necessários, ainda, estudos *in vivo* e sobre a seletividade da ação antiproliferativa do extrato, a fim de garantir a segurança para as células normais^[22].

Extratos de *Senna spectabilis* (sin. *Cassia excelsa* var. *Acutifolia*, *Cassia carnaval*, *Cassia spectabilis*) foram produzidos a partir de suas flores para avaliação da composição química e ensaio de atividade biológica. As flores foram secas em estufa durante seis dias a 40°C e então moídas, sendo posteriormente extraídas por maceração em etanol durante seis dias. A amostra foi então filtrada e mais 3 L de solvente foram adicionados ao material residual por dois dias. Por fim, os extratos foram combinados produzindo 104 g de extrato etanólico, em que, após partição, obteve-se uma fração rica em alcaloides, resultando em 39 g de material. Essa fração bruta foi exaustivamente extraída até obter uma fração alcaloide crua (9 g). Em seguida, a amostra foi purificada por cromatografia em coluna, resultando em uma mistura complexa dos alcaloides majoritários, (-)-cassina e (-)-espectralina (4,82 g)^[23].

O ensaio de viabilidade celular foi realizado com carcinomas de pulmão (A549), mama (MCF-7 e Hs578T), fígado (HepG2), glioblastoma (U138MG e U-251MG) e fibroblastos normais (CCD-1059Sk). As células foram tratadas por 24, 48 e 72 h. A inibição celular apresentou resultados promissores apenas para 48 h de tratamento com a mistura de alcaloides. Os resultados mostraram que o maior efeito antiproliferativo ocorreu para HepG2, com IC_{50} de 26,45 $\mu\text{g.mL}^{-1}$; já as células saudáveis apresentaram um índice de 55,62 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O índice de seletividade foi de 2,10, valor superior ao observado para DOX, que é um potente agente quimioterápico^[23].

Os autores relacionaram a atividade antiproliferativa da fração alcaloide devido à interrupção do ciclo celular na fase G1/S. A progressão do ciclo nessas fases é regulada por um mecanismo de elevada complexidade, envolvendo fatores como a ativação de quinases, como as cinases dependentes de ciclina, denominadas CDKs. Assim, a fim de promover maior entendimento acerca do mecanismo de ação da mistura de alcaloides, foram estudadas as mudanças na expressão dos níveis de ciclina D1 e fosforilação de ERK. Os resultados comprovaram que os alcaloides induziram regulação negativa em D1 e inibiram a ativação de ERK, demonstrando pela primeira vez que (-)-cassina e (-)-espectralina exercem papel fundamental na modulação da expressão de ciclina D1 e na fosforilação de ERK. Com isso, a pesquisa dos autores permitiu, além de verificar indícios do potencial antitumoral dos compostos obtidos de *S. spectabilis*, avaliar seu mecanismo de ação^[23].

A atividade antitumoral de extratos de *Piper nigrum* L. foi analisada por Grinevicius *et al.*^[24] a partir de extração convencional e supercrítica. A maceração foi realizada com 144 g.L⁻¹ de pimenta moída com etanol (93% v/v), durante 72 h com renovação diária do solvente, o qual foi separado posteriormente em um

rotaevaporador sob pressão reduzida a 45°C, obtendo uma oleoresina concentrada (ET). Já para a extração supercrítica com dióxido de carbono foram utilizados 20 g de material seco, a temperatura foi mantida fixa em 40°C e, a pressão foi avaliada nas condições de 150, 200 e 300 bar, obtendo os extratos SFE150, SFE200 e SFE300. Além disso, na condição de 200 bar e 40°C, os autores empregaram etanol (7,5% v/v) como cossolvente (SFE200 + ETOH), para determinar a influência da presença de um solvente de maior polaridade no meio para os testes realizados. A solubilidade do etanol na extração supercrítica variou entre 0,781 e 0,911 g.cm⁻³, promovendo solubilidade adequada para a extração dos compostos da planta.

Os compostos extraídos das amostras ET, SFE200, SFE300 e SFE200 + ETOH foram identificados por análises de UV-vis, HPLC, ESI-IT-MS (espectrometria de massa com ionização por electrospray) e GC-MS. O perfil fitoquímico dos extratos foi caracterizado pela presença de mono e sesquiterpenos, sendo o maior conteúdo representado pelos sesquiterpenos. Para todos os extratos avaliados o componente majoritário foi o cariofileno, sendo que vale destacar também a presença de compostos como germacreno D e α -humuleno, que são compostos bioativos comumente associados à atividade antitumoral. Os extratos SFE apresentaram melhores resultados quanto à solubilidade e seletividade, além de reduzir a perda de produtos. Além disso, o conteúdo de piperina em SFE200 foi, aproximadamente, 1,9 vezes superior que o obtido para ET (convencional), onde os valores encontrados foram de, respectivamente, 60,35 e 32,12%^[24].

Os efeitos dos extratos em células tumorais MCF-7 foram avaliados e o melhor resultado correspondeu ao extrato obtido por extração supercrítica a 40°C e 200 bar (SFC200). A ação citotóxica dessa amostra resultou em um valor EC₅₀ (metade da concentração efetiva máxima) igual a 14,4 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Grinevicius *et al.*^[24] atribuíram o ocorrido à maior quantidade de monoterpenos e sesquiterpenos nessa amostra.

Grinevicius *et al.*^[24] apontaram que a presença de cariofileno pode aumentar a atividade antitumoral do α -humuleno, conferindo ao produto melhores propriedades anticancerígenas. Posteriormente, os autores submeteram as amostras ET e SFE200, devido à melhor performance no ensaio *in vitro*, ao teste *in vivo* com modelo de tumor de Ehrlich em ratos. Os resultados mostraram que SFE200 causou significativa redução na quantidade de células na fase S. Os autores correlacionaram essa observação à possibilidade de dano oxidativo e/ou intercalação no DNA, ocasionando a parada do ciclo celular na fase G2/M.

Desse modo, os estudos de Grinevicius *et al.*^[24] comprovaram a melhor seletividade e o melhor desempenho dos extratos obtidos pela técnica alternativa do fluido supercrítico (FSC) se comparado ao método da maceração, tradicionalmente empregado para a obtenção de compostos de origem vegetal. Ademais, o extrato supercrítico obtido na condição de 200 bar e 40°C exibiu os melhores efeitos contra as células de câncer de mama MCF-7, induzindo a apoptose celular provavelmente devido ao efeito sinérgico entre a piperina e os sesquiterpenos presentes no óleo. Com isso, a *Piper nigrum* L. tem indícios de ser uma promissora espécie para abordagens alternativas empregadas para o manejo do câncer.

A planta medicinal *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), é nativa do Brasil e apresenta um elevado potencial para exploração do ponto de vista etnofarmacológico. A caracterização química do extrato obtido por extração supercrítica com CO₂ e os efeitos das condições operacionais no rendimento e na atividade antiproliferativa dos extratos foram estudados por^[25].

As frutas da espécie foram secas em estufa a 40°C por três dias, moídas em liquidificador industrial e classificadas por granulometria com peneiras Tyler de 10 a 42 Mesh por 20 min. O diâmetro médio de partículas foi calculado (0,828 mm), sendo adequado de acordo com a faixa elucidada na literatura (0,25 a 2 mm)^[25].

Um planejamento de experimentos fatorial completo de ordem 2² com 3 réplicas no ponto central foi utilizado para avaliar as condições a serem utilizadas na extração supercrítica. A **TABELA 3** resume as principais informações sobre o planejamento de experimentos e as variáveis de saída da extração, cuja pressão foi avaliada entre 100 e 300 bar e, a temperatura foi investigada entre 40 e 60°C.

TABELA 3: Planejamento fatorial completo, densidade, rendimento global e conteúdo de δ-3-careno para os extratos de *S. terenbinthifolius*.

| Planejamento fatorial completo | | | Variáveis de saída | | |
|--------------------------------|---------------|------------------|-------------------------|--------------------|----------------|
| Ensaio | Pressão (bar) | Temperatura (°C) | ρ (g.cm ⁻³) | X _o (%) | δ-3-careno (%) |
| 1 | 100 (-1) | 40 (-1) | 0,562 | 5,70 | 6,24 |
| 2 | 300 (+1) | 40 (-1) | 0,928 | 13,0 | 2,23 |
| 3 | 100 (-1) | 60 (+1) | 0,298 | 3,08 | 7,47 |
| 4 | 300 (+1) | 60 (+1) | 0,831 | 13,7 | 2,16 |
| 5 | 200 (0) | 50 (0) | 0,762 | 12,5 | 2,59 |
| 6 | 200 (0) | 50 (0) | 0,762 | 11,8 | 2,72 |
| 7 | 200 (0) | 50 (0) | 0,762 | 12,8 | 2,57 |
| EO | - | - | - | 4,20 | 7,29 |
| DE | - | - | - | 16,6 | 1,12 |
| EE | - | - | - | 42,6 | 0,00 |

Fonte: Adaptado de Silva et al^[25].

Pode-se perceber que a **TABELA 3** contém as sete condições operacionais utilizadas na extração supercrítica, em que os valores entre parêntesis representam os valores codificados do planejamento de experimentos (-1, 0, 1). Além disso, a densidade dos extratos supercríticos (scCO₂) são ilustradas na quarta coluna. O rendimento global (X_o) calculado pela **Eq. (1)**, assim como o conteúdo de δ-3-careno (kg do composto/kg de extrato x 100), foi aferido para os extratos scCO₂, EO (hidrodestilação), DE (Soxhlet com diclorometano) e EE (Soxhlet com etanol).

Eq. (1)

$$X_o = \frac{m_E}{m_d} 100$$

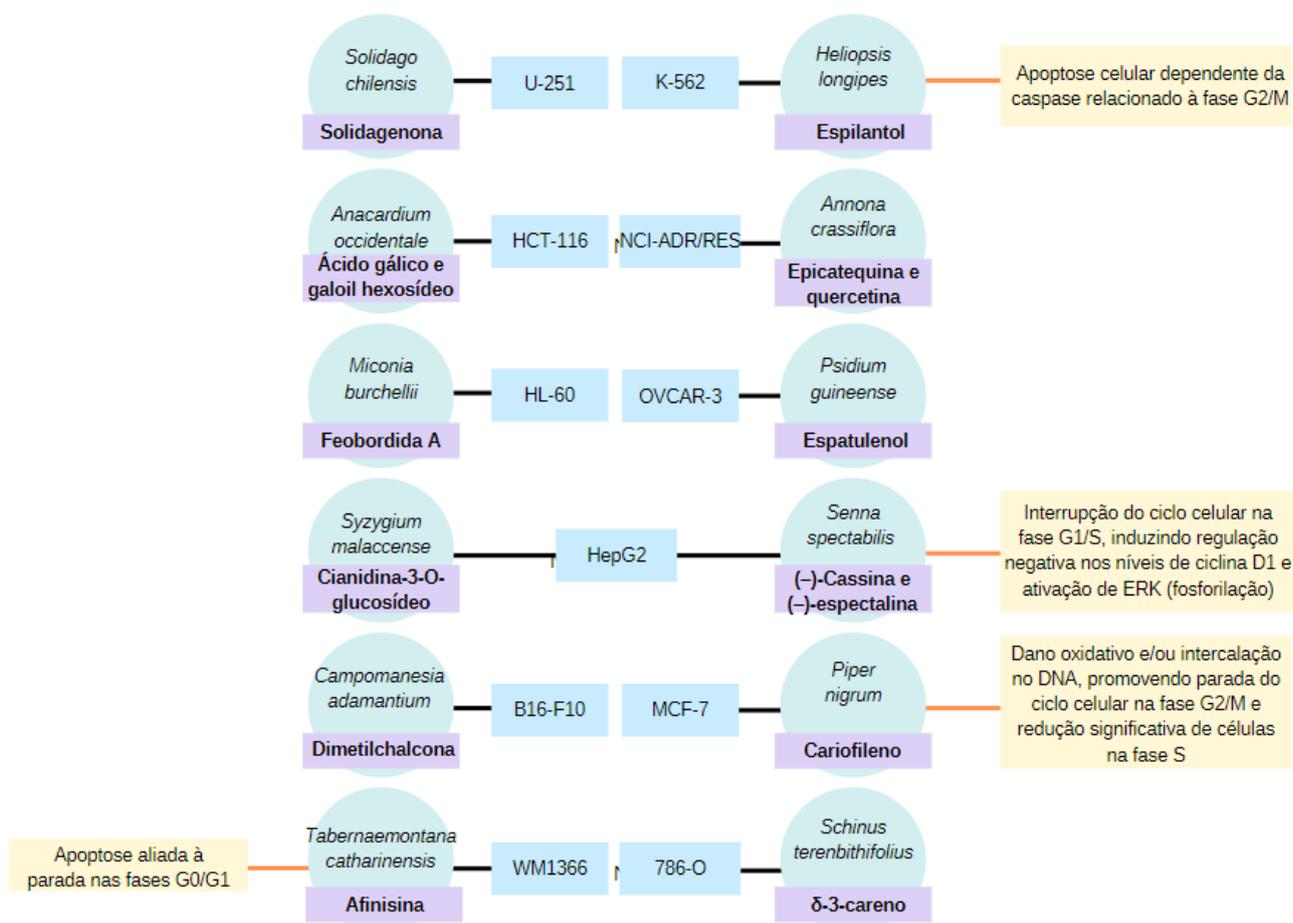
A extração supercrítica, assim como a hidrodestilação e o Soxhlet seguiram os procedimentos experimentais descritos na seção de Material e Método. As técnicas convencionais foram empregadas para comparação dos resultados obtidos entre os diferentes métodos. Dos resultados apresentados para a densidade do scCO₂, nota-se que o melhor resultado foi obtido a 300 bar e 40°C (0,928 g.cm⁻³). A extração de Soxhlet com etanol apresentou melhor rendimento global 42,6%, enquanto scCO₂ a 100 bar e 60°C exibiu o maior conteúdo de δ-3-careno (7,47%)^[25].

A caracterização química dos extratos foi feita por GC-MS. Os componentes majoritários dos extratos scCO₂, EO e DE foram δ-3-careno, limoneno, α-felandreno e germacreno D. Nos extratos scCO₂ o aumento da temperatura resultou em maior extração de sesquiterpenos^[25].

Os ensaios de viabilidade celular foram realizados em nove linhagens tumorais (NCI-ADR/RES, HT-29, MCF-7, OVCAR-3, PC-3, 786-O, NCI-H460, U-251, K-562) e uma saudável (HaCaT). Os resultados observados mostraram que os extratos supercríticos obtidos em 50 ou 60°C, independente da pressão, exibiram melhor performance contra o câncer de rim (786-O). Por outro lado, a 200 bar e 50°C se observou atividade contra células NCI-ADR/RES (ovário resistente a drogas), próstata (PC-3), ovário (OVCAR-3) e glioma (U-251). Os resultados comprovam que os sesquiterpenos dos extratos exibem atividade anticancerígena em diversas linhagens e, para trabalhos futuros, deve-se explorar o fracionamento dos extratos^[25].

A **FIGURA 5** resume as principais informações discutidas neste trabalho, elucidando os principais compostos obtidos a partir das espécies avaliadas, relacionando os metabólitos às linhagens tumorais de melhor desempenho.

FIGURA 5: Espécies vegetais e seus principais constituintes, mecanismos de ação da atividade antiproliferativa e células tumorais com melhor desempenho nos estudos de atividade biológica.



Conclusão

Este trabalho confirmou o potencial de bioprospecção de espécies vegetais ricas em compostos bioativos no Brasil, cuja composição está associada aos efeitos anticancerígenos em diversas linhagens celulares.

Dos trabalhos selecionados, a grande maioria empregou técnicas convencionais, que são baseadas no uso de solventes orgânicos. Devido à necessidade de purificação dos extratos para remoção dos solventes, são

necessárias inúmeras etapas de separação, o que é altamente dispendioso, podendo inviabilizar o uso efetivo das plantas medicinais em escala industrial.

Apenas três estudos abordaram técnicas alternativas, como extração assistida por ultrassom e supercrítica. Isso revela que trabalhos direcionados para o uso da química “verde” ainda são insuficientes, apesar de fornecerem produtos com alta pureza e livres de solventes.

A escolha do melhor método de extração exerce forte influência na solubilidade dos constituintes, de maneira a impactar na composição química do extrato, uma vez que fatores como o tipo de solvente utilizado (característica polar ou apolar), condições de operação (pressão, temperatura) e outros, podem priorizar a extração de determinados compostos químicos. Dessa forma, a obtenção dos compostos bioativos está associada ao potencial anticancerígeno do extrato.

Além disso, deve-se considerar ainda o efeito sinérgico da mistura, visto que as plantas medicinais estão sujeitas às variações climáticas, que influenciam na composição química e, conseqüentemente, nas atividades biológicas. Em adição, utilizar o composto puro tende a ser mais caro que o extrato, dada a necessidade de etapas adicionais para isolar o componente da mistura.

Agradecimentos

À FAPERJ – Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – e ao CNPq/PIBIC pelo apoio financeiro. Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Referências

1. World Health Organization. **WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all**. World Health Organization. 2020; 149. [\[Link\]](#).
2. Wild CP, Weiderpass E, Stewart BW. World cancer report: cancer research for cancer prevention. **Inter Agen Res Cancer**. 2020; 630. [\[Link\]](#).
3. Souza MVN, Pinheiro AC, Ferreira ML, Gonçalves RSB, Lima CHC. Produtos Naturais em Fase Avançada de Testes Clínicos no Tratamento contra o Câncer Natural Products in Advance Clinical Trials Applied to Cancer. **Rev Fitos**. 2007; 3:25-42. [\[Link\]](#).
4. Ferreira RG, Franco LFR. Efeitos colaterais decorrentes do tratamento quimioterápico no câncer de mama: Revisão bibliográfica. **Rev Univ Val Rio Verde**. 2017; 15(2):633-638. [\[CrossRef\]](#).
5. Ijaz S, Akhtar N, Khan MS, Hameed A, Irfan M, Arshad MA *et al*. Plant derived anticancer agents: A green approach towards skin cancers. **Biomed Pharmacoth**. Elsevier. 2018; 103: 1643-1651. [\[CrossRef\]](#).
6. Majolo F, Delwing LKOB, Marmitt DJ, Bustamante-Filho IC, Goettert MI. Medicinal plants and bioactive natural compounds for cancer treatment: Important advances for drug discovery. **Phytochem Lett**. 2019; 31: 196–207. [\[CrossRef\]](#).
7. Almeida MZ. **Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea**. **Plantas medicinais: abordagem histórico-contemporânea**. 3ª Ed. EDUFBA. 2011; 34-66. [\[Link\]](#).

8. Newman DJ, Cragg GM. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. **J Nat Prod.** 2016; 79(3): 629–661. [[CrossRef](#)].
9. Brasil. Ministério da Saúde. **Política e Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos.** Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica - Brasília: Ministério da Saúde. 2016; 190. [[Link](#)].
10. Elisabetsky E, Shanley P. Ethnopharmacology in the Brazilian Amazon. **Pharmacol Therap.** 1994; 64(2): 201-214. [[CrossRef](#)].
11. Žitek T, Dariš B, Finšgar M, Knez Ž, Bjelić D, Hrnčič MK. The Effect of Polyphenolics in Extracts from Natural Materials on Metabolic Activity of Metastatic Melanoma WM-266-4 **Cells Appl Sci.** 2020; 10(10): 3499. [[CrossRef](#)].
12. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. **Int Cent Sci High Technol.** 2008. [[Link](#)].
13. Haloui I, Meniai AH. Supercritical CO₂ extraction of essential oil from Algerian Argan (*Argania spinosa* L.) seeds and yield optimization. **Int J Hydrogen Energy.** 2017; 42(17): 12912-12919. [[CrossRef](#)].
14. Gomes DB, Zanchet B, Locateli G, Benvenuto RC, Vechia CAD, Schönell AP *et al.* Antiproliferative potential of solidagenone isolated of *Solidago chilensis*. **Rev Bras Farmacogn.** 2018; 28(6): 703–709. [[CrossRef](#)].
15. Costa AR, Silva JRL, Oliveira TJS, Silva TG, Pereira PS, Borba EFO *et al.* Phytochemical profile of *Anacardium occidentale* L. (cashew tree) and the cytotoxic and toxicological evaluation of its bark and leaf extracts. **South African J Bot.** 2020; 135: 355-364. [[CrossRef](#)].
16. Cunha GOS, Silva DM, Santos ML, Moraes Filho MO, Pessoa CO, Guimarães CJ *et al.* Chemical constituents and cytotoxic activity of *Miconia burchellii* Triana (Melastomataceae) leaves. **South African J Bot.** 2021; 137:345–350. [[CrossRef](#)].
17. Vuolo MM, Batista AG, Biasoto ACT, Correa LC, Maróstica Júnior MR, Liu RH. Red-jambo peel extract shows antiproliferative activity against HepG2 human hepatoma cells. **Food Res Int.** 2019; 124: 93-100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
18. Silva MCBL, Bogo D, Alexandrino CAF, Perdomo RT, Figueiredo PO, Prado PR *et al.* Antiproliferative activity of extracts of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg and Isolated Compound Dimethylchalcone Against B16-F10 Murine Melanoma. **J Med Food.** 2018; 21(10): 1024-1034. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
19. Rosales PF, Gower A, Benitez MLR, Pacheco BS, Segatto NV, Roesch-Ely M *et al.* Extraction, isolation and in vitro evaluation of affinisine from *Tabernaemontana catharinensis* in human melanoma cells. **Bioorg Chem.** 2019; 90: 103079. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. Willig JB, Salomón JLDO, Vianna DRB, Moura S, Pilger DA, Buffon A *et al.* *Heliopsis longipes* S.F. Blake (Asteraceae) extract causes cell cycle arrest and induces caspase dependent apoptosis against cancer cell lines. **South African J Bot.** 2019; 125: 251–260. [[CrossRef](#)].
21. Prado LG, Arruda HS, Araujo NMP, Braga LEO, Banzato TP, Pereira GA *et al.* Antioxidant, antiproliferative and healing properties of araticum (*Annona crassiflora* Mart.) peel and seed. **Food Res Int.** 2020; 133: 109168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
22. Nascimento KF, Moreira FMF, Santos JÁ, Kassuya CAL, Croda JHR, Cardoso CAL *et al.* Antioxidant, anti-inflammatory, antiproliferative and antimycobacterial activities of the essential oil of *Psidium guineense* Sw. and spathulenol. **J Ethnopharmacol.** 2018; 210:351–358. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

23. Pereira RM, Ferreira-Silva GA, Pivatto M, Santos LA, Bolzani VS, Paula DAC *et al.* Alkaloids derived from flowers of *Senna spectabilis*, (-)-cassine and (-)-spectaline, have antiproliferative activity on HepG2 cells for inducing cell cycle arrest in G1/S transition through ERK inactivation and downregulation of cyclin D1 expression. **Toxicol Vitr.** 2016; 31: 86-92. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

24. Grinevicius VMAS, Andrade KS, Ourique F, Micke GA, Ferreira SRS, Pedrosa RC. Antitumor activity of conventional and supercritical extracts from *Piper nigrum* L. cultivar Bragantina through cell cycle arrest and apoptosis induction. **J Supercrit Fluids.** 2017; 128: 94-101. [[CrossRef](#)].

25. Silva BG, Fileti AMF, Foglio MA, Ruiz ALTG, Rosa PTV. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds from *Schinus terebinthifolius* Raddi fruits: Effects of operating conditions on global yield, volatile compounds, and antiproliferative activity against human tumor cell lines. **J Supercrit Fluids.** 2017; 130:10–16. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 30/05/2021 | **Aceite:** 14/02/2022 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Assumpção ICP, Silva BAC, Mendes MF. Bioprospecção de plantas medicinais com potencial anticancerígeno no Brasil: caracterização e métodos de extração. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 156-175. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1251>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



Descoberta de fármacos a partir de produtos naturais e a abordagem Molecular Power House (MPH)

Natural Product-based Drug Discovery and the Molecular Power House (MPH) Approach

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1346>

Trivella, Daniela Barretto Barbosa^{1*}; Bruder, Marjorie Christine Paule¹; Oliveira, Fábio Cesar Bonafé²; Porcaro, Renata²; Rustiguel, Joane Kathelen¹; Ribeiro, Leonardo Bergamasco¹; Felício, Rafael de¹; Cunha, Marcos Guilherme da¹; Nascimento, Andrey Fabrício Ziem³; Zeri, Ana Carolina Mattos³; Pessa, Lisandra Ravanelli⁴; Mascarello, Alessandra⁴; Guimarães, Cristiano Ruch Werneck⁴; Azevedo, Hatylas⁴; Perfeito, Marcia Luana Gomes²; Pagani, Eduardo¹; Ropke, Cristina Dislich^{2*}.

¹Laboratório Nacional de Biociências (LNBio), Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), CEP 13083-970, Campinas, São Paulo, Brasil.

²Grupo Centroflora - Phytobios. Rua James Clerk *Maxwell*, 170, Módulo 2, Techno Park, CEP 13069-380, Campinas, SP, Brasil.

³Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), CEP 13083-100, Campinas, SP, Brasil.

⁴Aché Laboratórios Farmacêuticos, Rodovia Presidente Dutra-Pista Lateral, s/n, Porto da Igreja, CEP 07034-904, Guarulhos, SP, Brasil.

*Correspondência: daniela.trivella@lnbio.cnpem.br e ropke@phytobios.com.br.

Resumo

A descoberta de fármacos a partir de produtos naturais vivencia uma nova era graças ao uso de tecnologias de ponta e abordagens integradas para superar as dificuldades inerentes à pesquisa com produtos naturais. Estes são substâncias químicas altamente complexas e inovadoras produzidas pela biota, em especial organismos sésseis como plantas e micro-organismos, e representam a principal fonte de inspiração de novos fármacos. Resultante do reavivado interesse na descoberta de medicamentos à base de produtos naturais, novas abordagens para a identificação, caracterização, e reabastecimento de produtos naturais estão sendo desenvolvidas, que podem endereçar alguns dos desafios relacionados ao desenvolvimento de fármacos inspirados em moléculas da biodiversidade. Almeja-se a capacidade de detecção e caracterização de novos produtos naturais bioativos, concomitantemente à redução dos custos e tempo para obtenção destas moléculas. Para isto, é necessário inovar nos processos e nas tecnologias aplicadas à descoberta de fármacos a partir de produtos naturais. A abordagem *Molecular Power House* (MPH) apresentada neste trabalho faz uso de tecnologias integradas como uma forma de superar gargalos clássicos da pesquisa com produtos naturais de plantas, alinhada ao acesso à maior biodiversidade do planeta, posicionando o Brasil no cenário mundial de descoberta de fármacos inovadores.

Palavras-chave: Descoberta e Desenvolvimento de Fármacos. Produtos Naturais. Biodiversidade Brasileira. Molecular Power House. Cristalografia. Metabolômica.

Abstract

Natural product-based drug discovery is experiencing a new era thanks to the use of cutting-edge technologies and integrated approaches to overcome the difficulties inherent to natural products research. These are highly complex and innovative chemical substances produced by the biota, in particular sessile organisms such as plants and microorganisms, and represent the main source of inspiration for new drugs. The increasing interest in the discovery of medicines based on natural products has pushed the development of new approaches for the identification, characterization and resupply of natural products, which can address some of the challenges related to the development of drugs inspired by molecules from the biodiversity. The aim is to detect and characterize new bioactive natural products, at the same time as reducing costs and time to obtain these molecules. For this, it is necessary to innovate in the processes and technologies applied to the discovery of drugs from natural products. The Molecular Power House (MPH) approach presented in this work makes use of integrated technologies as a way to overcome classic bottlenecks in plant natural products research, which aligned with access to the greatest biodiversity on the planet, positions Brazil in the global scenario of discovering innovative drugs.

Keywords: Drug Discovery and Development, Natural Products. Brazilian Biodiversity. Power House. Crystallography. Metabolomics.

Introdução

Os primeiros relatos de uso de ingredientes naturais para fins terapêuticos datam de cerca de 2.500 AC. No entanto, os primeiros fármacos sintéticos como o hidrato de cloral (1832) surgiram no século XIX, e somente se tornaram predominantes após a segunda guerra mundial. Ainda hoje, mais de 50% dos fármacos disponíveis são derivados de ou inspirados em produtos naturais^[1].

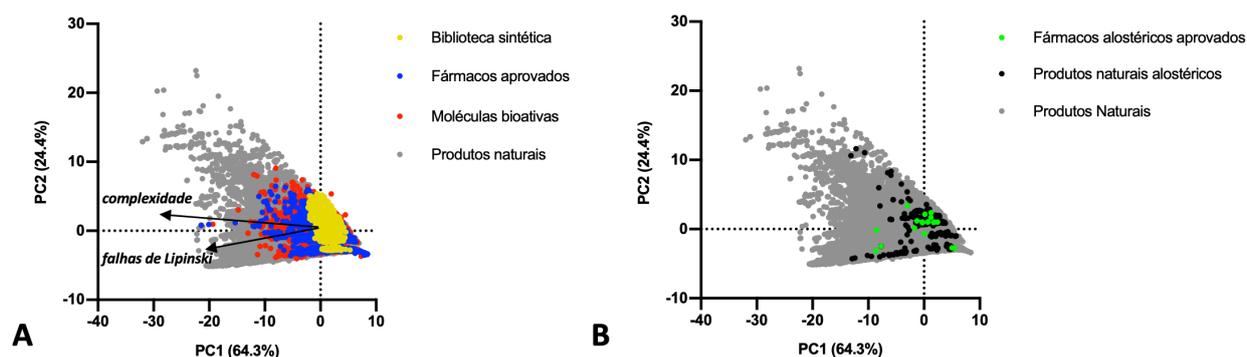
A despeito do reconhecido potencial de descoberta de estruturas moleculares inovadoras, as dificuldades inerentes à pesquisa com produtos naturais levaram a indústria farmacêutica a investir em metodologias sintéticas, tais como química combinatória e síntese paralela, com a produção de milhares de compostos para avaliação e desenvolvimento. Embora muitos fármacos inovadores tenham surgido assim, as abordagens sintéticas não conseguiram superar o poder dos produtos naturais como inspiração para novos fármacos^[1].

Existem características fundamentais entre compostos sintéticos imaginados (por nós humanos) ao longo de algumas décadas, e produtos naturais que evoluíram durante milhões de anos para desempenharem uma função biológica específica. Uma delas é a estrutura química, comumente tridimensional em produtos naturais, proporcionando interações privilegiadas com as moléculas biológicas, tais como proteínas e enzimas, que representam os alvos para tratamento de doenças. Por outro lado, compostos sintéticos muitas vezes possuem uma estrutura mais planar, podendo limitar essas interações com os alvos biológicos. Por isso, químicos sintéticos e medicinais têm procurado se inspirar em produtos naturais, criando moléculas híbridas, ou moléculas com estruturas mais tridimensionais, surgindo assim um movimento de desenvolvimento de novas metodologias dedicadas à síntese de arquiteturas mais complexas, visando alcançar um espaço químico similar ao dos produtos naturais^[2].

A **FIGURA 1A** traz a representação do espaço químico dos produtos naturais, dos fármacos já aprovados para uso humano, de moléculas bioativas (fármacos avançados na cadeia de desenvolvimento, mas ainda

não aprovados para uso humano), e de bibliotecas químicas comerciais de origem sintética. É notável a inclusão de moléculas mais complexas na coleção de produtos naturais e a limitação desta complexidade química nas coleções sintéticas. Também chama a atenção que os fármacos aprovados e as moléculas bioativas contemplam também moléculas complexas, podendo indicar que a complexidade é um fator importante para a viabilidade de estruturas químicas como fármacos, sendo que há muitos casos que não atendem as regras dos 5 de Lipinski para fármacos de administração oral.

FIGURA 1: Espaço químico dos produtos naturais em comparação com diferentes coleções químicas.



O espaço químico é representado via análise de componentes principais (PCA) das moléculas que compõem cada coleção, sendo cada molécula representada por um ponto no gráfico. As variáveis consideradas foram os descritores moleculares de cada molécula analisada. A PCA foi construída seguindo o descrito por Bruder e colaboradores^[3]. As variáveis de complexidade foram agrupadas em um único vetor para melhor visualização. Este aponta para os quadrantes $PC1 < 0$. Desta forma, o quadrante oposto ($PC1 > 0$) contém moléculas pequenas, planares e de baixa complexidade. O vetor de falhas de Lipinski também aponta para os quadrantes $PC1 < 0$, sendo as moléculas mais propensas a biodisponibilidade oral localizadas nos quadrantes opostos ($PC1 > 0$). **(A)** Estão representadas a biblioteca química UNPD-ISDB^[4], contemplando 208.240 produtos naturais (cinza), 2.274 fármacos aprovados (azul) e 9.197 candidatos a fármaco disponíveis no DrugBank^[5] (vermelho), e 20.000 moléculas da biblioteca ChemBridge, como exemplo de biblioteca comercial de origem sintética (amarelo). **(B)** Adicionalmente estão representados os fármacos alostéricos aprovados ($n=19$, verde)^[6] e os produtos naturais reportados como inibidores alostéricos de proteínas de interesse farmacêutico^[3].

Há uma tendência também na exploração do mecanismo de regulação alostérica de proteínas por fármacos em proteínas complexas, conservadas e de alto interesse clínico^[3,7-12]. Estas novas oportunidades para o desenvolvimento dos fármacos do futuro requerem moléculas diversas e, muitas vezes, complexas. A **FIGURA 1B** traz a análise do espaço químico, representando também os fármacos alostéricos já aprovados^[6] e os produtos naturais reportados como inibidores alostéricos de proteínas de interesse farmacêutico^[3]. Fica novamente evidente a importância da diversidade química dos produtos naturais para busca e desenvolvimento de novos fármacos inovadores.

Todavia, há ainda muito que a Natureza possa nos ensinar no contexto aqui exposto, principalmente em relação a novas moléculas e arquiteturas químicas. Para tornar a identificação e o desenvolvimento de novas moléculas bioativas mais eficientes, é preciso superar os gargalos atrelados à descoberta de novos produtos naturais bioativos. Historicamente, o mapeamento de substâncias químicas produzidas por organismos vivos e a avaliação da atividade biológica destas requer o isolamento em alto grau de pureza

destas substâncias, bem como a obtenção de quantidades suficientes (~10 mg) para executar os diversos ensaios que visam determinar a estrutura química e caracterizar a atividade biológica dos produtos naturais. Isto envolve a obtenção de extratos da fonte natural na faixa de dezenas de gramas, bem como processos intensivos de purificação que fazem uso de litros de solventes orgânicos, entre outros consumíveis. A pureza e a quantidade obtida do produto natural purificado também vão garantir a qualidade das análises químicas visando a elucidação estrutural, bem como a atividade biológica, e com isso, a identificação do composto bioativo. Universidades e centros de pesquisa têm assim conseguido milhares de moléculas para avaliação de atividades biológicas nas mais diversas áreas terapêuticas ao longo dos anos. No entanto, estima-se a existência de milhões de produtos naturais^[13], sendo muitos ainda desconhecidos.

Como dito anteriormente, quantidades suficientes do produto natural são necessárias para conseguir todas as informações relevantes para a validação da bioatividade, e isso pode se tornar um grande gargalo no desenvolvimento de novos fármacos a partir de produtos naturais. Os principais problemas neste ponto são: o acesso à amostra natural em quantidade; o tempo dedicado ao isolamento do composto bioativo e; a reprodutibilidade da preparação. É difícil rastrear o organismo de origem (planta, fungo ou micro-organismo) para repor o estoque, uma vez que o local e o período do ano da coleta do material, por exemplo, podem influenciar sua composição química, e estas informações nem sempre estão disponíveis. Além disto, muitos dos produtos naturais ainda desconhecidos são substâncias químicas produzidas em quantidades muito pequenas pelos organismos da biota. Geralmente, são minoritários nos extratos de produtos naturais, tornando sua detecção, identificação e isolamento um grande desafio. Por exemplo, o isolamento do taxol levou mais de dois anos desde a descoberta que extratos de *Taxus brevifolia* exerciam importante ação anticâncer.

Considerando que existem muitas proteínas alvo para doenças para as quais ainda não se encontraram moléculas capazes de modular sua função, que produtos naturais são a grande fonte de novas moléculas bioativas, e que a indústria de fármacos é cada vez mais competitiva, almeja-se a capacidade de detecção e caracterização de novos produtos naturais bioativos, concomitantemente à redução dos custos e tempo para obtenção destas novas e inovadoras substâncias químicas. Para isto, é necessário inovar também nos processos e nas tecnologias aplicadas à descoberta de fármacos a partir de produtos naturais.

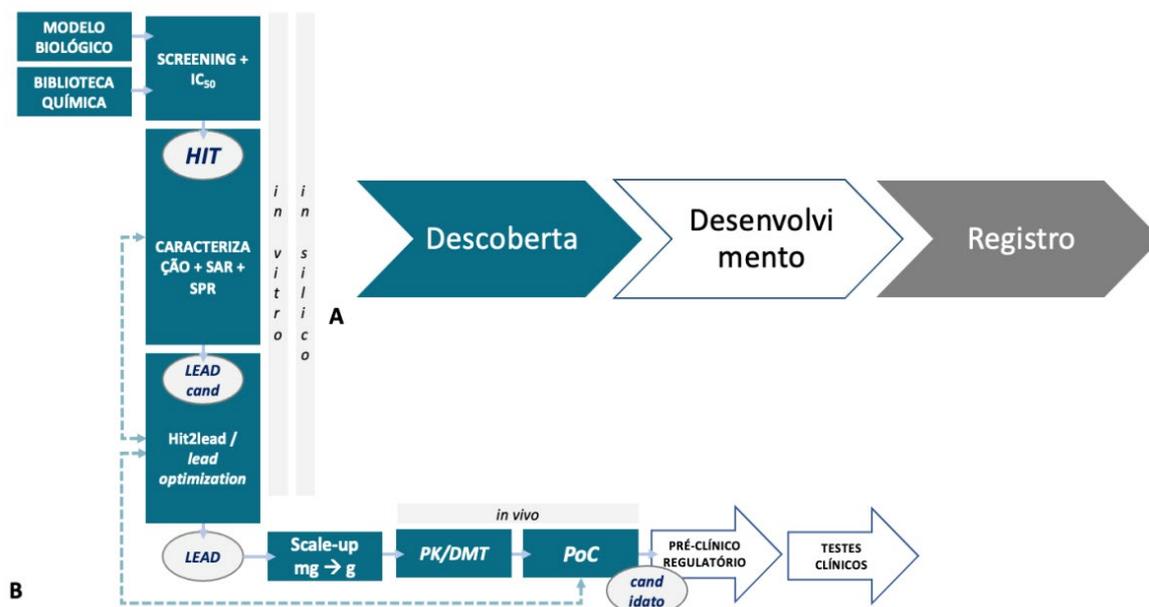
A abordagem MPH (*Molecular Power House*), realizada em colaboração entre o CNPEM e a Phytobios, visa explorar exatamente estes pontos, viabilizando a descoberta de novos fármacos a partir de produtos naturais da biodiversidade brasileira, o principal diferencial do Brasil, gerando informações de alto valor com a aplicação da alta tecnologia. Neste artigo, serão apresentadas as principais abordagens em uso na plataforma MPH, com ênfase no rastreamento e mapeamento de produtos naturais produzidos por plantas brasileiras, identificação e caracterização dos produtos naturais bioativos, gerando informação para o desenvolvimento de novos fármacos, e estratégias sustentáveis para a produção dos insumos de origem vegetal. Uma breve introdução aos processos de descoberta e desenvolvimento de fármacos será dada, visando contextualizar o problema e principal contribuição dos produtos naturais para inovação na cadeia de desenvolvimento de novos fármacos.

Processo de descoberta e desenvolvimento de novos fármacos

A descoberta e desenvolvimento (DD) de fármacos é um processo de alto custo e risco. Em média, o desenvolvimento de um novo fármaco leva 20 anos, com custos médios na ordem de 1 bilhão de dólares^[14].

O processo de descoberta e desenvolvimento de fármacos pode ser organizado em 3 grandes etapas: Descoberta, Desenvolvimento e Registro (**FIGURA 2A**).

FIGURA 2: Visão geral das etapas de descoberta e desenvolvimento de fármacos.



Legenda: (A) Etapas de desenvolvimento de fármacos, evidenciando a etapa de Descoberta, Desenvolvimento e Registro. (B) Detalhamento da etapa de Descoberta, evidenciando a descoberta de moléculas de partida (hits), sua caracterização e otimização em um candidato a molécula líder (lead) e sua validação em um fármaco-candidato, para a área terapêutica do projeto.

A etapa de Descoberta é a etapa que mais contribui para a inovação. Esta etapa envolve a obtenção da molécula protótipo do princípio ativo do novo medicamento, o *fármaco-candidato*. Vários estudos experimentais e computacionais são empregados, partindo da triagem de milhares de moléculas em um dado modelo biológico da doença, obtendo-se as moléculas de partida (*hits*), passando por etapas de caracterização e otimização do *hit* em um *lead*, e finalmente obtendo-se o *fármaco-candidato*, validado em experimentos exploratórios em modelos animais (**FIGURA 2B**). O *fármaco-candidato* é uma molécula eficaz e segura nos modelos *in vitro* e animais, e sua obtenção constitui o sucesso da execução da fase de Descoberta.

O *fármaco-candidato* passará então à fase de escalonamento e aos estudos regulatórios em modelos animais e, em seguida, aos estudos clínicos em seres humanos, todos estes constituindo a etapa de Desenvolvimento.

Inovação, interdisciplinaridade e tecnologias como diferenciais para a etapa de Descoberta

A etapa de Descoberta é em geral realizada na academia, institutos de pesquisa e centros de pesquisa em inovação radical de indústrias farmacêuticas. É uma etapa multidisciplinar que envolve o conhecimento biológico e químico sobre o fármaco e sobre a biologia da doença, sendo desempenhado em geral por biólogos, químicos, farmacêuticos, médicos ou profissionais de áreas correlatas. Atualmente, a etapa de Descoberta vem contando também com o papel dos informatas (químico/bio e cientistas da computação/informação), uma vez que mais e mais a etapa de descoberta de um novo princípio ativo envolve a geração e mineração de grandes bases de dados. Novas disciplinas vêm sendo também inseridas, como a física voltada para imageamento biológico, usando novos recursos para obter imagens de alta resolução de moléculas, proteínas, células e organismos inteiros.

Os síncrotrons de quarta geração, como o Sirius (LNLS-CNPEN, Campinas, Brasil) têm cada vez mais importância nesta etapa, mostrando em alta definição a biologia da doença no início da etapa de Descoberta e, ao final destes projetos, a interação do *lead* com o alvo biológico e seu efeito no organismo. A cristalografia de proteínas, que também utiliza raios X e fontes de luz síncrotron, tem papel central na etapa da Descoberta de plataformas DD modernas, pois gera imagens tridimensionais da proteína alvo em complexo com *hits* e *leads*, viabilizando o planejamento racional de moléculas baseado na estrutura do receptor biológico (SBDD: *structure-based drug design*).

Outro diferencial de plataformas de Descoberta de fármacos é o uso de produtos naturais como moléculas para triagem ou moléculas de partida. Como já mencionado, os produtos naturais sempre tiveram e continuam tendo papel importante na descoberta de novas estruturas químicas e novos modos de ação para o desenvolvimento de *fármaco-candidatos*.

Dito isto, a combinação de produtos naturais e tecnologias modernas, como as oferecidas por fontes de luz síncrotron, aliada a formação e mineração de base de dados correlacionais traz diferenciais competitivos únicos para a etapa de Descoberta. A abordagem MPH utiliza esta combinação para inovar na área farmacêutica no Brasil, empregando a biodiversidade brasileira e as tecnologias disponíveis no CNPEM, como o Sirius e a plataforma computacional NP³.

Material e Métodos

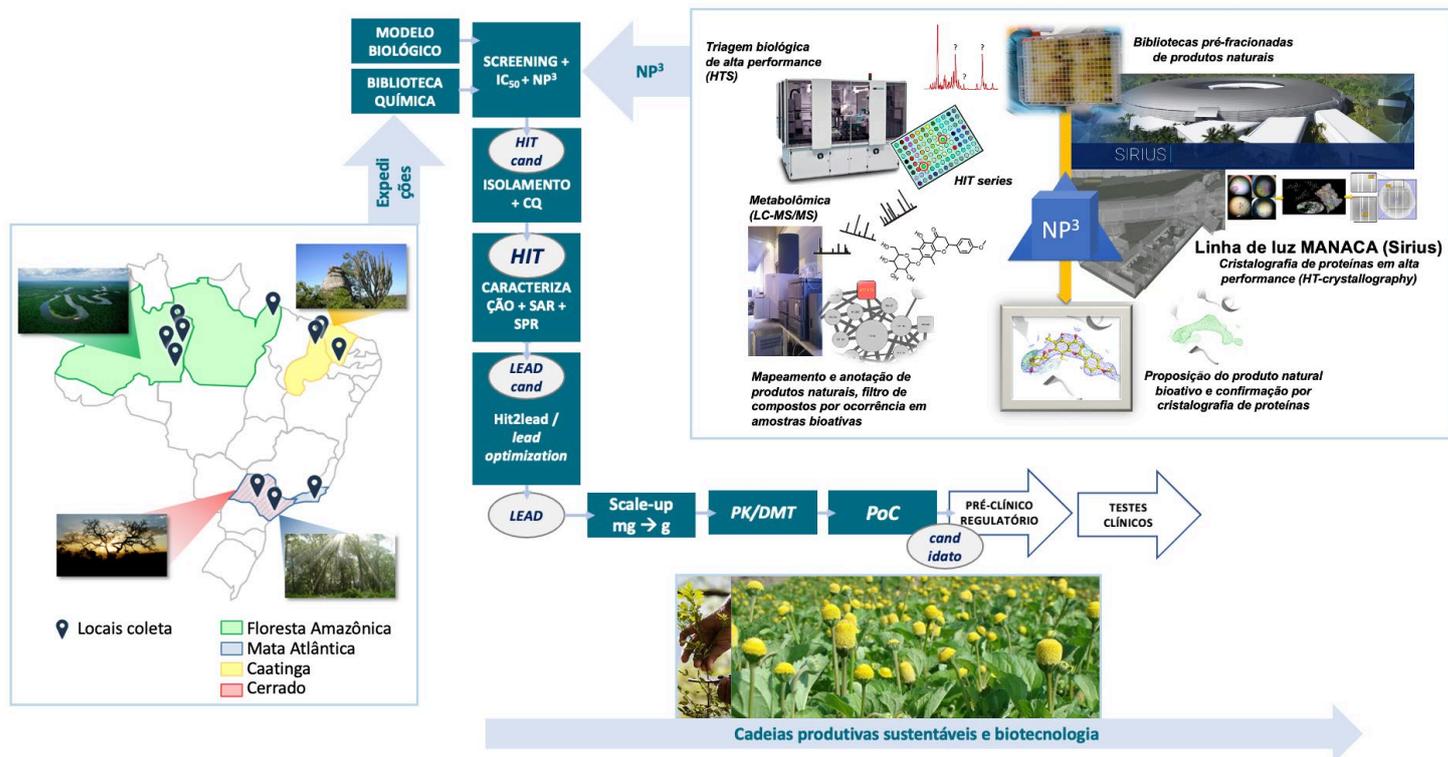
Para este relato foram selecionadas as etapas principais da abordagem MPH (*Molecular Power House*), desenvolvida pelo CNPEM e a Phytobios para descoberta de novos fármacos a partir da biodiversidade brasileira usando alta tecnologia brasileira. Os métodos serão descritos na seção “Resultados”, juntamente com a apresentação de cada etapa chave da abordagem MPH. São também incluídas informações relevantes a partir da experiência de desenvolvimento de projetos em parceria com a indústria farmacêutica.

Resultados e Discussão

A abordagem MPH para a descoberta de fármacos a partir da biodiversidade e novas tecnologias brasileiras

A abordagem MPH (*Molecular Power House*) visa viabilizar a descoberta de novos produtos naturais bioativos, atuando desde a etapa da coleta de exemplares da biota até a produção dos *leads* e *fármaco-candidatos*, gerando no processo, importante informação molecular sobre o produto natural e seu mecanismo de ação. Isto garante a geração da informação química e biológica para embasar o desenvolvimento de novos fármacos, otimizando os processos da fase de Descoberta. Assim aproximam-se o tempo e custo da etapa de descoberta de *leads* a partir dos produtos naturais dos processos empregados em programas embasados em bibliotecas sintéticas, porém usando toda a diversidade química dos produtos naturais. A partir daí, abordagens sintéticas, semissintéticas ou de extração dos *hits* e *leads* a partir da fonte natural são empregadas, garantindo a realização das etapas de otimização dos *hits* e *leads*, provas de conceito e estudos regulatórios *in vivo* (FIGURA 3).

FIGURA 1: A abordagem MPH integra expedições de campo profissionalizadas, alta tecnologia para identificação e caracterização de produtos naturais bioativos (abordagem NP³) e produção sustentável dos insumos naturais visando viabilizar plataformas de descoberta de fármacos a partir de produtos naturais para inovação farmacêutica no Brasil.



Coletas profissionalizadas com rastreabilidade das amostras e processo de produção

A primeira etapa deste processo é garantir expedições em campo rastreáveis para coleta, avaliação e reposição dos compostos produzidos pela biota. A Phytobios desenvolveu um protocolo para padronizar procedimentos de acesso, coleta e produção de amostras de componentes da flora no âmbito da parceria MPH. O objetivo deste protocolo foi fornecer informações práticas para o planejamento e a execução da amostragem, incluindo a escolha das áreas, boas práticas de manejo e a atenção à legislação, auxiliando assim nos processos de tomada de decisão sobre os melhores procedimentos a serem adotados nas atividades de coleta de flora e nos cuidados que devem ser tomados com os ambientes onde estão as espécies manejadas. O protocolo das expedições de campo e coleta do material vegetal é apresentado no Material Suplementar.

Preparação dos extratos vegetais

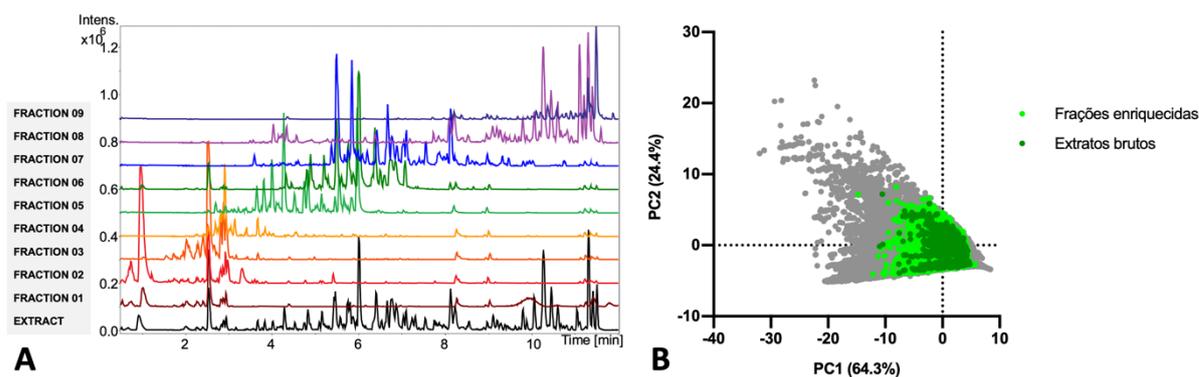
Para preparação dos extratos brutos foi escolhido etanol como solvente padrão, por garantir a extração de um amplo espectro de compostos, mesmo que alguns deles sejam extraídos com menor eficiência. As modernas técnicas de isolamento e elucidação estrutural, associadas aos ensaios bioguiados de alto desempenho, ou HTS (do inglês, *high throughput screening*) e técnicas de cristalografia permitiram esta escolha de ter um solvente único para preparação dos extratos brutos. Os extratos são então concentrados e a água residual eliminada para seguir nas próximas etapas do processo.

Processo de fracionamento e construção de bibliotecas pré-fracionadas

Os benefícios do pré-fracionamento para os esforços de triagem têm sido discutidos anteriormente em publicações científicas. Para ensaios bioquímicos de HTS, o uso de bibliotecas pré-fracionadas reduz significativamente o número de compostos presentes em amostras ativas e auxilia no isolamento e a elucidação estrutural. Por exemplo, a biblioteca do *National Program for Natural Products Discovery* (NPNPD), uma biblioteca pré-fracionada pertencente ao *US National Cancer Institute* (NCI), é composta de sete frações por produto bruto extrato, e mostrou conter algo entre 2 a 28 compostos por fração quando analisados por detectores LC-MS-ELSD^[15].

Nós também mostramos recentemente, que bibliotecas pré-fracionadas trazem benefícios, tanto na detecção química, como da atividade biológica de amostras naturais^[16]. As frações enriquecidas reduzem a complexidade das amostras (**FIGURA 4A**) e evidenciam compostos minoritários, bioativos e raros (**FIGURA 4B**). A **FIGURA 4B** traz o espaço químico dos produtos naturais conhecidos detectados na biblioteca de plantas brasileiras MPH, utilizando amostras de extratos brutos e frações enriquecidas. É evidente a expansão do espaço químico proporcionado pelas frações enriquecidas, principalmente na direção de moléculas mais complexas, ainda no espaço dos fármacos e moduladores alostéricos raros (**FIGURA 4B**).

FIGURA 4: Biblioteca pré-fracionada MPH.



Legenda: (A) Exemplo de série cromatográfica com 9 frações enriquecidas geradas a partir de um extrato bruto de planta. (B) Mapeamento do espaço químico coberto por produtos naturais oriundos de amostras de extrato bruto e frações enriquecidas de plantas brasileiras na biblioteca MPH.

Nesta análise as frações foram geradas por cromatografia líquida de fase reversa em sistema HPLC preparativo. Os extratos brutos e frações enriquecidas gerados foram ressuspensos em DMSO, a concentração de 10 mg/ml, e analisados por cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas. Os espectros de fragmentação obtidos foram contrastados com espectros de produtos naturais depositados nas bases de dados GNPS e UNPD-ISDB. As anotações das estruturas (65% dos espectros) foram consideradas para extração dos descritores moleculares dos produtos naturais e avaliação por análise de componentes principais.

A abordagem NP³ para prospecção de moléculas bioativas a partir de bibliotecas pré-fracionadas de produtos naturais

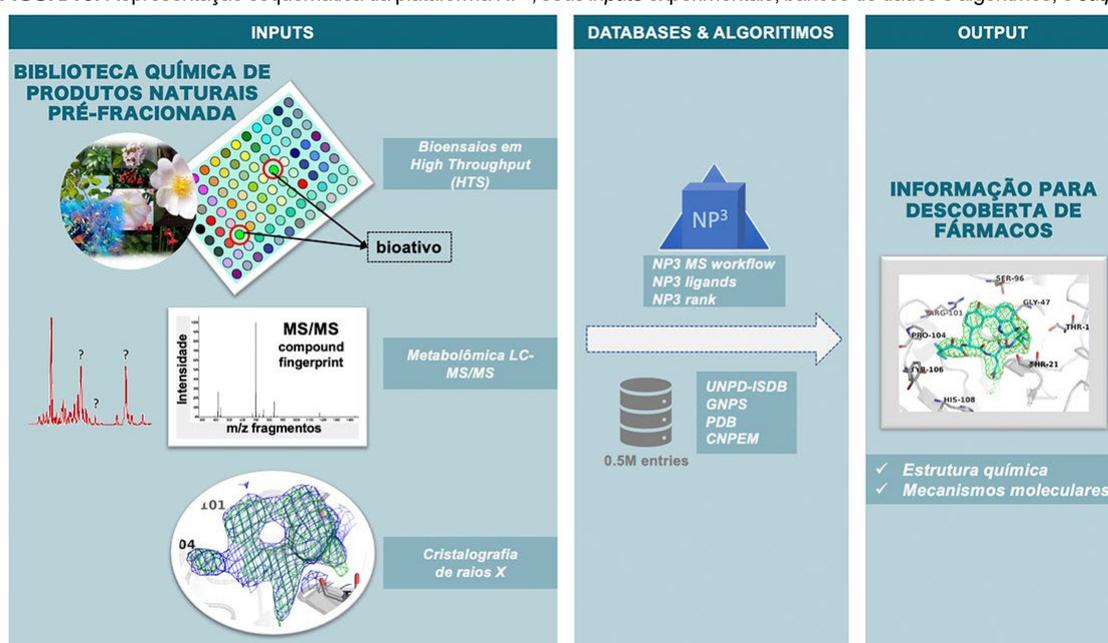
A instrumentação, hoje disponível, permite a avaliação em alto rendimento (*high throughput*) e com alta sensibilidade de alguns parâmetros físico-químicos e biológicos das moléculas naturais, sem a necessidade de isolamento das moléculas e a partir de uma quantidade muito pequena da amostra natural (<μg).

Técnicas como espectrometria de massas, ensaios biológicos em escala de nanolitros e cristalografia de proteínas em larga escala são hoje, realidade e estão disponíveis no Brasil, como o acelerador de partículas Sirius (LNLS-CNPEM, Campinas, SP, Brasil).

Estas técnicas, altamente sensíveis, são complementares e revelam a fórmula molecular, a distribuição espacial e a atividade biológica de moléculas naturais, mesmo que em misturas (forma de como são extraídas dos organismos da biota). Porém, os dados obtidos individualmente são imensos e incompletos. No entanto, aplicando abordagens de mineração de dados e relação ortogonal entre as diferentes informações obtidas por tais técnicas experimentais, é possível convoluir a informação, retornando a composição e a estrutura química da molécula bioativa oriunda da biodiversidade, além de sua conformação e modo de interação com a proteína alvo. Isto retorna as informações desejadas sobre novas moléculas da biodiversidade no contexto de descoberta de fármacos, em poucas etapas experimentais e quantidades ínfimas da amostra da biodiversidade.

A plataforma computacional NP³, que é um conjunto de algoritmos capazes de tratar os 3 dados experimentais e, em comparação com bancos de dados correlacionais, retorna a estrutura química e modos de interação do produto natural bioativo com a proteína alvo (**FIGURA 5**).

FIGURA 5: Representação esquemática da plataforma NP³, seus *inputs* experimentais, bancos de dados e algoritmos, e *output*.



Conhecer a composição das amostras da biota é, portanto, um primeiro desafio. Esta etapa vem sendo facilitada por abordagens de metabolômica baseadas em espectrometria de massas^[16-18]. O escaneamento das amostras da biota por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) provém informação da massa exata, espectro de fragmentação e tempo de retenção cromatográfico como os parâmetros físico-químicos que descrevem cada molécula em uma amostra da biodiversidade. Os seguintes parâmetros são extraídos de análises LC-MS/MS:

1. *massa exata*: fórmula química (composições químicas mais prováveis para uma dada molécula);
2. *espectro de fragmentação*: forma de quebra de uma dada molécula, indicando seus fragmentos mais estáveis (*fingerprint* molecular);
3. *tempo de retenção cromatográfico*: revela a interação da molécula com matriz conhecida; no caso de coluna de fase reversa (C18), indica a polaridade das moléculas e separa isômeros moleculares (mesma fórmula química, porém diferente arranjo espacial, conferindo diferente interação com a matriz cromatográfica).

A partir dos dados LC-MS/MS obtidos pode-se construir base de dados correlacionais anotadas, contendo os espectros MS/MS de produtos naturais conhecidos e desconhecidos. Bases de dados públicas também são disponíveis, como UNPD-ISDB⁴ (~300 mil espectros MS/MS calculados *in silico* a partir de produtos naturais conhecidos e depositados no UNPD) e GNPS⁵ (~10 mil espectros MS/MS experimentais de produtos naturais). O CNPEM também está construindo um banco de dados MS/MS de amostras da biodiversidade (~6 mil amostras naturais, contendo ~50 mil espectros MS/MS) e moléculas sintéticas ou naturais comerciais (~10 mil moléculas isoladas obtidas comercialmente).

Para correlacionar um novo *fingerprint* MS/MS com o base de dados utiliza-se como unidade de correlação um *score* de similaridade (MQScore) entre espectros MS/MS. Alguns algoritmos estão disponíveis para isto, como o desenvolvido no CNPEM e disponível sob licença GNU: NP³ MS workflow (INPI BR512021000074-9) https://github.com/danielatrivella/NP3_MS_Workflow.

Em paralelo às análises químicas das amostras naturais, almeja-se conhecer a bioatividade das amostras naturais e, em particular, qual substância que confere esta atividade biológica. Esta etapa é facilitada pela abordagem NP³, através da avaliação de coleções de produtos naturais pré-fracionadas por HTS (*high throughput screening*), onde milhares de amostras da biodiversidade são avaliadas de uma só vez em ensaio bioquímico ou celular. Como resultado, a cada amostra natural avaliada é retornado um valor de bioatividade, como % de inibição da proteína ou % de efeito em células. Para aferição ainda mais quantitativa da atividade biológica nas diferentes amostras naturais da série cromatográfica presente na biblioteca química pré-fracionada (vide **FIGURA 4**), faz-se curvas de diluição seriada destas amostras, ainda em escala miniaturizada, extraindo-se os valores de potência (IC₅₀ ou EC₅₀, por exemplo) de cada amostra da série bioativa.

Comparando-se a presença de cada *fingerprint* químico LC-MS/MS com os valores de atividade biológica em cada amostra da série cromatográfica, extrai-se o coeficiente de correlação de atividade biológica (BCC: *bioactivity correlation coefficient*) para cada *fingerprint* químico (produto natural), correlacionando a bioatividade observada com a quantidade de cada produto natural detectado por espectrometria de massas em cada amostra da biodiversidade analisada. O BCC é calculado por correlação de Spearman e é realizado automaticamente pelo algoritmo NP³ MS workflow, módulo *biocorrelation*, desenvolvido no CNPEM. Com isto, obtém-se um *ranking* de produtos naturais candidatos a explicar a bioatividade observada nesta série cromatográfica. Ademais, os *fingerprints* químicos são comparados à base de dados de espectros MS/MS, onde pode-se então realizar a anotação de estruturas químicas correspondentes a estes *fingerprints* químicos, iluminando a estrutura química e classes de produtos naturais presentes nas amostras bioativas.

Uma complementação importante da abordagem NP³ é o uso de cristalografia de proteínas no processo de elucidação e proposição do produto natural bioativo em uma dada amostra bioativa da biota. Utilizando o *pipeline* instalado na abordagem NP³ é possível capturar o produto natural bioativo diretamente em cristais da proteína alvo, revelando sua estrutura tridimensional e o sítio de interação com a proteína alvo. O produto natural bioativo, contido na mistura de moléculas naturais desconhecidas da amostra da biota, é diretamente capturado no cristal da proteína alvo por meio da técnica de captura cristalográfica, sem necessidade de isolamento a partir da amostra da biota. A captura cristalográfica consiste em incubar o cristal da proteína com a amostra natural bioativa. Este experimento é realizado em escala de microlitros, consumindo poucos microgramas da amostra natural. Os experimentos de difração de raios X são realizados em estações experimentais, como a linha Manacá do SIRIUS (LNLS-CNPEM), um acelerador de elétrons de última geração, que entrou recentemente em operação no CNPEM, em Campinas-SP. Os dados de cristalografia de proteínas provêm o mapa de densidade eletrônica da proteína, o qual é utilizado para calcular sua estrutura atômica em 3 dimensões. Na abordagem NP³, a densidade eletrônica remanescente revela a presença do produto natural bioativo ligado à proteína, seu sítio e posições atômicas de interação com a proteína alvo (**FIGURA 5**, input cristalografia de proteínas).

Dados ortogonais de espectrometria de massas e cristalografia de proteínas resultam na sugestão da molécula bioativa, seu potencial de inovação e novidade química e biológica (**FIGURA 5**, *output*). A abordagem NP³ utiliza um mínimo da amostra (~100 µg), sem necessidade de isolamento do produto natural, pois as técnicas empregadas, em si, conseguem analisar individualmente os produtos naturais, mesmo que em misturas complexas de amostras da biota. Tão importante quanto à escala reduzida, é a escala de tempo da abordagem NP³, sendo que o procedimento completo pode ser realizado em 1 semana.

Para confirmar a estrutura química e atividade biológica do produto natural sugerido pela abordagem NP³, é válido investir no isolamento desta substância natural. Porém, isto só é realizado para os produtos naturais que de fato se mostrarem inovadores, tanto em relação a estrutura química, quanto ao sítio e modo de interação com o alvo biológico (proteína).

Os estudos confirmatórios e de caracterização adicional do produto natural bioativo selecionado pode requerer muito material de partida (dezenas de gramas do extrato natural) e muito trabalho de laboratório (meses de etapas de separação que requerem solventes orgânicos). Ao mesmo tempo, o trabalho de isolamento do produto natural deve ser acompanhado de reavaliação da atividade biológica das amostras geradas, o que infere uma sincronia de experimentos químicos e biológicos. Na abordagem clássica de descoberta de produtos naturais bioativos, a substância de interesse só é revelada após a conclusão deste longo e laborioso processo. Nestes casos, muitas vezes a molécula não tem potencial de inovação - não é nova, atua por mecanismo de ação indesejado (tóxico ou já com outras moléculas disponíveis no mercado), é de obtenção inviável (por fonte sintética ou natural), ou tem propriedades farmacocinéticas não ideais para prosseguir na cadeia de desenvolvimento. Por isso, é essencial conhecer de antemão quem é o produto natural bioativo da amostra da biota e seu potencial de inovação na área terapêutica de estudo, antes de partir para os esforços de isolamento e caracterização adicional do produto natural bioativo. Esta é a informação essencial que a abordagem NP³ traz, rapidamente e em escala miniaturizada, focando os esforços e dificuldades inerentes à pesquisa em produtos naturais apenas às amostras da biota e produtos naturais com potencial de inovação.

Estratégias de aproveitamento da informação e potencial de inovação

A informação que um complexo cristalográfico alvo: proteína com atividade confirmada oferece é extremamente valiosa para a descoberta e o desenvolvimento de fármacos. Na hipótese de que o produto natural *hit* apresente bom potencial de obtenção da fonte natural, ou por síntese (ou até semi-síntese), estratégias de avaliação de análogos por estudos *in silico* (*docking* e SBDD) podem ser conduzidas. A síntese dos análogos com maior potencial visa melhorar tanto a afinidade pelo alvo, quanto suas propriedades e farmacocinéticas, uma vez que estas são diretamente correlacionadas à estrutura química dos compostos.

Estratégias de aproveitamento da fonte natural para a produção de novos análogos para avaliação biológica, por semi-síntese, podem ser também contempladas. Na hipótese contrária, a síntese total pode ser empregada, porém com limitações inerentes à complexidade dos produtos naturais.

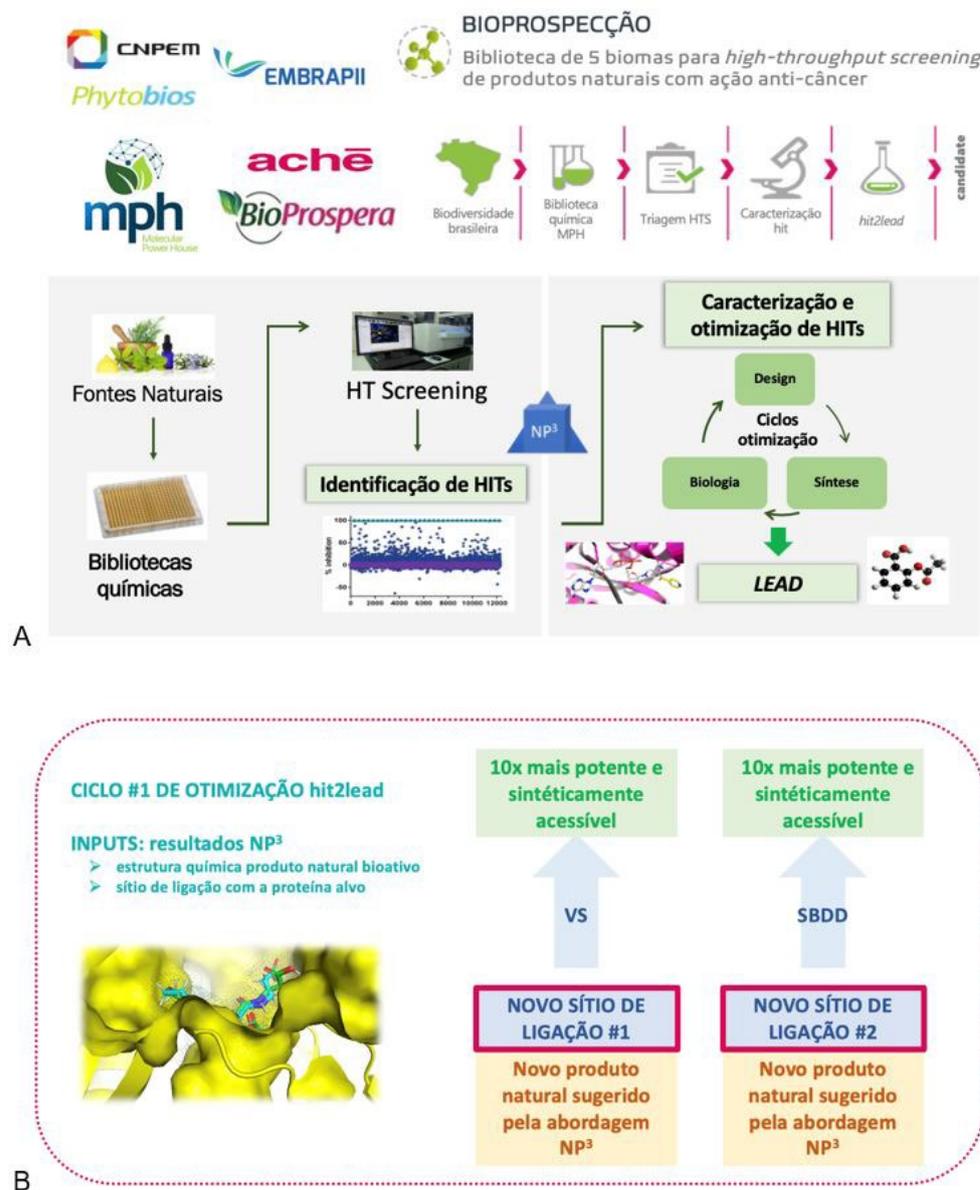
Alternativamente, as características do sítio de ligação da molécula *hit* ainda podem ser aproveitadas para realizar triagens virtuais (por computador) de bibliotecas comerciais, procurando então novos *hits*, desta vez baseados em estruturas químicas mais acessíveis do ponto de vista sintético. Em ambos os casos - derivados do produto natural *hit* ou novas classes químicas - ciclos de otimização podem iniciar, onde cada ciclo aponta quais porções das moléculas proporcionam alta afinidade e/ou parâmetro farmacológico adequado. Estas análises são chamadas de relação estrutura-atividade (SAR, do inglês *structure activity relationship*) e/ou estrutura-propriedade (SPR, do inglês *structure property relationship*). Vale então destacar novamente a importância dos produtos naturais como fonte de inspiração para novos fármacos, sejam eles derivados da estrutura química inicial ou tenham estes sido produzidos *de novo* a partir das informações valiosas fornecidas pelo modo de interação com o alvo biológico envolvido na doença. Um exemplo de aplicação destas estratégias é ilustrado na **FIGURA 6**, a exemplo de projeto de inovação em desenvolvimento em parceria com a Unidade de Inovação Radical do Aché Laboratórios (Guarulhos, SP, Brasil), em alinhamento ao Programa Biosprospera® do Aché [\[19\]](#), sendo co-financiado pela EMBRAPAII (**FIGURA 6A**).

O projeto ilustrado na **FIGURA 6** iniciou da triagem da biblioteca pré-fracionada MPH, passando pela abordagem NP³ para a descoberta de produtos naturais bioativos e novos sítios de ligação na proteína alvo. Duas classes de produtos naturais foram identificadas após a triagem da biblioteca MPH. Os estudos cristalográficos mostraram a ligação destes produtos naturais em dois sítios distintos da proteína alvo (sítio #1 e sítio #2) - **FIGURA 6B**. Estes achados são inéditos, relacionando novos sítios e modos de ligação de pequenas moléculas com a proteína alvo, assim como novas classes químicas de ligantes desta proteína.

As informações estruturais obtidas para sítio de ligação #1 foram empregadas para triagem virtual de moléculas comerciais, visando melhorar as propriedades físico-químicas do produto natural *hit* e sua potência de ligação ao alvo. Foi encontrada uma molécula com boas propriedades de fármaco e fácil obtenção sintética, e que ainda demonstrou melhora de potência ao alvo isolado e células modelos em 10 vezes.

Para o sítio #2, as informações estruturais foram utilizadas para desenhar racionalmente novas moléculas da mesma classe química, porém com propriedades físico-químicas superiores e maior potência de inibição da proteína e das células alvo. Ambos os parâmetros foram otimizados em relação ao produto natural que inspirou a série química. Mais importante, o sítio de ligação desta nova classe de produtos naturais a este alvo terapêutico mostra um novo mecanismo de regulação alostérica do alvo, sendo totalmente inovador.

FIGURA 6: Bioprospecção da biblioteca MPH e desenvolvimento de *leads* a partir de informação estrutural e de bioatividade de produtos naturais.



Legenda: **(A)** Representação esquemática do projeto. **(B)** Exemplo de uso da informação obtida a partir de produtos naturais e aplicação da abordagem NP³ para inspirar o desenvolvimento de novos *leads*. VS: *virtual screening*, SBDD: *structure-based drug design*.

A colaboração com o Aché Laboratórios, que possui um programa específico para pesquisa e desenvolvimento de produtos naturais, denominado Bioprospera[®] [19], tem permitido o desenvolvimento de uma abordagem translacional para a biblioteca MPH, por meio do planejamento racional de fármacos a partir de hits identificados na biblioteca MPH visando identificar inibidores potentes, seletivos e com boas propriedades farmacocinéticas para os alvos de interesse. Além disso, a definição do “Perfil de Produto Alvo” para os candidatos à fármaco, em conexão ao desenho de ensaios e métodos de *screening* focados em avaliar o potencial desses candidatos, tem guiado a identificação de moléculas que possam ser utilizadas no contexto da refratariedade de tumores às terapias atuais, ou mesmo na avaliação do potencial sinérgico dessas moléculas com as terapias vigentes.

Reabastecimento (*resupply*) de compostos hits e a importância da rastreabilidade

No entanto, nem sempre a informação obtida em escala miniaturizada pode ser diretamente utilizada para inspirar novos *leads* e, muitas vezes, o produto natural em si já representa uma molécula otimizada para avançar na cadeia de desenvolvimento de novos fármacos. Faz-se então necessário o reabastecimento (*resupply*) de extratos, o que também é contemplado na abordagem MPH.

O *resupply* dos extratos selecionados nas etapas miniaturizadas do projeto é necessário para etapas de confirmações da estrutura química e bioatividade da descoberta. Esta etapa de confirmação requer gramas dos extratos para o isolamento de miligramas do produto natural isolado. Já nos casos em que produto natural *per se* será avançado para as etapas de identificação do alvo (em caso de prospecção a partir de ensaios fenotípicos), estudos em células e testes em animais, é necessário obter gramas do produto natural isolado, requerendo, em geral, quilos dos extratos.

Na plataforma MPH, a questão do *resupply* é mapeada já na etapa das expedições de campo iniciais. Isto ocorre por meio de um procedimento de coleta padronizado (vide material suplementar), que reúne ferramentas de rastreabilidade incluindo, entre outros, o registro preciso do local e condições climáticas da coleta e identificação assertiva da espécie botânica coletada. Este procedimento de coleta, aliado ao registro da assinatura química das amostras por espectrometria de massas, resulta em uma robusta base de dados das expedições e espécimes, que são fundamentais para garantir a rastreabilidade das amostras e compostos bioativos, bem como do reabastecimento de extratos selecionados ao longo do projeto.

Vale também comentar que, apesar de todo esforço de rastreabilidade, fatores externos como queimadas, mudanças climáticas, negociações de áreas podem continuar sendo fatores de risco para o *resupply*. O gerenciamento destes riscos traz retornos do ponto de vista do potencial de novidade para estruturas moleculares inéditas nos biomas brasileiros. Em adição, a robusta base de dados constituída desde a primeira coleta da espécie permite, além de localizar a espécie em seu local original de coleta, encontrar localizações adicionais alternativas, ou ainda, ampliar a fonte do produto natural de interesse para espécies relacionadas por quimiotaxonomia. Contudo, estas são algumas das abordagens empregadas na Plataforma MPH para contornar os principais riscos inerentes ao *resupply* de produtos naturais.

Por fim, a capacidade de adquirir quantidades suficientes dos produtos naturais bioativos para fases posteriores do desenvolvimento, como a pré-clínica, está melhorando. Porém, ainda existem desafios que requerem otimização e processos individualizados para extração e isolamento do produto natural bioativo em escala. A plataforma MPH expande alternativas para o escalonamento da produção de insumos naturais, visando resolver os problemas do reabastecimento, mesmo considerando as particularidades dos diferentes extratos vegetais e a escala de quilogramas necessária para as etapas finais da fase de Descoberta. A Phytobios instalou um laboratório no Piauí para preparação de extratos em escala de bancada. Mais recentemente, conta com um laboratório construído no âmbito do Grupo Centroflora em Campinas-SP, para aumento da escala da produção customizada dos extratos em escala piloto de gramas e quilogramas.

Cadeias produtivas sustentáveis

Já na escala de produção industrial do IFA, a Centroflora, indústria nacional da qual a Phytobios é vinculada, também prospecta a formação de cadeias produtivas sustentáveis como uma abordagem importante tanto para fornecimento do insumo natural quanto para o desenvolvimento econômico das regiões ricas em biodiversidade

através da bioeconomia. Um exemplo de uma molécula comercial obtida a partir de esforços em torno de uma cadeia de suprimentos sustentável é a pilocarpina do Jaborandi. Quando é possível utilizar a molécula isolada para semi-síntese de ingredientes farmacêuticos ativos, o impacto socioambiental pode ser de grande relevância. O mercado de jaborandi tem desempenhado importante papel econômico criando oportunidades de emprego e proporcionando uma renda importante conectando coletores à indústria farmacêutica.

Estima-se que o extrativismo do jaborandi correspondeu à maior receita para milhares de famílias do Nordeste/Norte brasileiro durante o pico de extração (1970-1980) no Maranhão e no Pará. Apesar das flutuações de mercado e da redução nas áreas onde ocorre naturalmente, o jaborandi ainda é coletado, principalmente em áreas silvestres. No geral, essas atividades permanecem economicamente viáveis porque o preço da pilocarpina sofreu um aumento significativo (até 36%) nas últimas duas décadas, quando a capacidade de oferta de pilocarpina diminuiu enquanto sua demanda não^[20]. Além disso, a pilocarpina é atualmente o oitavo ingrediente farmacêutico mais exportado do Brasil, alcançando cerca de US\$ 6,8 milhões ano^[21]. Entre as estratégias para preservar a sustentabilidade desta cadeia produtiva está aumentando o número de áreas cultivadas e estabelecimento de reservas naturais para manter diversidade genética e viabilidade populacional^[22].

A experiência adquirida no Brasil, com estas cadeias produtivas, abre portas para o estabelecimento de novas cadeias produtivas voltadas às plantas com novas ações medicinais, as quais começam a serem descobertas através da abordagem tecnológica e integrada para a descoberta de novos fármacos a partir de produtos naturais descrita aqui. Isto permitirá o estabelecimento de novos 'cultivares', produção agroecológica ou extrativismo sustentável, tendo impactos no desenvolvimento socioambiental do Brasil bem como para a inovação farmacêutica no país.

Conclusão

Os recentes desenvolvimentos científicos, avanços tecnológicos e tendências de pesquisa apresentados indicam claramente que os produtos naturais continuarão entre as fontes mais importantes de novos medicamentos também no futuro. O estabelecimento de plataformas integradas, como a plataforma MPH, é de fundamental importância para avançar na pesquisa e inovação farmacêutica a partir de produtos naturais, embasando também o estabelecimento de cadeias sustentáveis. Estas atividades e perspectivas têm impacto direto no desenvolvimento científico e econômico, na inovação e na sustentabilidade dos biomas brasileiros, através da bioeconomia direcionada pela inovação farmacêutica. Apesar do alto investimento necessário e dos riscos inerentes à etapa de Descoberta de novos fármacos, a busca por solução para doenças que não tem cura (necessidades médicas não atendidas) é incessante. A natureza pode trazer respostas e também gerar retorno sobre os investimentos realizados. A junção de tecnologias de ponta em uma abordagem integrada à maior biodiversidade do planeta traz para o Brasil a oportunidade de figurar no cenário mundial de descoberta de novos fármacos.

Agradecimentos

Esta pesquisa usou os laboratórios do Laboratório Nacional de Biociências (LNBio) e do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), que são parte do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), uma organização social supervisionada pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI).

DBBT também agradece ao Instituto Serrapilheira (projeto número: Serra-1709-19681) e a Empresa Brasileira de Apoio à Pesquisa e Inovação Industrial (EMBRAPII, projeto número: PC NP 1708.0006) pelo apoio financeiro.

Referências

1. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **J Nat Prod.** 2020; 83: 770-803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
2. Cremonesi GS, Liu J, Waldmann H. Guided by evolution: from biology oriented synthesis to pseudo natural products. **Nat Prod Rep.** 2020; 37: 1497-1510. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
3. Bruder M, Polo G, Trivella DBB. Natural allosteric modulators and their biological targets: molecular signatures and mechanisms. **Nat Prod Rep.** 2020; 37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
4. Allard PM, Péresse T, Bisson J, Gindro K, Marcourt L, Pham VC *et al*. Integration of molecular networking and in-silico MS/MS fragmentation for natural products dereplication. **Anal Chem.** 2016; 88: 3317-3323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
5. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR *et al*. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. **Nucleic Acids Res.** 2018; 46: D1074-D1082. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
6. Lu S, He X, Ni D, Zhang J. Allosteric modulator discovery: from serendipity to structure-based design. **J Med Chem.** 2019; 62: 6405-6421. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
7. Flemming A. Allosteric phosphatase inhibitor puts brake on cancer cells. **Nat Rev Drug Discov.** 2016; 15: 530-531. [[Link](#)].
8. Drag M, Salvesen GS. Emerging principles in protease-based drug discovery. **Nat Rev Drug Discov.** 2010; 9: 690-701. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
9. Ni D, Lu S, Zhang J. Emerging roles of allosteric modulators in the regulation of protein-protein interactions (PPIs): a new paradigm for PPI drug discovery. **Med Res Rev.** 2019; 39: 2314-2342. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
10. Coughlin Q, Hopper AT, Blanco M-J, Tirunagaru V, Robichaud AJ, Doller D. Allosteric modalities for membrane-bound receptors: insights from drug hunting for brain diseases. **J Med Chem.** 2019; 62: 5979-6002. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
11. Liu X, Lu S, Song K, Shen Q, Ni D, Li Q *et al*. Unraveling allosteric landscapes of allosterome with ASD. **Nucleic Acids Res.** 2020; 48: D394-D401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
12. Nussinov R, Tsai CJ. Allostery in disease and in drug discovery. **Cell.** 2013; 153: 293-305. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
13. Mushtaq S, Abbasi BH, Uzair B, Abbasi R. Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. **EXCLI J.** 2018; 17: 420-451. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
14. Wouters OJ, McKee M, Luyten J. Estimated research and development investment needed to bring a new medicine to market, 2009-2018. **JAMA.** 2020; 323: 844. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
15. Thornburg CC, Britt JR, Evans JR, Akee RK, Whitt JA, Trinh SK *et al*. NCI Program for natural product discovery: a publicly-accessible library of natural product fractions for high-throughput screening. **ACS Chem Biol.** 2018; 13: 2484-2497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

16. de Felício R, Ballone P, Bazzano CF, Alves LFG, Sigrist R, Infante GP *et al*. Chemical Elicitors Induce Rare Bioactive Secondary Metabolites in Deep-Sea Bacteria under Laboratory Conditions. **Metabolites**. 2021; 11: 107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
17. Wang M, Carver JJ, Phelan VV, Sanchez LM, Garg N, Peng Y *et al*. Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. **Nat Biotechnol**. 2016; 34: 828-837. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
18. Trivella DBB, De Felício R. The tripod for bacterial natural product discovery: Genome mining, silent pathway induction, and mass spectrometry-based molecular networking. **mSystems**. 2018; 3. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
19. Aché Laboratories. **Report 2020**. 2020. [[Link](#)]
20. Brasil. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão – MPOG. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. **Produção da extração vegetal e da silvicultura**. 2014; 29:1-56. ISBN 0103-8435. [[Link](#)].
21. Grabher C. **A governança e a sustentabilidade do extrativismo do jaborandi na Amazônia e transição para o Cerrado e a Caatinga**. Porto Alegre. 2015. Dissertação de Mestrado. [Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural] - Faculdade de Ciências Econômicas. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre. 2015. [[Link](#)].
22. Caldeira CF, Giannini TC, Ramos SJ, Vasconcelos S, Mitre SK, Pires JP *et al*. Sustainability of Jaborandi in the eastern Brazilian Amazon. *Perspect. Perspect Ecol Conserv*. 2017; 15: 161-171. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 30/09/2021 | **Aceite:** 01/11/2021 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Trivella DBB, Bruder MCP, Oliveira FCB, Porcaro R *et al*. Descoberta de fármacos a partir de produtos naturais e a abordagem Molecular Power House (MPH). **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 176-192. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1346>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



O potencial fitoterapêutico da *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Rubiaceae: monitoramento científico e tecnológico

The phytotherapeutic potential of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Rubiaceae: scientific and technological monitoring

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.926>

Simões, Evelyne Rolim Braun¹; Machado, Rejane Ramos²; Pessoa, Claudia do Ó¹; Marques, Lana Grasiela Alves^{3*}.

¹Universidade Federal do Ceará (UFC), Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Rua Coronel Nunes de Melo, 1127, Rodolfo Teófilo, CEP 60431-970, CEP 60430-270, Fortaleza, CE, Brasil.

²Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde (ICT), Departamento de Estudos em Ciência e Tecnologia. Avenida Brasil, 4365, Pavilhão Haity Moussachet, 2º andar, Manguinhos, CEP 21045-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³Universidade Federal do Ceará (UFC), Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais, Rua José Aurélio Câmara s/n, Campus do Pici (Bloco 873), CEP 60440-970, Fortaleza, CE, Brasil.

*Correspondência: lanagrasiela@gmail.com.

Resumo

As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de drogas, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matérias-primas para a síntese, ou modelos para compostos farmacologicamente ativos. O artigo propõe um estudo da informação científica e tecnológica da planta medicinal indicada pelo Ministério da Saúde a *Uncaria tomentosa*, visando o desenvolvimento de fitoterápicos. Para tanto, foram utilizados os bancos de dados da Web of Science e do Derwent Innovations Index. Nas análises foi possível observar o crescente volume dos estudos científicos realizados no mundo e no Brasil com a planta. As primeiras publicações iniciaram no ano 1984, e o pico ocorreu no ano 2005. Devendo destacar o Brasil como o responsável pelo maior volume em publicações. Por outro lado, os países que mais depositaram patentes foram os Estados Unidos, China e Japão. Desse modo, é possível afirmar o potencial tecnológico, para o desenvolvimento como fitoterápico da planta *Uncaria tomentosa* a ser incorporado pelas indústrias farmacêuticas públicas e distribuído no sistema SUS.

Palavras-chave: *Uncaria tomentosa*. Plantas medicinais. SUS. Artigos. Patentes.

Abstract

Medicinal plants are important for pharmacological research and drug development, not only when their constituents are used directly as therapeutic agents, but also as raw materials for synthesis, or models for

pharmacologically active compounds. The article proposes a study of the scientific and technological information of the medicinal plant indicated by the Ministry of Health to *Uncaria tomentosa*, aiming at the development of herbal medicines. For this, the Web of Science and Derwent Innovations Index databases were used. In the analyzes it was possible to observe the growing volume of scientific studies carried out in the world and in Brazil with the plant. The first publications began in the year 1984 and the peak occurred in the year 2005. It should highlight Brazil as responsible for the largest volume in publications. On the other hand, the countries that patent deposited were the United States, China and Japan. Thus, it is possible to affirm the technological potential for the development as herbal medicine of the *Uncaria tomentosa* plant to be incorporated by the public pharmaceutical industries and distributed in the SUS system.

Keywords: *Uncaria tomentosa*. Medicinal plants. SUS. Articles. Patents.

Introdução

A Organização Mundial de Saúde (OMS) reconhece que grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para sua atenção primária, tendo em vista que 80% da população mundial utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde. Vale ressaltar que, 85% dessa população utilizam plantas ou preparações destas^[1].

Desse modo, as plantas medicinais continuam sendo importantes fontes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de novas drogas, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas, também, como matérias-primas para o desenvolvimento de síntese, ou como estrutura modelos para compostos farmacologicamente ativos^[1]. Tem sido estimado que, aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, assim subdivididos: 25% de plantas, 12% de microrganismos e 3% de animais^[2]. De acordo com a WHO^[1] existem 549 medicamentos fitoterápicos registrados. No final de 2016, 56 fitoterápicos foram incluídos na Lista Nacional de Medicamentos Essenciais. Mais 300 estão em processo de avaliação^[3].

Nesse sentido o consumo de fitoterápicos, vem crescendo na população europeia cerca de 80% e, enquanto na Ásia, esse percentual é acima de 40%^[4]. Por outro lado, de acordo com Terra Junior *et al.*^[5], no Brasil esse crescimento vem sendo registrado nos últimos anos, estimando que pelo menos 10% das pessoas consomem esse tipo de produto. Esse crescimento lento tem sido baseado pela baixa credibilidade nos fitoterápicos e, conseqüente pouca adesão pelos médicos e população^[6].

A *Uncaria tomentosa* está entre as plantas medicinais aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), é endêmica nas florestas tropicais da América do Sul e Central. Encontrada principalmente em determinada região dos Andes, no Peru, local com muita luz e com altitude entre os 600 e 800 metros^[7]. Entretanto, pode ser encontrada em outras regiões da floresta Amazônica e outras áreas tropicais das Américas Central e do Sul^[8-9].

A *Uncaria tomentosa* é popularmente conhecida por unha de gato^[10-12] e em casos especiais^[13]. Além disso, é conhecida como trepadora gigante^[14]. Suas folhas são perenes e flores amarelas esbranquiçadas, pequenas^[9] e surgem nos meses de outubro e novembro (**FIGURA 1**). O fruto é bivalvo medindo até 9 mm de comprimento^[15].

FIGURA 1 - Conjunto de Flores da *Uncaria tomentosa*.



Fonte: Discoverlife Org. (© Copyright Smithsonian Tropical Research Institute, 2003-2006)

Dentre as atividades farmacológicas mais relatadas para *Uncaria tomentosa* estão as atividades imunoestimulante, neuroprotetora, antitumoral e anti-inflamatória, atribuídas aos polifenóis e, principalmente, aos alcaloides^[14]. De modo contrário, a fração triterpênica ainda tem sido pouco explorada do ponto de vista biológico e tecnológico.

Em contraste com o aprofundamento constatado nas áreas química e farmacológica^[9,15,16], em que os esforços tecnológicos de desenvolvimento de produtos derivados de *Uncaria tomentosa* são incipientes. A abordagem dos relatos científicos são os prévios estudos biológicos e farmacológicos para cascas de *Uncaria tomentosa* tendo por fundamento o uso de extratos brutos ou substâncias isoladas^[8,17,9,18,16,19,20].

A *Uncaria tomentosa* foi escolhida para realização do presente trabalho, e descrever o conhecimento sobre a espécie, através da prospecção biotecnológica. A fim de sugerir um planejamento estratégico da planta, foi realizado levantamento das publicações científicas, bem como depósitos de patentes, objetivando identificar os estudos existentes e direcionar o desenvolvimento dos potenciais produtos farmacológicos.

Material e Método

A busca científica e tecnológica é um processo baseado em estratégias que procuram recuperar um conjunto de publicações de artigos científicos e nas patentes representativos da área de interesse da pesquisa, para o período de tempo desejado. Esse estudo foi realizado, considerando todos os anos disponíveis nas bases escolhidas, até dezembro de 2018. No caso específico de patentes, é de se esperar que nos dezoito últimos meses, o número apresentado seja menor do que a realidade, visto que muitos depósitos ainda se encontram no período de sigilo.

O reflexo do grande número de plantas conhecidas como unha de gato, é observado nos mercados de rua do Peru, bem como nos produtos vendidos com esse nome ^[13]. Também é comum encontrar no mercado a mistura das duas espécies sob o nome de unha de gato, visto que a *Uncaria guianensis* cresce em

altitudes mais baixas e as cascas das duas espécies são semelhantes. Dessa forma, o escopo da estratégia de busca se resumiu ao termo: "*Uncaria tomentosa*".

Para o estudo das publicações científicas foi realizado na base da *Web of Science* da *I. S. I. Web of Knowledge* que compreende apenas revistas indexadas com corpo de referees qualificados. Dessa forma, bases de dados de literatura científica que incluíam publicações sem avaliações de mérito e novidade, tais como publicações em homepages e publicações em congressos, foram evitadas.

A base de dados para busca de patentes utilizada neste artigo foi a *Derwent Innovations Index* (DII), produzida pela *Thompson Scientific*. Cabe ressaltar que as patentes são usadas como indicadores do resultado das atividades de invenção. O número das patentes concedido à determinada empresa ou país é considerado o reflexo de seu vigor tecnológico.

Depois de executar a estratégia de busca na base de dados, foi realizada a mineração e, em seguida o tratamento de dados. Um estágio clássico no tratamento de dados é a limpeza dos nomes de autores, inventores e nomes de instituições criando um *list cleanup*. Estes foram unidos, retirando os documentos que porventura estivessem presentes em mais de um subconjunto, eliminando assim possíveis duplicatas durante a análise dos dados por meio dos resultados na forma de figuras. Nesse trabalho, foi utilizada a licença do *Software VantagePoint®*, que oferece ferramentas para mineração de dados e correlação de conjuntos significativos de dados textuais estruturados.

Resultados e Discussão

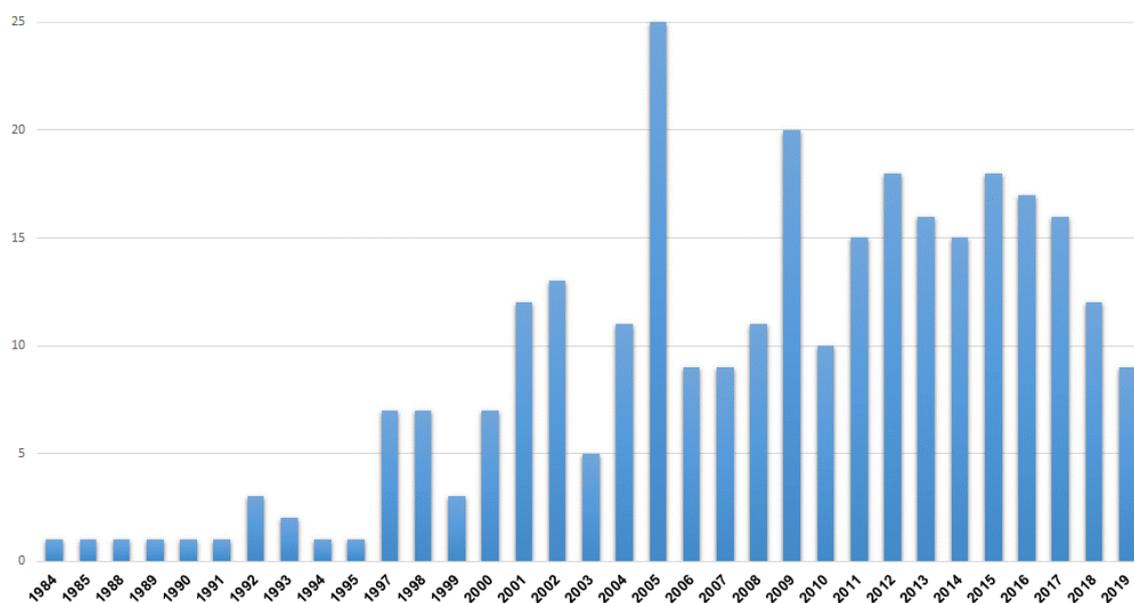
A busca foi realizada na *Web of Science*, com o termo "*Uncaria tomentosa*". Foram extraídos 298 documentos da base de dados, e posteriormente foi realizado o processo de limpeza, que foi baseado nas repetições de dados brutos. É possível verificar na evolução no volume de publicações com o decorrer do tempo (**FIGURA 2**).

A primeira publicação de acordo com dados da *Web of Science* é de 1984 da Áustria da Universidade de Graz que possui o título: *Karyosystematik von Uncaria tomentosa und U. guianensis* (Rubiaceae — Cinchoneae). Uma das publicações brasileira, de 2005, ano de maior pico em publicações de artigos científicos, apresenta o título: *Involvement of 5-HT₂ receptors in the antinociceptive effect of Uncaria tomentosa*, da Universidade Federal de Santa Catarina, estudou a atividade antinociceptiva em testes químicos e térmicos em camundongos, e considerou como uma planta rica em alcaloides, com ação no envolvimento de mecanismos serotoninérgicos nessa atividade.

Entre os anos 1984 a 1997, no Brasil, havia poucas publicações de impacto indexadas na *Web of Science* relacionada a *Uncaria tomentosa*. Somente a partir do ano 2005 é possível observar o interesse dos pesquisadores por essa planta, enquanto o mundo já vinha pesquisando de maneira crescente.

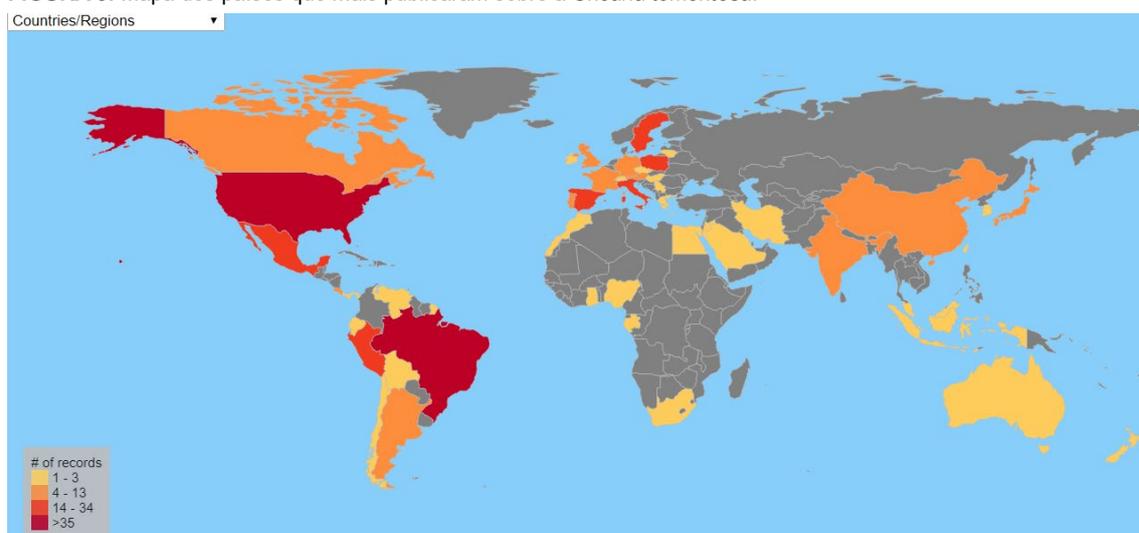
A *Uncaria tomentosa* vem sendo estudada em vários países. No mapa do mundo pode se observar os resultados de publicações na *Web of Science* com o termo *Uncaria tomentosa versus países* (**FIGURA 3**). As cores mais intensas demonstram o maior número de publicações.

FIGURA 2: Evolução anual cumulativa de artigos publicados sobre a planta *Uncaria tomentosa*.



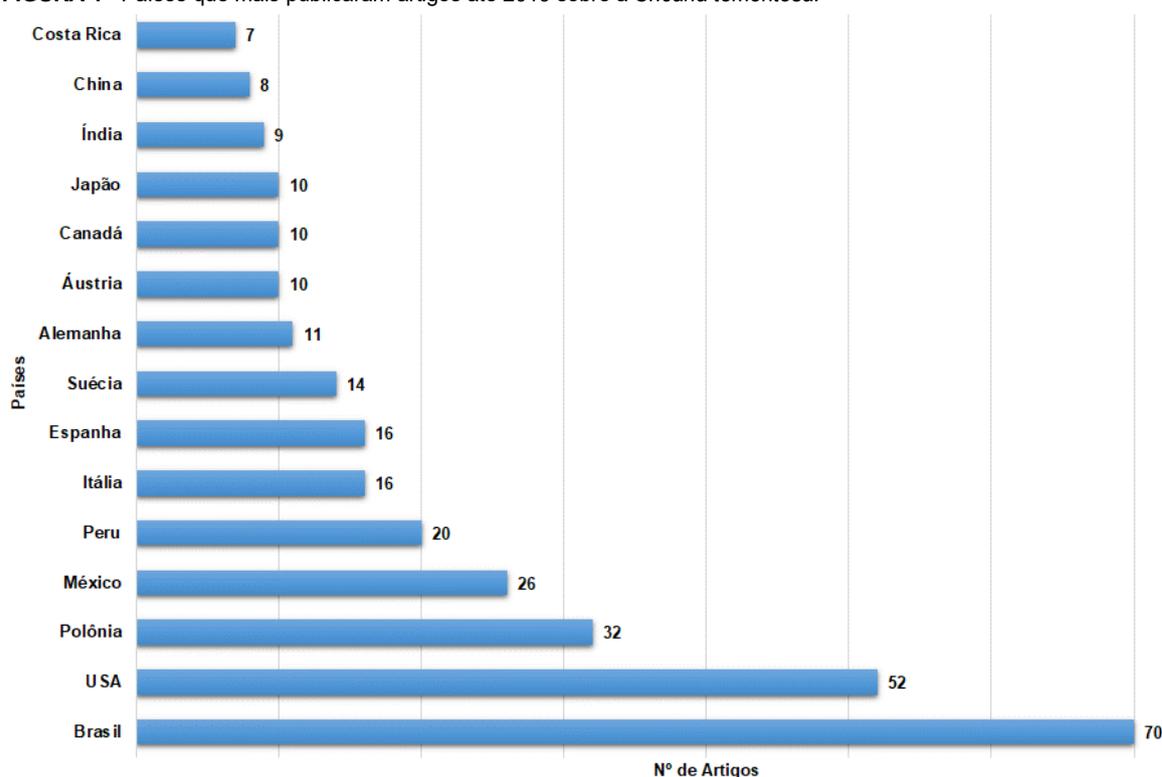
Fonte: elaborado pelos autores a partir de levantamento efetuado na *Web of Science*.

FIGURA 3: Mapa dos países que mais publicaram sobre a *Uncaria tomentosa*.



O Brasil ocupa o topo do *ranking* em número de publicações envolvendo a *Uncaria tomentosa*, com um total de 70 artigos científicos, seguido dos Estados Unidos que contam com 52 artigos publicados (**FIGURA 4**). Este resultado difere quando comparado com o número de patentes depositado por país, onde o Brasil se posicionou na oitava posição com apenas 6 patentes.

FIGURA 4 - Países que mais publicaram artigos até 2019 sobre a *Uncaria tomentosa*.



As instituições que mais se destacaram no que diz respeito à publicação de artigos relacionados à *Uncaria tomentosa* estão listadas na **FIGURA 5**. Os pesquisadores que mais publicam sobre o tema em estudo, com 16 publicações, encontram-se no Instituto Politécnico Nacional (México). Em segundo lugar temos a Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Brasil), a Polish Academy of Sciences (Polônia) e a Warsaw University (Polônia), com 15 documentos publicados, cada uma das instituições.

Observa-se que as 08 instituições brasileiras que publicaram o maior número de artigos sobre *Uncaria tomentosa* estão localizadas nas regiões Sul e Sudeste do país, provavelmente devido às colaborações entre si, bem como parceria com empresa brasileira da região. Foi possível identificar que três empresas se destacam como as instituições com 4 ou mais de publicações, uma polonesa, uma austríaca e outra brasileira (**FIGURA 5**).

Os assuntos relatados nos artigos compreendem essencialmente a cadeia produtiva de fitoterápicos, ou seja, a comprovação de suas atividades farmacológicas, a extração e identificação química dos fitocompostos (**FIGURA 6**) responsáveis por suas propriedades (**FIGURA 7**), a realização de estudos pré-clínicos e finalmente os estudos clínicos (**FIGURA 8**).

Nos estudos de caracterização dos metabólitos secundários, é possível identificar que as cascas do caule, principal parte da espécie, são relatadas a presença de três grupos de compostos majoritários e quimicamente distintos: os alcaloides, heterosídeos triterpênicos derivados do ácido quinóico e polifenóis, representados majoritariamente pelos taninos condensados (**FIGURA 6**). Dentre as substâncias mais estudadas, quer pelas várias atividades biológicas que lhe são atribuídas ou pela quantidade da mesma quando comparada a outras espécies do gênero, destaca-se os alcaloides.

FIGURA 5: Principais instituições com publicações sobre *Uncaria tomentosa*.

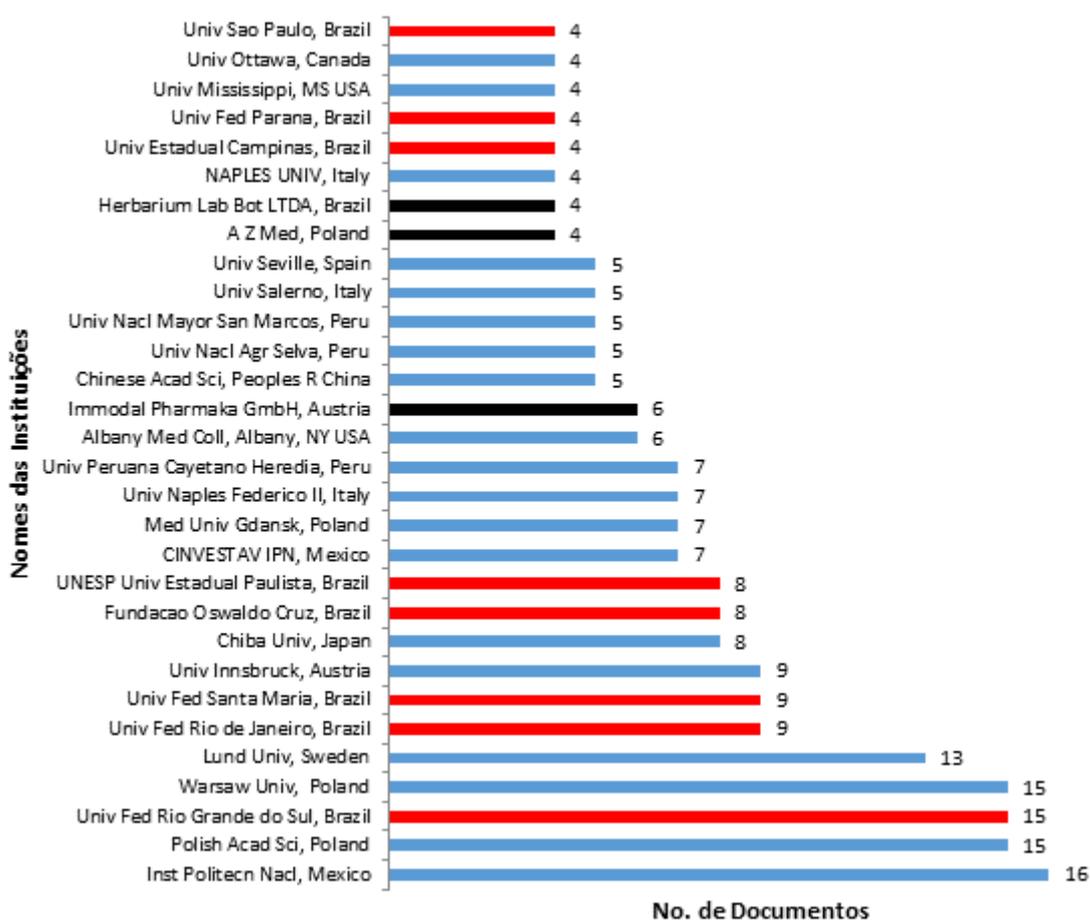
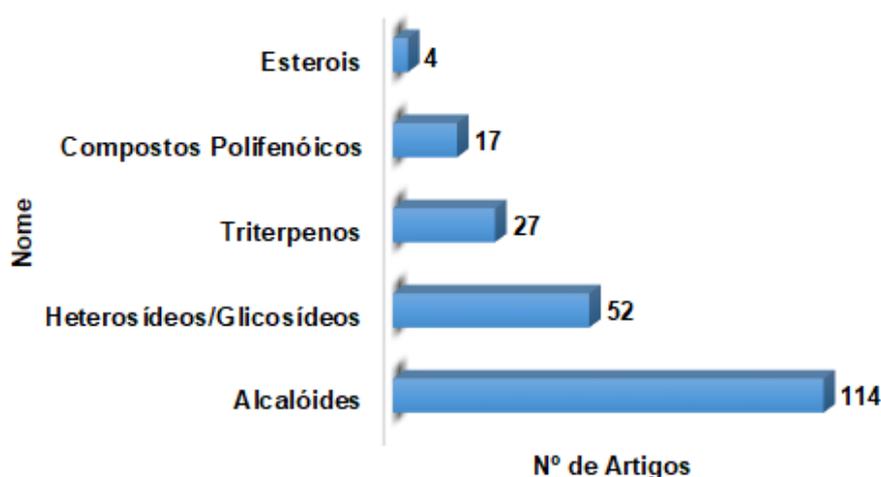


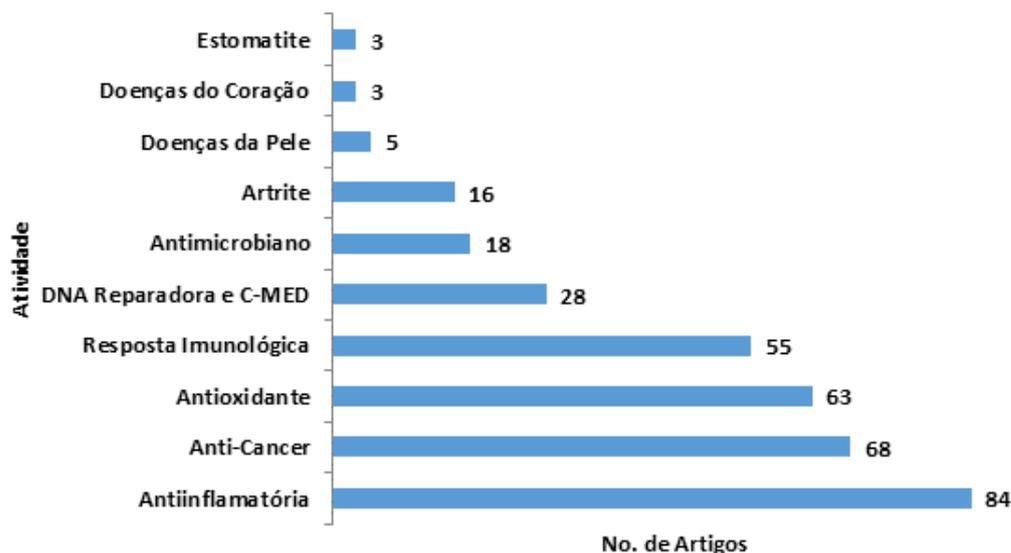
FIGURA 6: Estudos relativos a compostos fitoquímicos da *Uncaria tomentosa*.



Dentre as atividades farmacológicas pesquisadas na literatura, as mais relatadas para *Uncaria tomentosa* são as propriedades imunestimulante, neuroprotetora, antitumoral e anti-inflamatória, atribuídas aos polifenóis e, principalmente, aos alcalóides (FIGURA 7). De modo contrário, a fração triterpênica ainda tem

sido pouco explorada do ponto de vista biológico e tecnológico. Entretanto, com relação aos triterpenos presentes na *Uncaria tomentosa* estão, em sua maioria, saponinas derivadas do ácido quinóico com uma ou duas cadeias glicosiladas ligadas ao núcleo triterpênico.

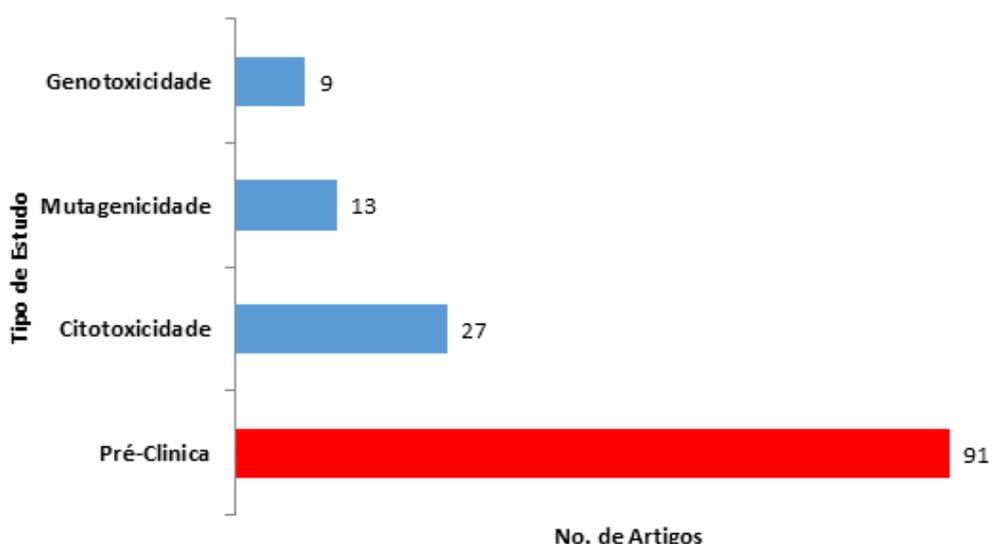
FIGURA 7: Propriedades farmacológicas da *Uncaria tomentosa* citadas nos estudos.



Fonte: elaborado pelo autor a partir de levantamento efetuado na *Web of Science*.

Das 298 publicações sobre *Uncaria tomentosa*, 91 artigos relataram estudos relativos a ensaios pré-clínicos de toxicidade. Os testes da citotoxicidade foram onde mais se encontrou publicações com 27 ocorrências e genotoxicidade (09 ocorrências) nas principais frações estudos (**FIGURA 8**).

FIGURA 8: Estudos relativos a ensaios pré-clínicos de toxicidade da *Uncaria tomentosa*.

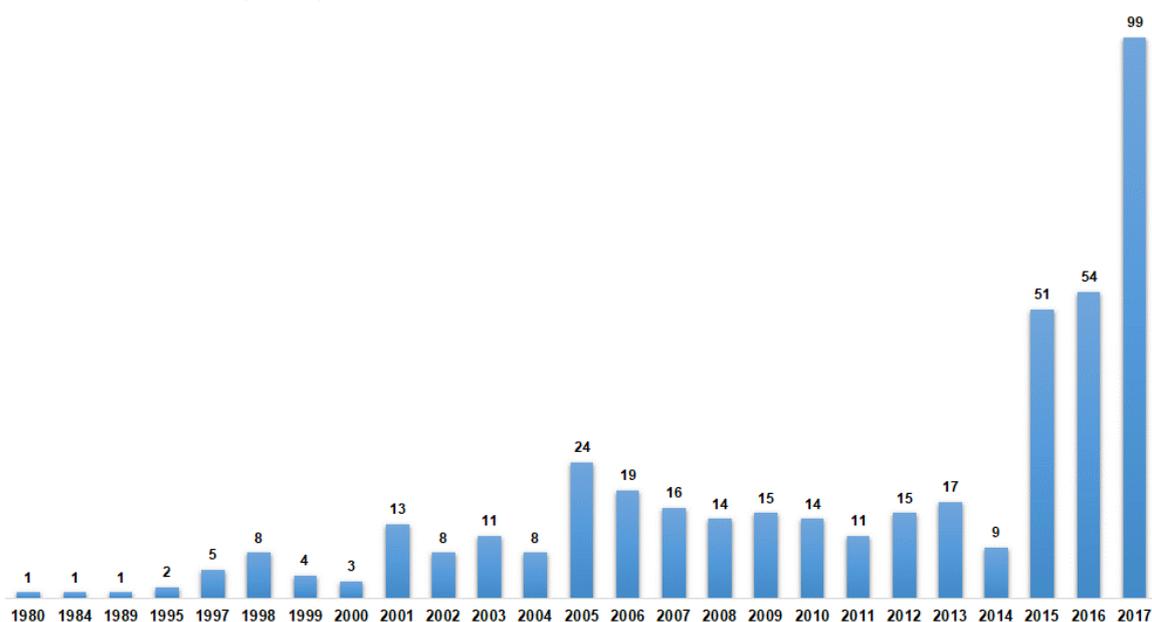


Na avaliação do número de patentes no decorrer do tempo, é recomendado utilizar o ano de depósito das patentes. Ou seja, este é o indicador que fornece uma visão um pouco mais precisa de quando a pesquisa

ocorreu, para medir a atividade de patenteamento. Esse indicador também anula a desigualdade dos diferentes tempos de publicação entre os escritórios de patentes dos vários países. Neste estudo, é colocado os depósitos de patentes ao longo do período de 1980 a 2017.

Observa-se que após o ano 2000 ocorreu um aumento significativo dos depósitos, principalmente no período 2001, ocorrendo um pico com 13 depósitos de patentes. A partir do ano de 2015 ocorreu um avanço de maior crescimento tecnológico, seguido do período 2016-2017. Desde modo, em decorrência do elevado número de depósitos de patentes relacionados à *Uncaria tomentosa* pode se inferir que é um tema que continua sendo alvo de proteção patentária.

FIGURA 9: Número de depósitos por ano com a *Uncaria tomentosa*.

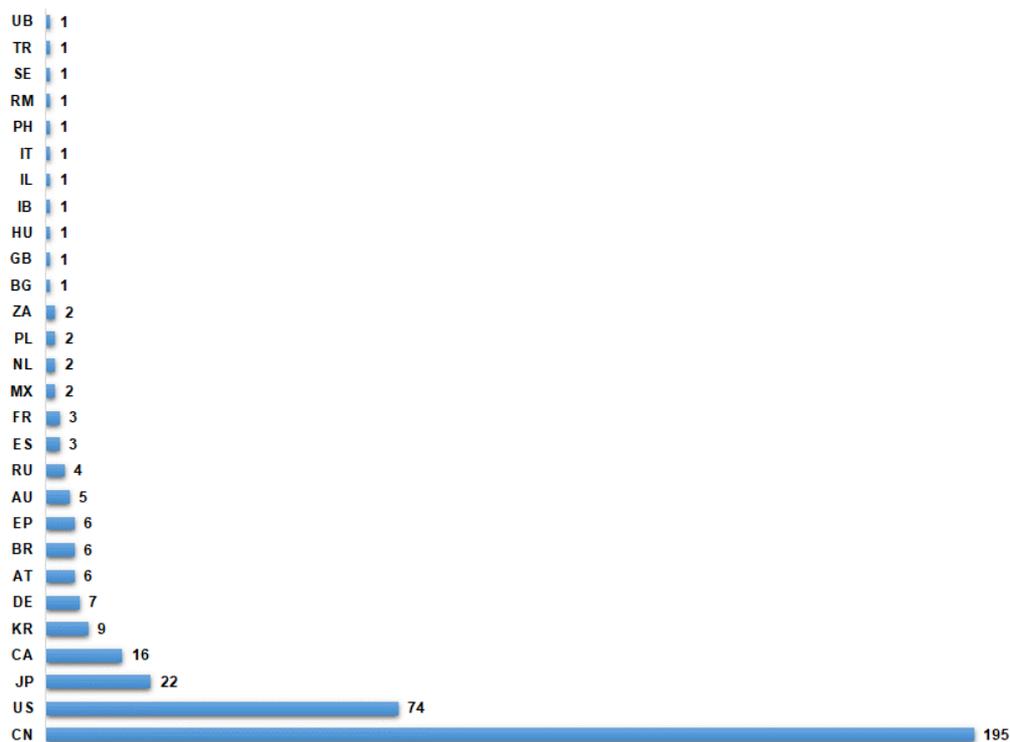


Fonte: elaborado pelo autor a partir de levantamento efetuado no *Derwent Innovation Index*.

É possível observar neste levantamento que a *Uncaria tomentosa* vem sendo pesquisada por um número crescente de organizações. Para essa análise, utiliza-se o país de primeiro depósito da patente, o qual costuma ser o detentor da tecnologia. Os principais países que estão participando ativamente no desenvolvimento de determinada tecnologia são identificados por meio de siglas de acordo o número designado ao documento quando de seu depósito durante o processo de patentes (**FIGURA 10**).

Em termos globais de país detentor de tecnologia, a China lidera com 195 patentes depositadas no período do estudo, seguida pelos Estados Unidos (74 patentes) e Japão (22 patentes). O Brasil encontra-se na posição do *ranking* em 8º lugar com 6 patentes depositadas, fato colocado controverso quando comparado com o número de publicações. A China é um dos países que estão as gigantes farmacêuticas internacionais como a AstraZeneca, Roche, Bayer, Novartis e Sanofi, que estão à procura de conhecer o mercado, isso mostra o potencial tecnológico do país para desenvolvimento de medicamentos.

FIGURA 10: Frequência de depósitos de patentes por país.



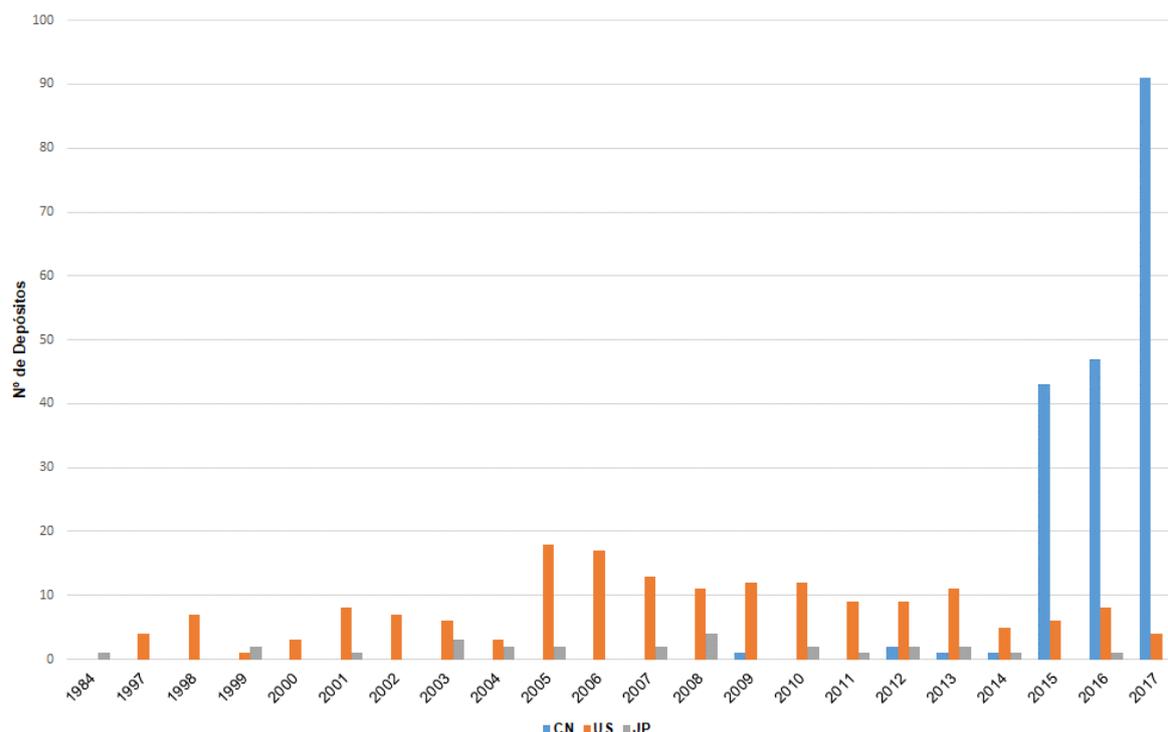
Fonte: elaborado pelo autor a partir de levantamento efetuado no *Derwent Innovation Index*.

Legendas: CN: China; US: Estados Unidos; JP: Japão; CA: Canadá; KR: Coreia; DE: Alemanha; AT: Áustria; BR: Brasil; EP: Escritório de Patentes da Europa; AU: Austrália; RU: Rússia; ES: Espanha; FR: França; MX: México; NL: Países Baixos; PL: Polônia; ZA: África do Sul; BG: Bulgária; GB: Reino Unido; HU: Hungria; IB: Instituto Internacional de Patentes (WIPO); IL: Israel; IT: Itália; PH: Filipinas; SE: Suécia; TR: Turquia.

Os depósitos de patentes relacionadas à *Uncaria tomentosa* na China, apesar de terem começado mais tarde (em 2009) vem crescendo mais do que nos demais países (**FIGURA 11**). Apesar de os Estados Unidos apresentarem um sistema de patentes maduro e um mercado gigantesco, os depósitos nos EUA tiveram seu ápice nos anos 2005/2006 e manteve os depósitos quase se estabilizando ao longo dos anos. Já os depósitos em território japonês também sugerem uma estabilização quanto aos depósitos prioritários. Cabe ressaltar que, não está sendo referido às famílias de patentes, apenas os documentos de prioridade.

Observa-se que os Estados Unidos e o Japão tendem a permanecer com o mesmo nível de patenteamento, isto é, com uma tendência de estabilização de depósitos. A China, por sua vez, entrou no mercado timidamente em 2009 com apenas 1 depósito, 2012, 2; 2015, 43; 2016, 47 e 2017 com 91 depósitos. Em termos de tendência, é o país que mais cresce com relação ao tema em estudo.

FIGURA 11: Evolução anual de depósitos de patentes relacionadas à *Uncaria tomentosa* nos três países líderes.



Fonte: elaborado pelo autor a partir de levantamento efetuado no *Derwent Innovation Index*.

Legenda: CN – China; US – Estados Unidos; JP – Japão.

Conclusão

Foram mapeadas pesquisas geradas no âmbito das universidades e instituições de pesquisa do país e no mundo, com a planta medicinal *Uncaria tomentosa* usando ferramentas computacionais e banco de dados. Sendo possível observar que, a instituição que concentra o maior número de artigos publicados é o Instituto Politécnico Nacional do México. Colocando o Brasil na primeira posição no ranking de publicações, podemos destacar as principais instituições detentoras do conhecimento científico da *Uncaria tomentosa* são: a Universidade Federal do Rio Grande do Sul, que apresentou 15 publicações de artigos; vindo, em seguida, a Universidade Federal do Rio de Janeiro; Universidade Federal Santa Maria e; a Fundação Oswaldo Cruz.

As potencialidades terapêuticas da planta medicinal *Uncaria tomentosa* são identificadas principalmente nos alcaloides, em que as atividades mais estudadas formam os estudos de toxicidade pré-clínica: de citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade.

É importante destacar que, a planta em estudo continua sendo alvo de proteção por meio de patentes principalmente pelos chineses que apesar de terem começado a depositar após os demais países prioritários, hoje é o país que mais cresce em número de depósitos. Este estudo nos revela também que as universidades brasileiras têm potencial de geração de novas tecnologias passíveis de patenteamento e desenvolvimento de produtos, os resultados apontaram 70 artigos indexados em relação aos outros países que apresentaram quantidade menor de publicações. Esses valores, em números, no Brasil são bastante

relevantes em relação às publicações, porém indicam um gargalo nos registros na visão do interesse de pesquisa tecnológica.

Uma vez que o Brasil conta com 6 depósitos de patentes fato contrário em comparação com o número de publicações de artigos científicos que fica em primeiro lugar no ranking mundial. Por outro lado, o aumento da produção científica de pesquisadores brasileiros ainda não é suficiente para desencadear impactos importantes para o desenvolvimento econômico no país. O número de patentes depositadas por brasileiros está longe dos números de artigos publicados, reforçando a real necessidade de melhor compreender o que foi anteriormente pesquisado e direcionar a pesquisa para o âmbito de aplicabilidade na saúde. Pode-se colocar que o Brasil possui baixa competitividade e tem criado pouco esforço em inovar na área de produtos tecnológicos, possivelmente deve-se à imaturidade do sistema de inovação (articulação eficiente entre governo, empresas e universidades, capaz de promover um sistema de Pesquisa e Desenvolvimento).

Referências

1. World Health Organization (WHO). **Global report on traditional and complementary medicine**. Geneva. 2019. 226 p. ISBN: 9789241515436. [\[Link\]](#).
2. Calixto JB, Dutra RC, Campos MM, Santos AR. Medicinal plants in Brazil: Pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacol Res**. 2016; 112: 4-29. [\[CrossRef\]](#).
3. World Health Organization (WHO). **The World Health Report**. Geneva. 1998. 226 p. ISBN: 92 4 156189 0. [\[Link\]](#).
4. Gia. Herbal supplements and remedies: a global strategic business report. **Global Ind Anal**; 2013. [\[Link\]](#).
5. Terra Junior ON, Maldonado JV, Arnobio A. Estudo do desempenho comercial dos insumos farmacêuticos vegetais sob a ótica do comércio exterior. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. Jul-Set 2015; 9(3): 161-252. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
6. Cunha AP, Silva AP, Roque OR, Pereira RO. **Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia**. Fundação Calouste Gulbenkian. Serviço de Educação e Bolsas, Lisboa, 2003; 9-11. [\[Link\]](#).
7. Keplinger K, Laus G, Wurm M, Dierich MP, Teppner H. *Uncaria tomentosa* (Wild). Ethnomedicinal Uses and new pharmacological, toxicological and botanical results. **J Ethnopharmacol**. 1999; 64: 23-34. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
8. Ganzera M, Muhammad I, Khan RA, Khan IA. Improved method for the determination of oxindole alkaloids in *Uncaria tomentosa* by high performance liquid chromatography. **PI Med**. 2004; 67: 447-450. [\[PubMed\]](#).
9. Desmarchelier C, Mongelli E, Coussio JE, Ciccio G. Evaluation of the *in vitro* antioxidant activity in extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **Phytoth Res**. 1997; 11: 254-256. [\[CrossRef\]](#).
10. Falkiewicz BE, Lukasiak J. Vilcacora [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. and *Uncaria guianensis* (Aublet) Gmel.] – a review of published scientific literature. **Case Rep Clinic Pract Revue**. 2001; 2: 305-316. [\[Link\]](#).
11. De Feo V. Medicinal and magical plants in the northern Peruvian Andes. **Fitoterapia**. 1992; 63: 417-440. [\[Link\]](#).
12. Reinhard K-H. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.: cat's claw, uña de gato, or saventaro. **J Alter Compl Med**. 1999; 5: 143-151. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
13. Miranda EM, Sousa JAE, Pereira RCA. Subsídios técnicos para o manejo sustentável da unha de gato (*Uncaria* spp.) no Vale do Rio Juruá - AC. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Embrapa Brasil**. Documentos 68. 2001; 1-24. [\[Link\]](#).

14. Heitzman ME, Neto CC, Winiarz E, Vaisberg AJ, Hammond GB. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). **Phytochemistry**. 2005; 66: 5-29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
15. Prado EG, Gimenez DG, Vazquez RDP, Sanchez JLE, Rodriguez TS. Antiproliferative effects of mitraphylline, a pentacyclic oxindole alkaloid of *Uncaria tomentosa* on human glioma and neuroblastoma cell lines. **Phytomedicine**. 2007; 14: 280-284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Lemaire I, Assinewe V, Cano P, Awang DV, Arnason JT. Stimulation of interleukin-1 and-6 production in alveolar macrophages by the neotropical liana, *Uncaria tomentosa* (uña de gato). **J Ethnopharmacol**. 1999; 64: 109-115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
17. Pilarski R, Zielinski H, Ciesiolka D, Szyfter K, Gulewicz K. Antioxidant activity of ethanolic and aqueous extracts of *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. **J Ethnopharmacol**. 2006; 104: 18-23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
18. Reis SRIN, Valente LMM, Sampaio AL, Siani AC, Gandini M, Azeredo EL *et al*. Immunomodulating and antiviral activities of *Uncaria tomentosa* on human monocytes infected with Dengue Virus-2. **Interl Immunopharmacol**. 2008; 8: 468-476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
19. Gimenez DG, Prado EG, Rodriguez TS, Arche AF, De La Puerta R. Cytotoxic effect of the pentacyclic oxindole alkaloid mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark on human ewing's sarcoma and breast cancer cell lines. **Planta Medica**. 2010; 76: 133-136. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. Allen-Hall L, Arnason JT, Cano P, Lafrenie RM. *Uncaria tomentosa* acts as a potent TNF-alpha inhibitor through NF-kappa B. **J Ethnopharmacol**. 2010; 127: 685-693. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 09/12/2019 | **Aceite:** 08/02/2022 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Simões ERB, Machado RR, Pessoa CÔ, Marques LGA. O potencial fitoterapêutico da *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. Rubiaceae: monitoramento científico e tecnológico. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 193-205. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/926>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



O “Des-Envolvimento” Insustentável e Agricultura Molecular na produção de bioativos

Unsustainable Development and Molecular Agriculture in Bioactive Production

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1322>

Veiga Junior, Valdir Florencio¹; Yamaguchi, Klenicy Kazumy de Lima^{2*}.

¹Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Instituto de Ciências Exatas (ICE), Departamento de Química. Av. General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, 1200, Coroado I, CEP 69067-005, Manaus, AM, Brasil.

²Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Instituto de Saúde e Biotecnologia, ISB/Coari. Estrada Coari, Mamiá, 305, Espírito Santo, CEP 69460-000, Coari, AM, Brasil.

*Correspondência: valdir.veiga@gmail.com e klenicy@gmail.com.

Resumo

A sustentabilidade de produtos e processos vem sendo amplamente discutida nos meios científico e industrial, levantando o questionamento: até que ponto os processos químicos têm sido sustentáveis? O objetivo deste artigo é apresentar um panorama sobre a produção de bioativos e as problemáticas que envolvem essa consolidação, o “des-envolvimento” insustentável. Evidencia-se a necessidade de uma melhor comunicação entre a academia, os produtores, as cooperativas e a indústria, iniciando as interações verticais para o real benefício da sociedade.

Palavras-chave: Sustentabilidade. Fitoterápicos. Fitocosméticos.

Introdução

“Ah, pesquisador... pesquisador aparece sempre. É pior que político. Chega sorridente, faz um monte de promessas, um monte de perguntas, anota tudo em um caderninho... Depois vai embora e nunca mais volta”.

Essas palavras foram ouvidas no extremo norte do nosso país, de lideranças indígenas da Cabeça do Cachorro, no Alto Rio Negro, em São Gabriel da Cachoeira, no Amazonas; em comunidades em Rondônia e no Pará; e também em cooperativas e escolas agrícolas do interior do Amazonas, de Santa Catarina e do Rio de Janeiro. Não há de ser coincidência. Aparentemente, a sociedade talvez enxergue os cientistas como pessoas desconectadas da realidade (na melhor das avaliações!), preocupados apenas com seu jeito peculiar de salvar o mundo. Em suas promessas de alavancar a bioeconomia local, criam esperanças em quem já não encontra alternativas no mercado formal. Em suas prospecções muito bem intencionadas de encontrar a cura para o câncer, a AIDS, a gripe, e até a solução para o combate a COVID-19... talvez ignorem as expectativas que geram, alimentando ilusões nos que não entendem os seus sonhos. Há uma

empatia preocupada e sincera quando se inicia um envolvimento com parceiros da sociedade, cooperativas e comunidades em um projeto de prospecção envolvendo os produtos naturais?

Sustentabilidade é uma palavra da moda. Diversas empresas que tentam sobreviver a esse período de grandes mudanças endereçam suas ações ao Desenvolvimento Sustentável. Mas, até que ponto essa preocupação é real ou apenas um acessório para parecer sustentável, pintando suas ações de verde (daí o termo cada dia mais comum: *green-washing*) para ganhar mercados e iludir acionistas de que sua atuação é robusta e confiável?

Para que determinada ação ou processo seja sustentável, deve atender às demandas do presente sem comprometer as gerações futuras, e as demandas do presente têm sido muito diferentes do que costumavam ser. A compreensão do que é necessário para a sustentabilidade tem se consolidado em um modelo de grande amplitude. Há 50 anos, uma empresa, para ser sustentável, deveria buscar um equilíbrio na exploração dos recursos naturais e geração dos resíduos. Hoje, não é mais suficiente apenas não danificar o ambiente. Para ser sustentável, uma empresa deve trazer benefícios para a sociedade, deve-se devolver a água mais pura que a recebida, um ar mais puro, fornecer energia, contribuir para uma comunidade melhor.

Sustentabilidade, atualmente, envolve cuidados com as populações do entorno da empresa, com o social e o ambiental, a saúde e a segurança, a educação e a redução de desigualdades, o consumo responsável e a remuneração justa, entre vários outros aspectos. Derrubam-se os muros das responsabilidades e, para que um empreendimento faça sentido ele deve não apenas gerar lucro, mas ser benéfico para a sociedade em uma dimensão maior. Deve-se dar exemplos de liberação de carbono zero para o meio ambiente, mas também combater a exploração infantil, o trabalho escravo, o subemprego, a discriminação, a corrupção, ter procedimentos claros em todas as ações e priorizar a ética. Isso se estende a todos os seus fornecedores e parceiros comerciais. As empresas que se preocupam com estes aspectos têm áreas específicas para garantir o cumprimento e a conformidade (*Compliance*) das leis e seus códigos de ética para atender aos três pilares denominados de ESG, sigla em inglês para Ambiental, Social e Governança. Corporativamente, adotam o Índice de Sustentabilidade Empresarial (ISE), que vem sendo empregado como medida paralela de sua avaliação no mercado. As empresas que adotam esse índice mostraram rentabilidade de 296% contra os 223% médios da B3 (antiga Ibovespa) em um mesmo período recente, mostrando que a priorização destes princípios as torna mais rentáveis, por serem mais sólidas e eficientes.

Para gerar esses benefícios para a sociedade, as empresas modernas devem atuar não somente em seu mercado, mas em todos estes aspectos, que aparentemente estão muito fora de sua expertise, mas sem os quais elas não se sustentam mais.

Um mundo mais holístico

Há cerca de 60 anos, no princípio do outono de 1962, a bióloga Rachel Carson publicou seu livro “Primavera Silenciosa” com perguntas audaciosas sobre como seria um planeta sem o canto dos pássaros, contaminados pelo uso indiscriminado de pesticidas sintéticos. O impacto foi tremendo e continua sendo controverso!^[1]. O mundo estava assustado com a tragédia da talidomida (medicamento para enjoos da gravidez que provoca deformações no feto) e com a presença de pesticidas em diversos alimentos e discussões sobre sua toxicidade em humanos. Rachel sofreu ameaças, as *fake-news* já existiam e tentaram

desacreditá-la, mas sua coragem contribuiu de maneira fundamental para moldar a consciência ambiental moderna e para criar a EPA, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos.

As discussões alcançaram o grande público e diversas conferências foram criadas para a discussão do futuro do planeta, não mais visto com recursos e capacidade infinita de regeneração, mas como uma nave espacial, uma bola de gude azul à deriva no universo. A Conferência de Estocolmo foi a maior e mais importante a lidar com a questão do meio ambiente até então, iniciada em 5 de junho de 1972, dia que passou a ser celebrado pela ONU como o Dia Mundial do Meio Ambiente. Planejada para ocorrer vinte anos depois, a Eco92, no Rio de Janeiro, reuniu diversos chefes de estado e resultou na Carta da Terra e na Agenda 21.

A década de 1970 nos trouxe outras mudanças na forma de ver o mundo de maneira mais ampla. A crise do petróleo nos levou ao uso de biocombustíveis e recentemente ao aproveitamento integral da biomassa nas biorefinarias. Os conceitos de reciclar, reutilizar e reduzir se transformaram na Economia Circular, no repensar processos observando-os de forma ampla e planejar não gerar resíduos, mas subprodutos. Com a chegada do milênio, outros paradigmas surgiram. Se em 2000 a cúpula da ONU definiu 8 Objetivos do Milênio, em 2015 foram 169 metas mais ambiciosas para serem alcançadas dentro de 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (17ODS) até 2030, elaborados de forma participativa^[2].

Por toda parte se percebe a evolução na visão de que as ações não podem ser isoladas, que os processos devem ser percebidos segundo uma ótica holística. Rachel Carson não pregava o banimento do DDT, como acabou ocorrendo, mas o uso controlado dos diversos pesticidas sintéticos para que não se tornassem biocidas, matando outros organismos, afetando todo o meio ambiente e criando pragas resistentes em um ambiente já debilitado.

“Des-envolvimento” Insustentável e os bioativos

Nesses novos paradigmas não é possível pensar em sustentabilidade sem o envolvimento dos diversos atores, parceiros internos e externos dos processos. Ou seja, não há como sustentar a falta de envolvimento e, sem essa abordagem, a criação de novas alternativas de crescimento e empreendedorismo torna-se muito pouco viável^[3].

Enquanto a busca por princípios ativos é um objetivo constante nos laboratórios e pesquisas científicas, o meio social onde essas matérias primas são obtidas permanece à deriva de um desenvolvimento que possa proporcionar melhores condições para os que realmente dependem dessa cadeia extrativa para se expandir. Nas pesquisas com produtos naturais, bioprospectar continua, indiscutivelmente, muito importante em um país com essa imensa biodiversidade, majoritariamente desconhecida e potencialmente ameaçada por pressões antrópicas e mudanças climáticas. Descrever a natureza, suas biomoléculas, suas funções e mecanismo de atuação permanece sendo essencial. Entretanto, com tantas plantas de nossa biodiversidade já estudadas, tantas substâncias ativas já descritas, uma outra opção é olhar objetivamente ao que pode ser feito para que novos produtos sejam criados e possam gerar renda aos que sobrevivem da floresta em pé, do extrativismo e da agricultura de subsistência, os pequenos produtores, aqueles que conhecem mais intimamente a biodiversidade. Sem conhecer a necessidade das comunidades e cooperativas, fornecedores das matérias-primas de grande potencial, mas baixa qualidade, pequena produção, mas grande interesse em ver seus produtos nas prateleiras em todo o mundo, não se consegue caminhar muito além do extrativismo secular.

Se por um lado os recursos públicos de editais de pesquisa são cada vez mais escassos, as iniciativas de redes de pesquisas também foram enfraquecidas pelo esvaziamento de incentivos de sua continuidade, diminuindo a capacidade dos pesquisadores estarem envolvidos resolvendo em conjunto os problemas multidisciplinares. Pelo lado das empresas, apesar da legislação atual representar um risco jurídico muito menor para a exploração da biodiversidade, ainda há pouquíssima interação com a academia. Há grande carência de iniciativas de crescimento baseadas na biodiversidade.

Nossos jovens cientistas nem sempre conseguem ter a real noção do imenso campo em que as matérias-primas são obtidas, e após as pesquisas teóricas e experimentais que desenvolvem durante sua formação, deparam-se com uma realidade que não conhecem e que ultrapassa a necessidade que apresentavam dentro da caixa de proteção de um laboratório acadêmico. Os trâmites burocráticos, para converter o que é estudado em bioproduto aplicado e utilizado para o benefício da sociedade, são impeditivos e repelem o processo de desenvolvimento, que deveria ser natural. Na verdade, essa interação da academia para a consolidação da pesquisa aplicada é uma relação que ainda precisa de muito amadurecimento para se consolidar.

Sem a aproximação entre os diversos atores, sejam a academia, os produtores e os empresários, para que cada um possa compreender sua lógica, seu tempo, e atender as suas necessidades, são baixíssimas as possibilidades de associação criativa, produtiva e empreendedora.

Phytochemistry by Design e Agricultura Molecular

Os processos clássicos de prospecção que tinham por objetivo descrever a biodiversidade, foram essenciais para compor o conhecimento atual da composição química de espécies vegetais, de seu metabolismo especializado. Hoje, são raras as espécies cujos gêneros já não tenham sido estudados em algum lugar do planeta, seus óleos essenciais, flavonoides, triterpenos e ácidos graxos já foram descritos. As espécies comerciais, em especial, foram não apenas estudadas, como tiveram a composição química de suas diferentes partes já descritas. Assim como há patentes originais e incrementais, quando são apresentadas melhorias aos processos já descritos anteriormente, há muitas possibilidades de estudar plantas já conhecidas para concentrar ou mesmo isolar moléculas que tenham interesse comercial.

A Agricultura Molecular é o cultivo de espécies com o objetivo de produzir um tipo específico de molécula. A expressão é muito empregada para espécies modificadas geneticamente para sintetizar vitaminas ou elevados teores de amido para alimentos ou combustíveis. Entretanto, pode-se designar também os cultivos específicos para preparo de extratos que atendam a mercados como: cosméticos, aditivos e suplementos alimentares, perfumes e insumos farmacêuticos, que têm regulamentações muito menos restritivas que os fármacos.

Se os alvos forem, por exemplo, no mercado de cosméticos, é provável que só se empregue solventes aquosos na preparação dos extratos. A adição de etanol já implica na obtenção de toda a rastreabilidade do solvente. Assim, e diferentemente dos métodos clássicos de prospecção, para alcançar objetivamente um bioproduto fitoquímico é essencial o planejamento para as características desejadas ao produto final desde os processos iniciais de coleta, limpeza, secagem e extração. A este processo fitoquímico orientado para o produto designamos *Phytochemistry by Design*, derivado do *Quality by Design*, que possui os mesmos princípios, mais amplos^[4].

Assim, na prospecção por extratos bioativos, estratégias de Agricultura Molecular e *Phytochemistry by Design* podem ser extremamente eficazes na geração de bioprodutos. Talvez não nos recursos ainda

desconhecidos de nossa biodiversidade, mas no jiló, na couve-flor, no quiabo e no pepino. Além deles, são recursos de grande valor as partes residuais de nossa produção agrícola. Nos resíduos de banana, manga, laranja e goiaba, no caroço do açaí, no albedo do maracujá ou no ouriço da castanha, esses materiais ricos em bioativos são descartados pelos extrativistas, pelos pequenos produtores, e podem ser alternativas de desenvolvimento de nossa produção^[5].

Nas pesquisas científicas da área, tem-se descrito o quanto esses subprodutos que comumente são descartados de forma inadequada na natureza, causando problemas e desequilíbrio ambientais, apresentam substâncias que podem ser do interesse da indústria. A questão é, se há demanda e há respostas para essa questão, por que essa comunicação ainda não consegue ter uma fluidez? Por que o que é pesquisado não atende às demandas da sociedade? Observa-se que devido às diferentes perspectivas, nem sempre o que é pesquisado contempla a demanda dos que estão na linha de frente social. Resultados interessantes para implementação da cultura de sistema de base são criados sem que os verdadeiros necessitados sejam ouvidos.

Para saber quais produtos têm maiores potenciais de produção na sua região, ouvir as cooperativas mais do que apresentar soluções prontas, pode ser uma solução melhor. Para descobrir o que fazer com os bioprodutos, ouvir os empresários e suas necessidades é um caminho mais empreendedor que apresentar uma molécula isolada e só então tentar descobrir para o que serve.

Os novos paradigmas de desenvolvimento sustentável exigem a aproximação, o envolvimento. Nas empresas, os ESG já são primordiais para quem quer sobreviver. Na academia, o des-envolvimento também é insustentável. As interações horizontais da multidisciplinaridade realizadas nas últimas décadas entre cientistas de diferentes áreas foram muito importantes para melhorar os níveis das pesquisas e das publicações. No entanto, ainda há uma lacuna nesse processo que precisa ser analisada. É passada a hora de iniciar as interações verticais, com empresários e cooperativas. De sair da zona de conforto, ouvir aqueles que pensam diferente para poder trazer benefícios econômicos para a sociedade.

Agradecimento

A presente pesquisa recebe apoio financeiro do CNPq, da FAPEAM e da FAPERJ.

Referências

1. Yang J, Ward MD, Kahr B. Abuse of Rachel Carson and Misuse of DDT Science in the Service of Environmental Deregulation. **Angew Chem Int Ed**. 2017, 56: 10026-32. [\[CrossRef\]](#).
2. Organização das Nações Unidas [homepage na internet]. Objetivos de Desenvolvimento sustentável [acesso em 06 dez. 2021]. Disponível em: [\[Link\]](#).
3. Pereira-Junior AAM, Nunes-Filho AL, Neves-Fonseca CJ, Trinas JG, Rodrigues-Pereira ME, Veiga-Junior VF. Sustentabilidade e a produção de bioativos: como aproveitar a biodiversidade brasileira. **Rev Aflora**, 2021; 2: 4-7. Disponível em: [\[Link\]](#).
4. Antonio AS, Aguiar ATC, Santos GRC, Pereira HMG, Veiga-Junior VF, Wiedemann LSM. Phytochemistry by design: a case study of the chemical composition of *Ocotea guianensis* optimized extracts focused on untargeted metabolomics analysis. **RSC Adv**. 2020; 10: 3459-71. [\[CrossRef\]](#).

5. Veiga-Junior VF, Yamaguchi KKL. Açaf: desenvolvimento e sustentabilidade. **Rev Ens Saúde Biotec Amaz.** 2021; 3: 1-3.

Histórico do artigo | **Submissão:** 20/08/2021 | **Aceite:** 09/09/2021 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Veiga Junior VF, Yamaguchi KKL. O “Des-Envolvimento” Insustentável e Agricultura Molecular na produção de bioativos. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 206-211. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1322>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



Bioprospecção de plantas da Caatinga com potencial para produção de fitomedicamentos

Bioprospection of Caatinga plants with potential for phytomedicine production

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1283>

Souza, Ana Valéria Vieira de^{1*}; Hernandes, Camila²; Souza, Danilo Diego de³; Costa, Evelyn Sophia Silva⁴; Bispo, Luma dos Passos⁵; Oliveira, Flávio José Vieira de⁶; Pereira, Ana Maria Soares⁷.

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), CPATSA. BR 428, Km 152, Zona Rural, Caixa Postal 23, CEP 56302-970, Petrolina, PE, Brasil.

²Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein, Avenida Albert Einstein, nº 627, Jardim Leonor, CEP 05652-900, São Paulo, SP, Brasil.

³Agência Municipal de Meio Ambiente de Ouricuri, Rua Adolfo Soares, nº 125, Centro, CEP 56200-000, Ouricuri, PE, Brasil.

⁴Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Avenida Transnordestina, Km 0, BR 116, CEP 44036-900, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

⁵Rua Pedro Dias de Araújo, nº 26, Cohab Massangano, CEP 56310-530, Petrolina, PE, Brasil.

⁶Universidade Estadual da Bahia (UNEB), Departamento de Tecnologias e Ciências Sociais, Rua Edgar Chastinet, s/n, São Geraldo, CEP 48905-680, Juazeiro, Bahia, Brasil.

⁷Universidade de Ribeirão Preto (UNAERP), Departamento de Biotecnologia Vegetal, Avenida Costábile Romano, nº 2201, CEP 14096-380, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

*Correspondência: ana.souza@embrapa.br.

Resumo

A Caatinga é um bioma exclusivamente brasileiro que apresenta em seu domínio expressivo número de plantas com potencial medicinal e aromático. Porém pouco se conhece sobre essas espécies nativas. O objetivo deste trabalho foi identificar plantas nativas da Caatinga com potencial medicinal e iniciar estudos voltados à domesticação daquelas espécies identificadas como promissoras para produção de fitomedicamentos. Para isso, foram realizados levantamentos e identificações de plantas medicinais utilizadas pela população no Território do Sertão do São Francisco, nos estados de Pernambuco e Bahia. A partir desse levantamento foram selecionadas espécies aromáticas e produtoras de óleos essenciais para a análise da composição química, testes de atividade antimicrobiana e ensaios farmacológicos e estudos de propagação e cultivo. Até o momento, as pesquisas nessas áreas avançaram para cinco espécies, em diferentes etapas - *Lippia grata* Schauer (*Verbenaceae*), *Lippia schaueriana* Mart. ex Schauer (*Verbenaceae*), *Croton conduplicatus* Kunth (*Euphorbiaceae*), *Croton sonderianus* Müll.Arg. (*Euphorbiaceae*) e *Croton campestris* A.St.-Hil. (*Euphorbiaceae*). Todavia, a extração do óleo essencial e a análise fitoquímica foram realizadas para todas espécies coletadas. Os resultados revelaram que os óleos essenciais dessas espécies apresentam teores de compostos majoritários com atividade terapêutica e, portanto, essas podem ser interessantes para produção de fitomedicamentos.

Palavras-chave: Planta medicinal. Fitoterápicos. *Lippia grata*. *Lippia schaueriana*. *Croton conduplicatus*.

Abstract

The Caatinga is an exclusively Brazilian biome that has an expressive number of plants with medicinal and aromatic potential in its domain. However, little is known about these native species. The objective of this work was to identify native plants of the Caatinga with medicinal potential and to initiate studies aimed at the domestication of those species identified as promising for the production of phytomedicines. For this, surveys and identifications of medicinal plants used by the population in the Territory of Sertão do São Francisco, in the states of Pernambuco and Bahia, were carried out. From this survey, aromatic and essential oil producing species were selected for the analysis of chemical composition, antimicrobial activity tests and pharmacological tests and propagation and cultivation studies. So far, research in these areas has advanced to five species, in different stages - *Lippia grata* Schauer (Verbenaceae), *Lippia schaueriana* Mart. ex Schauer (Verbenaceae), *Croton conduplicatus* Kunth (Euphorbiaceae), *Croton sonderianus* Müll.Arg. (Euphorbiaceae) and *Croton campestris* A.St.-Hil. (Euphorbiaceae). However, essential oil extraction and phytochemical analysis were performed for all species collected. The results revealed that the essential oils of these species present contents of major compounds with therapeutic activity and, therefore, these can be interesting for the production of phytomedicines.

Keywords: Medicinal plant. Herbal. *Lippia grata*. *Lippia schaueriana*. *Croton conduplicatus*.

Introdução

A Caatinga é o único bioma exclusivamente brasileiro e ocupa a maior extensão territorial da região Nordeste com clima semiárido. É um ecossistema onde os estudos científicos estão aquém do necessário quando comparados ao acervo genético vegetal nativo com múltiplas possibilidades de utilização com fins econômicos. Em função de suas condições edafoclimáticas peculiares, a Caatinga desponta como um dos ecossistemas mais importantes, pois apresenta em seu domínio, expressivo número de plantas com potencial aromático e medicinal^[1]. Contudo, pouco se conhece sobre essas espécies^[2].

Mas, por outro lado, o extrativismo vegetal intenso tem promovido redução drástica das populações naturais, seja pelo processo predatório de exploração, ou mesmo pelo desconhecimento dos mecanismos de perpetuação das mesmas. Atualmente, a Caatinga tem sido apontada como o bioma brasileiro mais crítico no que se refere à conservação, sendo um dos mais ameaçados e alterados pela ação antrópica, o que coloca inúmeras espécies em risco de extinção^[2].

Considerando esse potencial como fonte de recursos terapêuticos e econômicos, tornam-se cada vez mais importantes, pesquisas voltadas à bioprospecção, com a correta identificação e comprovação das propriedades medicinais das plantas nativas da Caatinga, além do estabelecimento de ações voltadas à sua domesticação.

A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), estabelecida pelo Governo Federal, por meio do Ministério da Saúde^[3] ressalta a importância de trabalhos nesta área, como forma de garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, além de promover o uso sustentável da biodiversidade e o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional neste segmento^[3].

Nesse contexto, objetivou-se, com este trabalho, identificar espécies nativas da Caatinga com potencial medicinal a partir do conhecimento tradicional e iniciar estudos voltados à domesticação daquelas espécies identificadas como potenciais para a produção de fitomedicamentos.

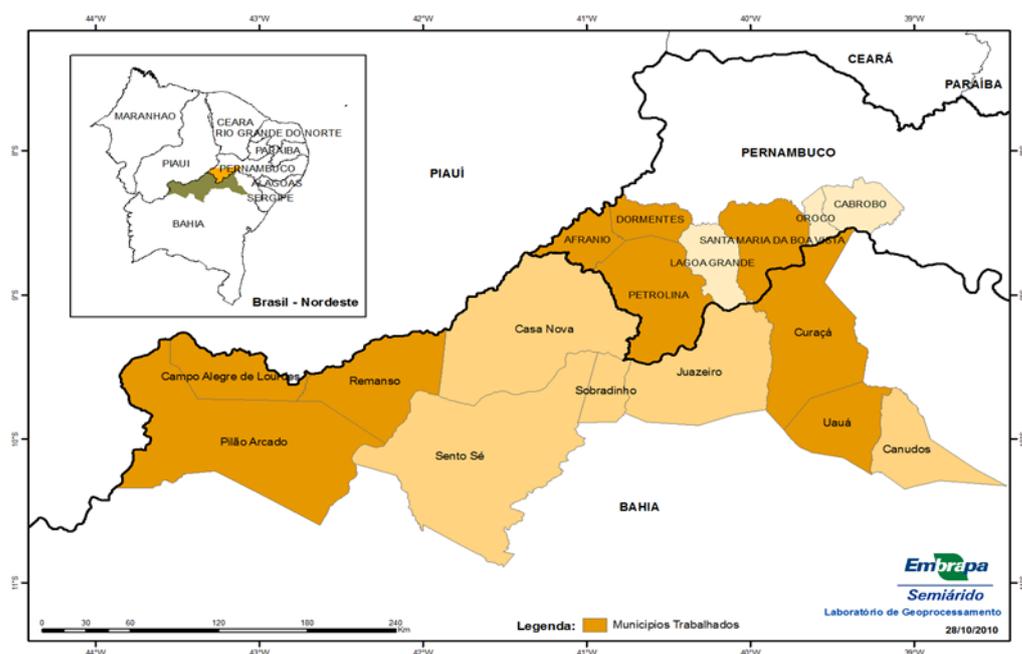
Material e Método

Todas as atividades foram realizadas com autorizações de órgãos competentes que regulamentam atividades científicas no Brasil (Número: 35849-4 MMA/ICMBio/SISBIO; Número: 35800-2 MMA/ICMBio/SISBIO e Número AD0F005 SISGEN).

A pesquisa, para o levantamento e a identificação das espécies nativas da Caatinga com potencial medicinal iniciou-se em 2009, e foi realizada no Território do Sertão do São Francisco, nos estados de Pernambuco (municípios de Cabrobó, Lagoa Grande, Orocó, Petrolina, Santa Maria da Boa Vista, Afrânio e Dormentes) e Bahia (municípios de Uauá, Campo Alegre de Lourdes, Canudos, Casa Nova, Curaçá, Juazeiro, Pilão Arcado, Remanso, Sento Sé e Sobradinho) (**FIGURA 1**). Esses municípios foram escolhidos pela representatividade da população na área rural e de agricultores familiares. Os resultados preliminares dessa pesquisa foram reportados Kiill *et al.* [4]. Paralelamente, foram realizadas coletas em áreas próximas e pertencentes à Embrapa Semiárido.

A partir dessa etapa inicial, as pesquisas continuaram sendo desenvolvidas na Embrapa Semiárido e optou-se por prosseguir as investigações científicas, somente para aquelas espécies aromáticas e produtoras de óleos essenciais. Após essa seleção, somente espécies com rendimento de óleo essencial $\geq 0,4-0,5$ mL foram selecionadas para a análise da composição química, testes de atividade antimicrobiana e ensaios farmacológicos e estudos de propagação e cultivo.

FIGURA 1: Mapa de localização dos municípios estudados no Território do Sertão do São Francisco.



Extração do óleo essencial e análise fitoquímica por GC-MS e CG-FID

A extração do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido. Foram utilizadas folhas secas a temperatura de $40 \pm 1^\circ\text{C}$ por quatro dias em estufa de secagem com circulação de ar forçada. O óleo essencial foi obtido através da hidrodestilação durante três horas em aparelho do tipo Clevenger e, posteriormente, foi separado da fase aquosa e mantido em freezer até sua utilização.

As análises fitoquímicas dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório Multiusuário da Embrapa Agroindústria Tropical. As análises dos componentes dos óleos essenciais foram realizadas utilizando CG-MS/CG-DIC (GC-2010 Plus; GCMS-QP2010 Ultra, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão) equipado com um amostrador automático AOC-20i (Shimadzu). As separações foram realizadas usando uma coluna capilar de sílica fundida Rtx[®]-5MS Restek (polissiloxano 5%-difenil-95%-dimetil) de 30 m x 0,25 mm de diâmetro interno (d.i.), 0,25-mm de espessura de filme, em um fluxo constante de hélio (99,999%) com taxa de $1,2 \text{ ml min}^{-1}$. Foi utilizado um volume de injeção de 0,5 μL (5 mg ml^{-1}), com uma razão de split de 1:10. A programação de temperatura do forno utilizada foi a partir de 50°C (isoterma durante 1,5 min), com um aumento de 4°C/min , a 200°C , em seguida, a 10°C/min até 250°C , terminando com uma isoterma de 5 min a 250°C .

Os dados de CG-EM e CG-DIC foram simultaneamente adquiridos empregando um sistema de separação de detector; a razão de separação de escoamento foi de 4:1 (EM: FID). Um tubo restritor de 0,62 m x 0,15 milímetros d.i. (coluna capilar) foi usado para ligar o divisor para o detector do EM; um tubo restritor de 0,74 m x 0,22 mm d.i., foi usado para ligar o divisor para o detector do DIC. A temperatura do injetor foi de 250°C e a temperatura da fonte de íons foi de 200°C . Os íons foram gerados à 70 eV; a uma velocidade de varredura de 0,3 fragmentos (scans) s^{-1} detectados no intervalo de 40-350 Da. A temperatura do DIC foi ajustada para 250°C , e os suprimentos de gás para o DIC foram ar sintético, hidrogênio, hélio em taxas de fluxo de 30, 300 e 30 ml min^{-1} , respectivamente. A quantificação de cada constituinte foi estimada por normalização área do pico gerado no DIC-(%). As concentrações dos compostos foram calculadas a partir das áreas dos picos de CG e foram dispostos por ordem de eluição do CG.

A identificação dos constituintes foi realizada com base na comparação dos índices de retenção da literatura^[5]. Para o índice de retenção foi utilizando a equação de Van den Dool e Kratz^[6] em relação a uma série homóloga de n-alcenos ($\text{nC}_9\text{-nC}_{18}$). Foram utilizadas três bibliotecas do equipamento WILEY8, NIST107 e NIST21 que permite a comparação dos dados dos espectros com aqueles constantes das bibliotecas utilizando um índice de similaridade de 80%.

Ensaio antimicrobiano

O ensaio antimicrobiano foi realizado no Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade de Ribeirão Preto.

A atividade antimicrobiana do óleo essencial foi determinada através do teste da microdiluição em placas contendo 96 poços, segundo as normas do CLSI M7-A9 (2012) (bactérias), M27-A3 (2008) (levedura) e M38-A2 (2008) (fungo filamentosos). Os ensaios foram conduzidos frente às linhagens *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231 e *Aspergillus niger* ATCC 16404.

As linhagens bacterianas foram cultivadas em meio BHI (Brain Infusion Heart- Himedia[®]), levedura em meio Sabouraud Dextrose Líquido (Himedia[®]) e fungo filamentosos em meio Sabouraud Dextrose Líquido (Himedia[®]).

A leitura foi realizada visualmente, após período de incubação de 20 horas (bactérias), 24 horas (*C. albicans*) e 48 horas (*A. niger*) a 35°C. A CIM foi determinada como sendo a menor concentração do óleo essencial capaz de impedir o crescimento dos microrganismos.

O óleo essencial foi ensaiado em concentração inicial de 80 µL mL⁻¹. Como controles positivos utilizou-se sulfato de Gentamicina (64 µg mL⁻¹) e Anfotericina B (32 µg mL⁻¹).

Ensaio farmacológicos

As metodologias utilizadas nos ensaios farmacológicos relacionados às atividades: antioxidante, antinociceptiva e neurofarmacológica foram reportadas anteriormente^[7-9].

Estudos de propagação e cultivo

As metodologias utilizadas nos estudos de propagação e cultivo foram descritas^[10-15].

Resultados e Discussão

Descrição de experiência

As informações apresentadas por Kill *et al.*^[4] apontaram para 59 espécies medicinais nativas da Caatinga. Desse total, 51 espécies foram submetidas à extração do óleo essencial (**TABELA 1**), sendo que 13 apresentaram resultados positivos para o parâmetro de seleção, rendimento ≥ 0,4-0,5 mL (**TABELA 2**) e foram selecionadas para a continuidade das pesquisas na Embrapa Semiárido.

TABELA 1: Plantas medicinais nativas da Caatinga usadas por agricultores no Território do Sertão do São Francisco.

| Nome popular | Nome científico | Família |
|---|---|---------------|
| Aroeira | <i>Myracrodruon urundeuva</i> Allemão | Anacardiaceae |
| Umburana de cheiro | <i>Amburana cearensis</i> (Allemão) A.C.Sm. | Fabaceae |
| Angico | <i>Anadenanthera macrocarpa</i> (Vell.) Brenan | Fabaceae |
| Pau de rato/ Catingueira/catinga de porco | <i>Poincianella pyramidalis</i> (Tul.) L.P.Queiroz | Fabaceae |
| Umburana de cambão | <i>Commiphora leptophloeos</i> (Mart.) J.B. Gillett | Burseraceae |
| Pau ferro | <i>Libidibia férrea</i> (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz | Fabaceae |
| Favela | <i>Cnidioscolus quercifolius</i> Pohl | Euphorbiaceae |
| Juazeiro | <i>Ziziphus joazeiro</i> Mart. | Rhamnaceae |
| Marmeleiro comum | <i>Croton sonderianus</i> Müll.Arg. | Euphorbiaceae |
| Marmeleiro preto | <i>Croton</i> sp. | Euphorbiaceae |
| Quebra-faca | <i>Croton conduplicatus</i> Kunth. | Euphorbiaceae |
| Umbuzeiro | <i>Spondias tuberosa</i> Arruda | Anacardiaceae |
| Alecrim do mato | <i>Lippia grata</i> Schauer | Verbenaceae |

| | | |
|--------------------------------|---|----------------|
| Alecrim de mocó/lípia da serra | <i>Lippia schaueriana</i> Mart. ex Schauer | Verbenaceae |
| Ameixa da caatinga | <i>Ximenia americana</i> L. | Oleaceae |
| Jurema preta | <i>Mimosa tenuiflora</i> (Willd.) Poir. | Fabaceae |
| Jurema | <i>Mimosa</i> sp. | Fabaceae |
| Mulungu | <i>Erythrina velutina</i> Willd. | Fabaceae |
| Mandacaru | <i>Cereus jamacaru</i> D.C. | Cactaceae |
| Baraúna | <i>Schinopsis brasiliensis</i> Engl. | Anacardiaceae |
| Papaconha | <i>Hybanthus albus</i> (A.St.-Hil.) Baill. | Violaceae |
| Pau d'arco | <i>Tabebuia</i> sp. | Bignoniaceae |
| Quixabeira | <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T.D.Penn. | Sapotaceae |
| Batata de purga | <i>Operculina</i> sp. | Convolvulaceae |
| Pau branco | <i>Cordia oncocalix</i> Allemão | Boraginaceae |
| Mororó | <i>Bahinia cheilanta</i> (Bong.) Steud | Fabaceae |
| Moleque duro | <i>Cordia leucocephala</i> Moric. | Boraginaceae |
| Craibeira | <i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S.Moore | Bignoniaceae |
| Farinha seca | <i>Albizia niopoides</i> (Spruce ex Benth.) Burkart | Fabaceae |
| Pereiro | <i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart. & Zucc. | Apocynaceae |
| Jatobá | <i>Hymenaea</i> sp. | Fabaceae |
| Carqueja | <i>Calliandra depauperata</i> Benth | Fabaceae |
| Angico de bezerro | <i>Piptadenia moniliformis</i> Benth | Fabaceae |
| Unha de gato | <i>Mimosa</i> sp. | Fabaceae |
| Jacurutu | <i>Piptadenia</i> sp. Benth. | Fabaceae |
| Cardo santo | <i>Argemone mexicana</i> L. | Papaveraceae |
| Quina-quina | <i>Coutarea hexandra</i> (Jacq.) K.Schum | Rubiaceae |
| Candeia | <i>Eremanthus</i> sp. Less. | Asteraceae |
| Mussambê | <i>Cleome spinosa</i> L. | Cleomaceae |
| Vassourinha de botão | <i>Borreria verticillata</i> G.F.W. Mayer. | Rubiaceae |
| Velame do campo | <i>Croton campestris</i> A. St. -Hil. | Euphorbiaceae |
| Velame | <i>Croton heliotropifolius</i> Kunth. | Euphorbiaceae |
| Sete-cascas | <i>Handroanthus spongiosus</i> (Rizzini) S.O.Grose | Bignoniaceae |
| Canelinha | <i>Croton</i> sp. | Euphorbiaceae |
| Coronha | <i>Acaria</i> sp. Miill | Fabaceae |
| Pau branco | <i>Auxemma oncocalyx</i> Fr. All. | Boraginaceae |

| | | |
|------------------|------------------------------------|----------------|
| Maracujá do mato | <i>Passiflora cincinnata</i> Mast. | Passifloraceae |
| Jurubeba | <i>Solanum paniculatum</i> L. | Solanaceae |
| Camará | <i>Lantana câmara</i> L. | Verbenaceae |
| Mulatinha | <i>Croton</i> sp. | Euphorbiaceae |
| Tipi | <i>Petiveria alliacea</i> L. | Phytolaccaceae |

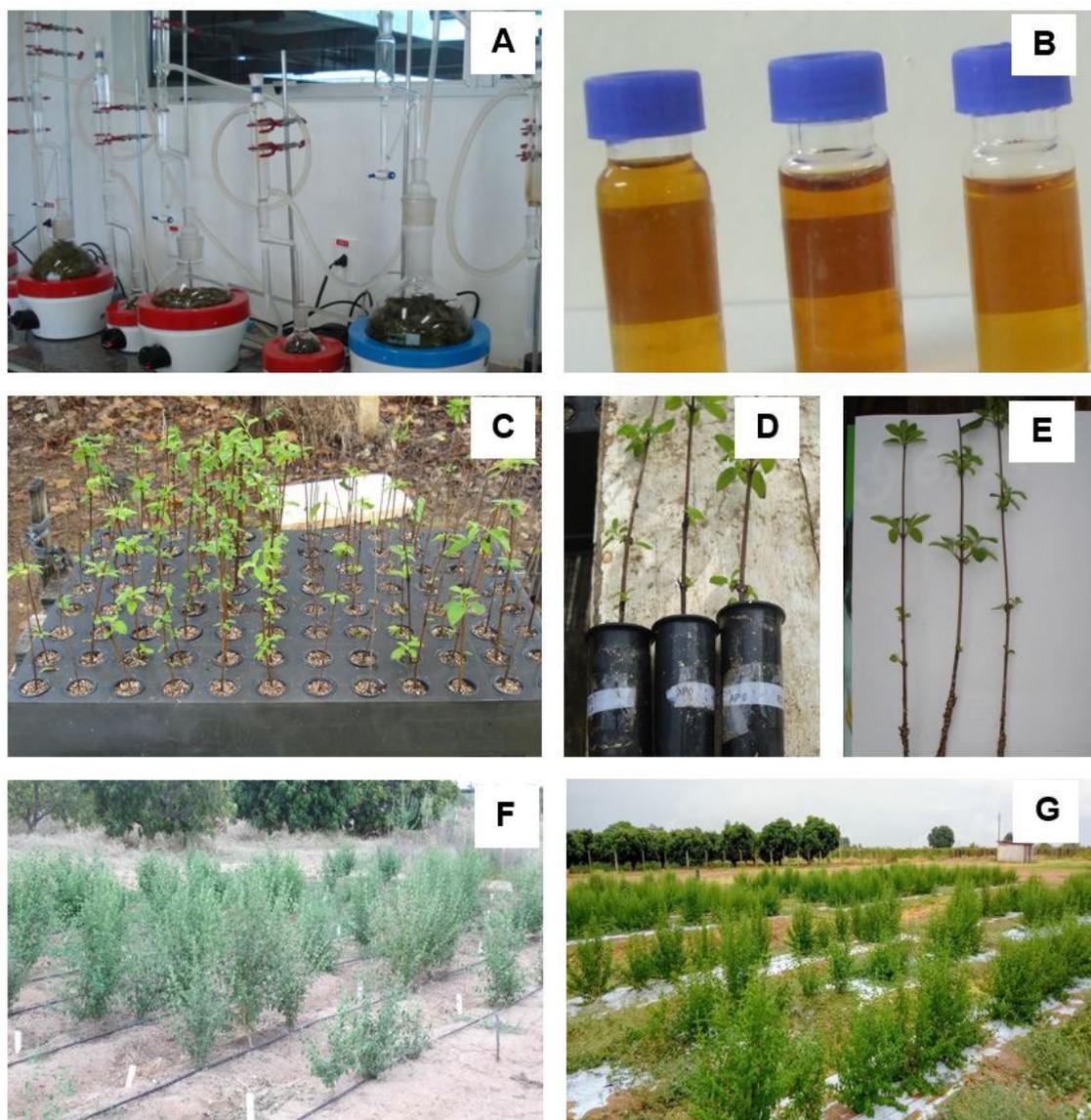
TABELA 2: Plantas medicinais nativas da Caatinga produtoras de óleos essenciais com rendimento $\geq 0,4-0,5$ mL.

| Nome popular | Rendimento de óleo essencial (mL) |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| Aroeira | 0,4-0,5 |
| Umburana de cambão | 0,4-0,5 |
| Marmeleiro comum | 0,8-1,0 |
| Marmeleiro preto | 2,0 |
| Quebra-faca | 0,8-1,0 |
| Umbuzeiro | 0,5 |
| Alecrim do mato | 3,0 |
| Alecrim de mocó/lípia da serra | 1,5-2,0 |
| Velame do campo | 0,4-0,5 |
| Velame | 0,5 |
| Canelinha | 0,8-1,0 |
| Camará | 0,5 |
| Mulatinha | 0,8-1,0 |

Até o momento, as pesquisas avançaram para cinco espécies. As análises fitoquímicas para verificar os componentes dos óleos essenciais foram realizadas para *Lippia grata* Schauer (Verbenaceae)^[11] (**FIGURA 2A;B**) *Lippia schaueriana* Mart. ex Schauer (Verbenaceae)^[16] *Croton conduplicatus* Kunth (Euphorbiaceae)^[8] *Croton sonderianus* Müll.Arg. (Euphorbiaceae)^[17] e *Croton campestris* A.St.-Hil. (Euphorbiaceae)^[15]. Os ensaios antimicrobianos foram realizados para *L. grata* e *L. schaueriana*, cujos resultados são apresentados neste trabalho. A atividade antioxidante, o efeito antinociceptivo e o efeito neurofarmacológico foram realizados para a espécie *C. conduplicatus*^[7-9]. Os estudos de propagação foram realizados com as espécies *L. grata*^[10,13,14] (**FIGURA 2C; 2D; 2E**), *L. schaueriana*^[12], *C. conduplicatus* (dados não publicados), *C. sonderianus*^[18] e *C. campestris*^[15] e as pesquisas relacionadas ao cultivo foram estabelecidos com as espécies *L. grata* ^[11] (**FIGURA 2F; 2G**) e *C. campestris* ^[15].

A espécie *L. grata* apresentou como componentes majoritários o carvacrol (76,8 \pm 0,32%), seguido do timol (6,98 \pm 0,36%) e p-cimeno (2,55 \pm 0,10%). No estudo realizado, foram identificados, cerca de, 97% dos constituintes dos OEs, sendo a maioria (87%) representada por monoterpenos^[11].

FIGURA 2: Processo de extração de óleo essencial, propagação vegetativa e cultivo da *L. grata*.



Legenda: FIGURA 2A;B: Óleo essencial de *L. grata*; FIGURA 2C: Propagação vegetativa de *L. grata*; FIGURA 2D: Estacas subapicais de *L. grata* enraizadas em tubetes contendo vermiculita; FIGURA 2E: Detalhes das estacas de *L. grata* enraizadas; FIGURA 2F: Cultivo de *L. grata* em função da adubação organomineral e presença de irrigação; FIGURA 2G: Cultivo de *L. grata* em função de diferentes lâminas de irrigação.

Em relação à atividade antimicrobiana do óleo essencial de *L. grata* frente aos microrganismos avaliados, os resultados obtidos estão sendo reportados pela primeira vez. A ação foi igual ou superior aos antibióticos utilizados como referências para todos os patógenos avaliados. Para *E. coli* e *S. aureus*, a menor Concentração Inibitória Mínima (CIM - $\mu\text{L mL}^{-1}$) foi de $0,625 \mu\text{L mL}^{-1}$, enquanto, para o sulfato de gentamicina foi de $0,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ para *E. coli* e $8,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ para *S. aureus*. Em relação a *C. albicans* e *A. niger*, a menor CIM também foi de $0,625 \mu\text{L mL}^{-1}$ em comparação a $4,0 \mu\text{L mL}^{-1}$ de Anfericina B (TABELA 3).

TABELA 3: Concentração Inibitória Mínima (CIM $\mu\text{L.mL}^{-1}$) do óleo essencial de *Lippia grata* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

| Substâncias | CIM ($\mu\text{L.mL}^{-1}$) | | | |
|------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>S. aureus</i> ATCC 6538 | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>A. niger</i> ATCC 16404 |
| Óleo essencial | 0,625 a | 0,625 a | 0,625 a | 0,625 a |
| Sulfato de gentamicina | 0,500 a | 8,000 b | Não ensaiado | Não ensaiado |
| Anfericina B | Não ensaiado | Não ensaiado | 4,000 b | 4,000 b |

(Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knot - α 5%)

Para a espécie *L. schaueriana*, os resultados da composição química do óleo essencial também já foram reportados^[16]. Os compostos: óxido de piperitona (49,60%), limoneno (16,69%), espatulenol (5,83%) e piperitona (2,26%) foram registrados como os majoritários para essa espécie^[16].

Os resultados obtidos nos ensaios antimicrobianos também estão sendo apresentados pela primeira vez. Esses revelaram como CIM os valores de 2,5 e 5,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ para *E. coli* e *E. aureus*, quando comparados à 2,0 e 16,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ ao Sulfato de gentamicina. Para *C. albicans* e *A. niger*, os resultados da CIM foram de 0,625 e 0,312 $\mu\text{L mL}^{-1}$ frente a 2,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de Anfericina B (**TABELA 4**).

TABELA 4: Concentração Inibitória Mínima (CIM $\mu\text{L.mL}^{-1}$) do óleo essencial de *Lippia schaueriana* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*.

| Substâncias | CIM ($\mu\text{L.mL}^{-1}$) | | | |
|------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------|----------------------------|
| | <i>E. coli</i> ATCC 25922 | <i>S. aureus</i> ATCC 6538 | <i>C. albicans</i> ATCC 10231 | <i>A. niger</i> ATCC 16404 |
| Óleo essencial | 2,5 a* | 5,0 a | 0,625 a | 0,312 a |
| Sulfato de gentamicina | 2,0 a | 16,000 b | Não ensaiado | Não ensaiado |
| Anfericina B | Não ensaiado | Não ensaiado | 2,000 b | 2,000 b |

(Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knot - α 5%)

Quanto as espécies *C. conduplicatus*, *C. sonderianus* e *C. campestris*, os resultados da composição química do óleo essencial revelaram as substâncias espatulenol, 1,8-cineol, biciclogermacreno, óxido de cariofileno oxide, α -pineno, (*E*)-cariofileno, 4-terpineol, *p*-cimeno, D-germacreno D, limoneno, α -felandreno como compostos majoritários^[7,15,17].

Para a espécie *C. conduplicatus*^[7] também foram realizados testes com o óleo essencial para verificação da atividade antioxidante e os possíveis mecanismos de ação envolvidos nos efeitos neurofarmacológicos^[9], além da atividade antinociceptiva^[8]. Em relação ao potencial antioxidante, os autores verificaram um efeito inibitório significativo do óleo essencial da espécie sobre os radicais livres ABTS, o que levou a conclusão que o *C. conduplicatus* é uma fonte natural de antioxidantes e que suas folhas podem agir como inibidores ou eliminadores de radicais livres^[7].

Quanto a atividade antinociceptiva e os efeitos neurofarmacológicos, os estudos revelaram a ação do óleo essencial na redução do comportamento nociceptivo e mostraram seus efeitos sedativo e ansiolítico. Nesse caso, os autores reportaram que o *C. conduplicatus* revelou-se como um analgésico natural e seu óleo essencial pode ser um produto natural multi-alvo, uma vez que apresenta efeito antinociceptivo, atividades ansiolíticas e sedativas^[8,9].

Em relação às pesquisas voltadas à domesticação dessas espécies nativas identificadas como potenciais para a produção de fitomedicamentos, os resultados obtidos foram bem interessantes. Há décadas tem sido amplamente reportado e discutido pela comunidade científica, a diversidade de fatores que exercem influência direta na propagação vegetativa e produção de mudas^[19-21], bem como no cultivo de plantas medicinais^[22,23].

Entre os fatores investigados, como época de coleta e tipo de estacas, substrato, e concentração de auxina sintética, foi possível demonstrar a diferença na propagação entre as espécies e a discrepância dos resultados, mesmo considerando as espécies do mesmo gênero. A *L. grata* não apresentou dificuldades para a produção de mudas quando são utilizadas estacas medianas ou subapicais, colocadas em substratos comerciais como vermiculita expandida ou plantmax[®]. Para essa espécie, não há necessidade do uso de auxinas sintéticas para indução de raízes adventícias^[10,13,14].

Quanto à espécie *L. schaueriana*, o primeiro estudo realizado mostrou que, apesar de ter ocorrido o enraizamento de estacas^[12], outras pesquisas ainda devem ser realizadas a fim de melhor elucidar a influência dos fatores endógenos e exógenos durante o seu processo de propagação assexuada, principalmente no tocante às doses de auxina sintética para obtenção de maior taxa de enraizamento.

As espécies *C. conduplicatus*, *C. sonderianus* e *C. campestris* também se comportaram de maneira diferente em relação aos fatores investigados no processo de propagação vegetativa e produção de mudas. A espécie *C. conduplicatus* não apresentou raiz em nenhuma das condições estudadas (dados não publicados). Para as espécies *C. campestris* e *C. sonderianus*, houve o enraizamento das estacas^[15,18].

Além dos aspectos agronômicos é importante também ressaltar o aspecto químico das plantas medicinais, considerando que são as substâncias bioativas produzidas pelo metabolismo secundário das plantas que determinam em grande parte o seu potencial terapêutico e consequentemente o sucesso da produção de fitomedicamentos ou fitoterápicos, sendo relevante considerar que a intensidade ou diminuição dos compostos de interesse medicinal é determinada durante o processo produtivo da planta.

Neste contexto, sabe-se que inúmeros fatores influenciam na produção desses princípios ativos, como os de ordem genética, que são transmitidos entre gerações, além de fatores abióticos como: temperatura, água, luz, altitude, latitude, tipo de solo, local de plantio, época e horário de colheita^[22,23], entre outros, os quais devem ser ajustados de modo a garantir o máximo de integridade das propriedades medicinais que essas espécies possuem.

Para o cultivo de *L. grata* no Submédio do Vale do São Francisco, os autores concluíram que a adubação organo-mineral e a irrigação influenciaram a produção de biomassa e teor de óleo essencial, porém não afetaram a sua composição química^[11]. Quanto a espécie *C. campestris*, houve diferenças no rendimento e composição química do óleo essencial, quando foi cultivada em diferentes tratamentos para adubação organomineral em condições de clima semiárido^[15].

Esta é a primeira vez que está sendo relatada a atividade antimicrobiana do óleo de *L. grata* frente a *A. niger* e também de modo inédito a expressiva atividade antibacteriana do óleo essencial dessa espécie na ordem de $0,62 \mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$. Anteriormente, foi descrito a atividade bactericida moderada do óleo essencial desta espécie com 54.4 % de carvacrol, 10.7% p-cymene e 1.8% de timol frente a *E. coli* e *S. aureus*^[24] e resultados obtidos em outros trabalhos com óleo essencial de *L. grata*, rico em timol e carvacrol na proporção 2:1, mostraram que a concentração inibitória mínima (CIM) variou de $64\text{-}512 \mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$ frente a linhagens resistentes de *E. coli* e *S. aureus* respectivamente, sendo que o óleo extraído de folhas frescas foi mais ativo do que o extraído de folhas secas^[25].

Os resultados discrepantes reportados quanto à atividade antimicrobiana do óleo essencial de *L. grata* entre os trabalhos avaliados e os apresentados no presente estudo, deve-se principalmente aos quimiotipos estudados, além do local de procedência do material avaliado, uma vez que há variações expressivas quanto ao teor dos componentes majoritários, bem como a proporção entre estas substâncias. Outra razão pode estar relacionada às amplas variações na presença e quantidade dos compostos minoritários que podem agir sinergicamente com os majoritários e, portanto, interferir diretamente na atividade antimicrobiana.

O gênero *Lippia* encontra-se entre os mais representativos da família Verbenaceae e reúne numerosas espécies de ampla ocorrência nos diferentes biomas do Brasil. *L. grata* é uma espécie aromática, considerada própria da vegetação do semiárido nordestino, utilizada de modo significativo pela população local com diversas finalidades, mas, principalmente medicinal^[26]. A composição dos seus óleos essenciais possui elevados teores de timol e carvacrol, que são compostos que apresentam significativa atividade antimicrobiana, frente à diversos microrganismos de importância agrícola, médica e veterinária^[27-31].

Como comentado anteriormente, esta também é a primeira vez que são apresentados resultados sobre o potencial antimicrobiano do óleo essencial da *L. schaueriana*. Embora esta espécie seja uma fonte promissora de matéria prima para a produção de fitomedicamentos ou fitoterápicos, até o momento, uma única pesquisa foi realizada em relação à composição química do óleo essencial^[16] e estudos preliminares para a produção de mudas^[12].

Neste contexto, e, considerando o endemismo da espécie, a elucidação da composição química do seu óleo essencial representa significativa contribuição para a comunidade científica, uma vez que esta pesquisa poderá servir de subsídio para outros estudos de diversas áreas da ciência. A partir desses resultados, estudos químicos, agrônômicos e farmacêuticos poderão ser realizados.

Os compostos presentes em seu óleo essencial, como o óxido de piperitona e rotundifolona também são as substâncias majoritárias do óleo essencial de *Mentha villosa*^[32,33]. Em um acesso de *M. rotundifolia*, a concentração de óxido de piperitona no óleo essencial chegou a 80%^[34] e foi utilizado para definir quimiotipos de *M. pulegium*^[35]. Dentre diversos quimiotipos de menta já relatados, alguns também apresentam o óxido de piperitona como composto majoritário do óleo essencial^[36]. Este composto é potencialmente responsável por efeitos cardiovasculares, agentes antibacterianos e antifúngicos, repelentes e retardadores da reprodução do vetor da malária (*Anopheles stephensi*)^[37]. Além do efeito no controle de protozoários parasitas intestinais, também apresenta relevante atividade antimicrobiana, fungicida e inseticida, o que lhe confere interessante potencial para o controle alternativo de pragas^[21,30].

Em relação às espécies de *Croton* spp. estudadas até o momento, os compostos encontrados e reportados neste relato de experiência, corroboram com os resultados apresentados para outras diversas espécies do gênero^[38-41]. A esses são atribuídos efeito antimicrobiano^[42], gastroprotetor^[43,44], antinociceptivo^[8] e broncodilatador^[45], dentre outros.

Informações sobre a ação terapêutica, a química e a farmacologia do gênero foram compiladas e ficou evidente sua diversidade quanto à síntese de metabólitos secundários como alcalóides, terpenóides e flavonóides ^[40,41]. Contudo, outras pesquisas nessas áreas ainda são necessárias, devido à essa magnitude e à complexidade dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas.

Conclusão

As informações e resultados apresentados neste relato de experiência, sobre algumas plantas medicinais nativas da Caatinga, comprovam a importância que esse bioma representa como fonte de novas moléculas de interesse farmacêutico. A presença de elevados teores dos compostos majoritários com atividade terapêutica nas espécies já estudadas confirmam seu potencial para produção de fitomedicamentos.

Todavia, os estudos ainda são incipientes e permitem inferir sobre a necessidade de intensificar pesquisas, principalmente na área agrônômica, a fim de elucidar de maneira mais precisa, a influência dos diversos fatores na domesticação dessas espécies silvestres.

A partir da comprovação científica do efeito terapêutico e do desenvolvimento de sistemas de cultivo e produção das plantas medicinais nativas da Caatinga, poderão ser estabelecidas cadeias produtivas com maior agregação de valor à biodiversidade desse ecossistema, bem como atividades voltadas à produção sustentável. A geração de emprego e renda pode ser citado entre os inúmeros benefícios inerentes a esse processo.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Dr. Flávio Pimentel (ex-pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical – *In memorian*) e à pesquisadora da Embrapa Semiárido Dr^a Lúcia Helena P. Kiill.

Referências

1. Maia GN. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. 1^a ed. - São Paulo: D&Z Computação Gráfica e Editora, 2004.
2. Freire NCF, Moura DC, Silva JB, Moura AS, Melo JIM, Pacheco AP. **Atlas das caatingas - o único bioma exclusivamente brasileiro**. Recife; 2018. Recife - Fundação Joaquim Nabuco, Ed. Massangana, 2018. p.200. ISBN: 978-85-7019-679-8.
3. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, DF; (Série B. Textos Básicos de Saúde). 2006, 60p. ISBN 85-334-1092-1. [\[Link\]](#).
4. Kiill LHP, Souza AV, Azevedo SG, Silva NGB, Bispo LP, Santos JTL. **Levantamento de plantas nativas da Caatinga como potencial medicinal e aromático em comunidades do Território Sertão do São**

Francisco. In: Dias TAB, Almeida JSSE, Udry MCFV. (Ed.). Diálogos de saberes: relatos da Embrapa. Brasília, DF; 2016. Embrapa/ Semiárido. [\[Link\]](#).

5. Adams RP. Identification of essential oil components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. 4^a ed. USA; 1995. **Allured Publish Corpor Carol Stream**.

6. Van Den DH, Kratz P. Dec. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **J Chromatog**. 1963; 11: 463-471. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).

7. Almeida JRGS, Souza AVV, Oliveira AP, Santos US, Souza MD, Bispo LP *et al*. Chemical composition of essential oils from *Croton conduplicatus* (Euphorbiaceae) in two different seasons. **J Essent Oil-Bearing PI**. 2015; 17: 1137-1145. [\[CrossRef\]](#).

8. Oliveira Jr RG, Ferraz CAA, Silva JC, Oliveira AP, Diniz TC, Silva MG *et al*. Antinociceptive effect of the essential oil from *Croton conduplicatus* Kunth (Euphorbiaceae). **Molecules**. 2017 May; 22(6): 900. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).

9. Oliveira Jr RG, Ferraz CAA, Silva JC, Teles RBA, Silva MGE, Diniz TC *et al*. Neuropharmacological effects of essential oil from the leaves of *Croton conduplicatus* Kunth and possible mechanisms of action involved. **J Ethnopharmacol**. 2018 Jul; 15; 221: 65-76. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).

10. Souza AVV, Santos US, Souza MD, Souza DD, Bastos DC. Efeito da época de coleta e concentração de auxina no enraizamento de estacas de *Lippia gracilis* Schauer. **Rev Bras PI Med**. 2016; 18(3): 699-707. [\[CrossRef\]](#).

11. Souza AVV, Santos US, Corrêa RM, Souza DD, Oliveira FJ. Essential oil content and chemical composition of *Lippia gracilis* Schauer Cultived in the Sub-meddle São Francisco Valley. **J Essent Oil Bearin PI**. 2017; 20(4): 983-994. ISSN 0976-5026. [\[CrossRef\]](#).

12. Souza AVV, Carvalho JRS, Costa ESS, Oliveira FJV, Santos US. Produção de mudas de lipia da serra (*Lippia schaueriana* Mart.) via propagação vegetativa. **Rev Bras PI Med**. 2018; 20:281-287.

13. Souza AVV, Costa ESS, Carvalho JRS, Souza DD, Oliveira FJV. Substrato, concentração e tempo de permanência de estacas em ácido indol butírico na propagação vegetativa de *Lippia grata* Schauer. Petrolina; 2022. **Boletim de Pesquisa - Embrapa Semiárido**.

14. Souza AVV, Kiill LHP. Como produzir mudas de alecrim-do-mato (*Lippia grata* Schauer Verbenaceae). Petrolina; 2018. **Instrução Técnica – Embrapa Semiárido**.

15. Barbosa BDR. **Propagação, cultivo, rendimento e composição química do óleo essencial de *Croton campetris* A. St.-Hil.** 78f. Feira de Santana. 2020. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais] - Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS, Feira de Santana-BA. 2020. [\[Link\]](#).

16. Souza AVV, Santos US, Carvalho JRS, Barbosa BDR, Canuto K, Rodrigues THS. Chemical Composition of Essential Oil of Leaves from *Lippia schaueriana* Mart. Collected in the Caatinga Area. **Molecules**. 2018; 23. [\[CrossRef\]](#).

17. Souza AVV, Britto D, Santos US, Bispo LP, Turatti ICC, Lopes NP *et al*. Influence of season, drying temperature and extraction time on the yield and chemical composition of 'marmeleiro' (*Croton sonderianus*) essential oil. **J Essent Oil Res**. 2016. ISSN 2163-8152. [\[CrossRef\]](#).

18. Carvalho JRS. **Propagação vegetativa de (*Croton sonderianus* Baill) sob diferentes concentrações e tempo de exposição em AIB.** Petrolina; 2017. TCC. Universidade de Pernambuco.

19. Gaspar T, Hofinger M. Auxin metabolism during adventitious rooting. In: Davis TD, Haissig BE, Sankhla N. (Eds.). **Adventitious root formation in cuttings**. Portland: Dioscorides Press, 1988; vol. 62: 117-31. ISBN: 978-1-4757-9494-6. [[CrossRef](#)].
20. Hartmann HT, Kester DE, Davies FT, Geneve RL. **Plant propagation: principles and practices**. 7^a ed. New Jersey: Prentice Hall, 2002. 880p.
21. Ono E, Rodrigues JD. **Aspectos da fisiologia do enraizamento de estacas caulinares**. Jaboticabal: FUNEP, 1996. 83p.
22. Biasi LA, Deschamps C. **Plantas aromáticas: do cultivo à produção de óleo essencial**. Curitiba; 2009.
23. Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas Medicinais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. **Quim Nova**. 2007; 30(2): 374-381. [[CrossRef](#)].
24. Pessoa ODL, Carvalho CBM, Silvestre JOVI, Lima MCL, RM, Matos FJA *et al*. Antibacterial activity of the essential oil from *Lippia aff. gracillis*. **Fitoterapia**. 2005; 76: 712–714. [[CrossRef](#)].
25. Bitu V, Botelho MA, Costa JG, Rodrigues FF, Veras HN, Martins KT *et al*. Phytochemical screening and antimicrobial activity of essential oil from *Lippia gracillis*. **Braz J Pharmacogn**, 2012; 22(1): 69-75. [[CrossRef](#)].
26. Lorenzi H, Matos FJA. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2^a ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 544 p.
27. Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Sánchez MM, Villar A. *Lippia*: Traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. **J Ethnopharmacol**. 2001 Aug; 76(3): 201-214. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)].
28. Albuquerque UP, Medeiros PM, Almeida ALS, Monteiro JM, Lins Neto EMF, Melo JG *et al*. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **J Ethnopharmacol**. 2007 Dec; 114(3): 325-354. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)].
29. Oliveira OR, Terao D, Carvalho ACPP, Innecco R, Albuquerque CC. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Rev Ciênc Agron**. 2008; 39(1): 94-100. ISSN 1806-6690. [[Link](#)].
30. Silva WJ, Dória GAA, Maia RT, Nunes RS, Carvalho GA, Blank AF *et al*. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresour Technol**. 2008; 99: 3251-3255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
31. Mendes SS, Bomfim ARR, Jesus HCR, Alves PB, Blank AF, Estevam CS *et al*. Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. **J Ethnopharmacol**. 2010; 129(3):391-397. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)].
32. Lima TC, Silva TK, Silva FL, Barbosa-Filho JM, Marques MO, Santos RL *et al*. Larvicidal activity of *Mentha × villosa* Hudson essential oil, rotundifolone and derivatives. **Chemosphere**. 2014; 104:37-43. [[CrossRef](#)].
33. Teles S, Pereira A, Santos CHB, Menezes RV, Malheiro R, Luchese AM *et al*. Effect of geographical origin on the essential oil content and composition of fresh and dried *Mentha × villosa* Hudson leaves. **Indust Crops Prod**. 2013; 46: 1-7. [[CrossRef](#)].
34. Dias GOC, Morel AF, Ilha V. Isolation and Identification of the Main Chemical Constituent of the Essential Oil of *Mentha rotundifolia* (L.) Huds and Its Possible Applications. Goiânia; 2011. **Anais 63^a - Reunião da SBPC**.

35. Cook CM, Maloupa E, Kokkini S, Lanaras T. Differences between the inflorescence, leaf and stem essential oils of wild *Mentha pulegium* plants from zakynthos, greece. **J Essent Oil Res.** 2007; 19(3): 239-243. ISSN 1041-2905. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
36. Damien Dorman HJ, Kosar M, Kahlos K, Holm Y, Hiltunen R. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from mentha species, hybrids, varieties and cultivars. **J Agric Food Chem.** 2003; 51(16): 4563-4569. [[CrossRef](#)][[PubMed](#)].
37. Tripathi AK, Prajapati V, Ahmad A, Aggarwal KK, Khanuja SPS. Piperitenone oxide as toxic, repellent, and reproduction retardant toward malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera: Anophelinae). **J Med Entomol.** 2004; 41(4): 691-8 [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
38. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oil: a review. **Food Chem Toxicol.** 2008; 46(2): 446-75. [[CrossRef](#)].
39. Gomes LC. **Estudo químico de *Croton muscicarpa* e *Croton glutinosus* Müll. Arg (Euphorbiaceae).** Fortaleza. 2015. 100f. Dissertação de Mestrado [em Química] – Universidade Federal do Ceará, UFCE, Fortaleza, 2015.
40. Salatino A, Salatino MLF, Negri G. Traditional uses, Chemistry and Pharmacology of Croton species (Euphorbiaceae). **J Braz Chem Socie.** 2007; 18: 11-33. [[CrossRef](#)].
41. Hill AP, Dominicus ME, Mayor J, Oquendo M, Sarduy R. Tamizaje fitoquímico preliminar de especies del género Croton L. **Rev Cubana Farm.** 2001; 35(3): 203-6. ISSN 1561-2988. [[Link](#)].
42. Lima IO, Oliveira RAG, Lima EO, Souza EL, Farias NP, Navarro DF. Inhibitory effect of some phytochemicals in the growth of yeasts potentially causing opportunistic infections. **Braz J Pharm Sci.** 2005; 41(2): 199-203. [[CrossRef](#)].
43. Celedonio NR. Efeitos do óleo essencial de *Croton argyrophyloides* nas lesões gástricas induzidas por etanol e indometacina em camundongos. **Cad Cult Ciên.** 2015; 13(2). [[CrossRef](#)].
44. Rozza AL, Moraes TM, Kushima H, Tanimoto A, Ortiz M, Marques M *et al.* Gastroprotective mechanisms of *Citrus lemon* (Rutaceae) essential oil and its majority compounds limonene and β -pinene: Involvement of heat-shock protein-70, vasoactive intestinal peptide, glutathione, sulfhydryl compounds, nitric oxide and prostaglandin E2. **Chem Biol Interact.** 2011; 189(1-2): 82-89. [[CrossRef](#)].
45. Hirota T, Lee JW, Lewis WG, Zhang EE, Breton G, Liu X, *et al.* HighThroughput Chemical Screen Identifies a Novel Potent Modulator of Cellular Circadian Rhythms and Reveals CK1 α as a Clock Regulatory Kinase. **PLoS Biol.** 2010; 8(12): e1000559. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 28/06/2021 | Aceite: 14/02/2022 | Publicação: 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Souza AVV, Hernandez C, Souza DD, Costa ESS *et al.* Bioprospecção de plantas da Caatinga com potencial para produção de fitomedicamentos. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 212-226. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1283>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica: a atuação da REBIFLORA no Litoral do Paraná e Santa Catarina

Bioprospecting and Innovation in the Atlantic Forest: REBIFLORA's performance on the coast of Paraná and Santa Catarina

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1241>

Silva, Luiz Everson^{1*}; Dotto, Ana Rafaela Freitas¹; Rebelo, Ricardo Andrade².

¹Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Litoral. Rua Jaguariaíva, 512, Caiobá, CEP 83260-000, Matinhos, PR, Brasil.

²Fundação Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Química. Laboratório de Pesquisa T-313, Rua Antônio da Veiga, 140, Victor Konder, CEP 89012-900, Blumenau, SC, Brasil.

*Correspondência: luiever@gmail.com.

Resumo

Nos processos de regulação das relações entre a sociedade, os sistemas socioculturais, natureza e o meio ambiente, a gestão de recursos naturais surge como sendo um elemento essencial. Nesta esteira, a perda da diversidade biológica torna-se então um problema crítico para a existência humana, devido ao fato que a extinção de espécies é irreversível representando a perda de um genoma que é único. Estudos para conhecimento das espécies nativas com potencial terapêutico ganham grande relevância. Nesta abordagem encontram-se as pesquisas com extratos e óleos essenciais de espécies nativas. Conhecer a composição química e possíveis atividades biológicas, relacionadas com os extratos e constituintes voláteis advindos de recursos naturais nativos, amplia a possibilidade de criação de protocolos de uso sustentável da biodiversidade. Neste artigo abordou-se a constituição da REBIFLORA – Rede de Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica, sua atuação nos estados do Paraná e Santa Catarina, visando contribuir para o entendimento acerca da composição química e a atividade biológica, relacionadas às espécies nativas e potencialidade de agregar valor aos produtos da biodiversidade.

Palavras-chave: Bioprospecção. Atividades biológicas. Desenvolvimento de produtos.

Abstract

In the processes of regulating the relationships between society, sociocultural systems, nature, and the environment, natural resource management emerges as an essential element. In this vein, the loss of biological diversity then becomes a critical problem for human existence, due to the fact that the extinction of species is irreversible representing the loss of a genome that is unique. Studies for the knowledge of native species with therapeutic potential gain great relevance. In this approach are the researches with extracts and essential oils

of native species. Knowing the chemical composition and possible biological activities related to the extracts and volatile constituents coming from native natural resources, expands the possibility of creating protocols for the sustainable use of biodiversity. In this article we will address the constitution of REBIFLORA - Network of Bioprospecting and Innovation in the Atlantic Forest, its activities in the states of Paraná and Santa Catarina aiming to contribute to the understanding about the chemical composition and biological activities related to native species and the potential to add value to biodiversity products.

Keywords: Bioprospecting. Biological activities. Product development.

Introdução

A biodiversidade tem sido reconhecida como um dos elementos centrais para o desenvolvimento e bem da humanidade, sendo ainda imensamente responsável pelo equilíbrio ambiental. Ainda que apenas uma parcela dos seus componentes tenha sido estudada e muitos dos seus benefícios ainda não sejam totalmente conhecidos, valoriza-se cada vez mais a capacidade que a mesma tem de gerar benefícios socioeconômicos, grande parte, devido ao seu potencial como matéria-prima para diferentes campos do conhecimento, como o ramo farmacêutico e diversos setores da indústria^[1].

Por outro lado, a área denominada desenvolvimento se apresenta em um estágio inicial como novo campo interdisciplinar de pesquisas referentes ao meio ambiente. Debruça-se em torno do agravamento dos conflitos ambientais e das questões que envolvem as formas usuais de gestão das relações entre a sociedade e a natureza. Contudo, para que esse potencial possa ser adequadamente estudado se faz necessário, garantir a manutenção e disponibilidade destes recursos no meio em que estão inseridos. É, portanto, fundamental a implementação de mecanismos de conservação ambiental (entendida como uso racional dos recursos, de modo que estes não corram riscos de extinção) e novos modelos de desenvolvimento sustentáveis tem atraído o olhar dos pesquisadores, instituições e governos^[1].

Cavalcanti *et al.*^[2] nos alerta para os desmandos advindos de um capitalismo insustentável, no qual a natureza é percebida como uma fornecedora de recursos e, ao mesmo tempo, como um esgoto de infinita capacidade de absorção de dejetos, não sendo compatível com os ciclos de materiais do ecossistema. Afirmar ainda, que não se pode ter sustentabilidade dessa forma e que um modelo sustentável tem que se basear em fluxos dentro da sociedade e ajustados juntamente aos ciclos naturais.

Vale ressaltar que, para sobreviver como um modo de produção, o capitalismo sofre processos de acumulação e se expande continuamente, apropriando-se da natureza, transformando a mesma em meio de produção de escala mundial e a relação do homem com a natureza passa a ser de valor de troca. É o destino da natureza se dá a partir do preço colocado nas etiquetas dos produtos comercializados. Marx afirma que o crescimento econômico se tornou uma necessidade social absoluta, tornando o domínio pela natureza algo igualmente necessário, gerando a partir disso, a acumulação de capital^[3].

Contudo, nos processos de regulação das relações entre a sociedade, sistemas socioculturais, natureza e o meio ambiente, a gestão de recursos naturais surge como sendo um elemento essencial^[4]. Nesta esteira, a perda da diversidade biológica torna-se então um problema crítico para a existência humana, devido ao fato que a extinção de espécies é irreversível representando a perda de um genoma que é único. Neste sentido, é importante reconhecer que as ciências que tratam da biodiversidade são prioritárias, independentemente da

posição econômica do país. Assim, faz-se necessária a formulação de estratégias de conservação, domesticação e desenvolvimento de pesquisas com espécies nativas, no sentido de garantir que a pressão sofrida pelo extrativismo seja substituída por uma gestão agrícola e manejo sustentável^[5].

Mesmo diante da vasta biodiversidade existente no Brasil e mesmo tendo grande potencial para estudo e conhecimento de novas possibilidades na questão dos recursos genéticos, o país ainda se posiciona como exportador de matéria-prima. Por isso, é imprescindível que a inovação científica e tecnológica propicie avanços, no sentido de agregar valor aos produtos da biodiversidade brasileira e, desta forma, fazer-se uso destes ativos, garantindo a soberania e vanguarda de nossa nação.

Sabe-se que o mercado de fitoterápicos tem aumentado cada vez mais, e as pesquisas referentes ao uso de plantas na produção de medicamentos, composição química das espécies nativas e possíveis atividades biológicas ainda precisam ser intensificadas para que essa riqueza de espécies se torne uma fonte de oportunidades^[6].

Diante desses fatos, estudos para conhecimento das espécies nativas com potencial terapêutico ganham grande relevância. Nesta abordagem encontram-se as pesquisas com extratos e óleos essenciais de espécies nativas. Conhecer a composição química e possíveis atividades biológicas relacionadas com os extratos e constituintes voláteis advindos de recursos naturais nativos amplia a possibilidade de criação de protocolos de uso sustentável da biodiversidade.

A noção de desenvolvimento sustentável representa uma alternativa ao conceito de crescimento econômico, indicando que, sem a natureza, nada pode ser produzido de forma sólida. Evidentemente, o ponto preciso onde a economia se localizará depende de considerações morais atinentes aos interesses de gerações presentes e futuras^[7].

Neste artigo abordou-se a constituição da REBIFLORA – Rede de Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica, sua atuação nos estados do Paraná e Santa Catarina, visando contribuir para o entendimento acerca da composição química e as atividades biológicas relacionadas às espécies nativas e potencialidade de agregar valor aos produtos da biodiversidade^[8].

A Mata Atlântica

O Brasil é considerado um país que abriga imensa diversidade biológica, possuindo extenso número de espécies da fauna e flora. Dentro do seu território, o bioma Mata Atlântica é considerado um dos maiores repositórios de biodiversidade do planeta, além de apresentar alto grau de endemismo^[9]. Apesar da acentuada destruição e exploração de seus recursos no início do século XVI, a Floresta Atlântica continua sendo uma das mais ricas no quesito biodiversidade, jamais vistos em outros biomas^[10].

Ocupava originalmente uma área correspondente a cerca de 12% do território brasileiro. Embora, hoje, se apresente com apenas cerca de 8% (de sua área original e de maneira fragmentada), esse bioma possui grande importância social e ambiental, além de preservar importante patrimônio natural e cultural^[11].

Com elevada riqueza de espécies tanto de fauna, como flora, os altos níveis de exploração e com a pequena parcela de floresta original ainda existente, o bioma Mata Atlântica foi incluído entre as áreas prioritárias para conservação ambiental, que abriga imensa biodiversidade, estando a mesma ameaçada em alto grau, a isto

se denomina *hotspot* de biodiversidade^[12]. Diante da contínua ocupação humana e sistemática destruição das florestas, muitas espécies desapareceram de seus habitats originais antes mesmo de serem descobertas^[13].

Considerando a grande biodiversidade e o potencial biológico, econômico e social da Floresta Atlântica, registra-se a necessidade de conservar a grande biodiversidade ainda existente. Levando em consideração o valor das plantas medicinais não somente no uso terapêutico, mas, também, como recurso econômico, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo ou cultivo, tendo em vista a utilização dessas espécies vegetais pelo homem aliada à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas.

Bioprospecção e Uso de Recursos Naturais

A bioprospecção é definida, pela Medida Provisória nº 2.186-16 de 2001, como sendo a “atividade exploratória que visa identificar componente do patrimônio genético e informação sobre conhecimento tradicional associado, com potencial uso comercial”^[14].

Dean^[13] afirmou de maneira geral, que a bioprospecção é uma atividade entranhada na cultura brasileira. Registros indicam que os índios utilizavam plantas para a construção de moradias e de canoas antes da chegada dos portugueses, usavam ainda, outras plantas medicinais para alívio das doenças. Com a chegada dos colonizadores portugueses, franceses e holandeses, as atividades de bioprospecção se intensificaram.

Mamede^[15] expôs alguns pontos positivos de atrelar os conhecimentos tradicionais com a bioprospecção:

O descobrimento de substância de origem vegetal com aproveitamento médicos e industriais; novas aplicações para substâncias já utilizadas; estudo das drogas vegetais e seu efeito no desempenho individual e coletivo dos usuários frente a determinados estímulos culturais ou ambientais; reconhecimento e a preservação de plantas potencialmente importantes em seus respectivos ecossistemas; histórico do conhecimento tradicional e dos complexos sistemas de manejo e conservação dos recursos naturais dos povos tradicionais; agenciamento de programas para o desenvolvimento e preservação dos recursos naturais dos ecossistemas tropicais e a descoberta de importantes cultivares manipulados tradicionalmente^[15].

Dentro dessa ótica, a bioprospecção contribui para melhorar as capacidades nacionais, agregando valor aos recursos para que sejam utilizados de maneira sustentável. Gerando a oportunidade de conservar a biodiversidade e preservar a sociobiodiversidade, além de promover o desenvolvimento dos países que detém tais recursos^[16].

Cabe ressaltar que, a partir do momento em que ocorrer a agregação de um justo valor à biodiversidade, proporcional à sua importante utilidade, desencadeará um maior apreço e incentivo à preservação da mesma. E, considerando-se o valor que plantas como as medicinais apresentam, não apenas como recurso terapêutico, mas também como fonte de recurso econômico, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas para o desenvolvimento de técnicas de manejo e cultivo, tendo em vista a utilização dessas espécies vegetais pelo homem, aliada à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas. Ainda com isso, há a possibilidade de propagação e cultivo das espécies, para obtenção de renda de famílias que vivem em regiões rurais, por exemplo^[17].

Diante do exposto, nota-se a importância de estudos de bioprospecção, para o desenvolvimento de novas tecnologias. No entanto, existe também a preocupação com a exploração destes recursos sem o devido conhecimento, acarretando em uma perda de biodiversidade. Por isso, torna-se importante destacar

maneiras de gerar o desenvolvimento sustentável em torno de medicamentos e novas tecnologias providas de espécies nativas, mantendo sempre o foco no ecodesenvolvimento e com níveis mínimos de degradação da natureza, sabendo respeitar os limites de regeneração natural, para que não gere impactos para a população atual e futura.

Além da riqueza natural e dos conhecimentos advindos dos povos, o Brasil possui algumas vantagens, como infraestrutura científica, dispondo de recursos humanos e instituições públicas de pesquisa com grande potencial para realizar as atividades de bioprospecção. Ainda, consiste em um grande mercado para os produtos como os da indústria farmacêutica e um importante ativo no comércio agrícola mundial. Porém, ainda que o país apresente todas estas vantagens, os resultados de estudos de bioprospecção são muito singelos, não conseguindo atingir princípios básicos como a exploração de recursos de uma maneira soberana e sustentável.

Acredita-se, portanto, que a bioprospecção pode ser uma importante estratégia para o desenvolvimento econômico do Brasil. Isso porque o país possui recursos naturais e uma megadiversidade que possibilita um patrimônio dos mais ricos do planeta quanto à oferta de materiais genéticos para estudos. Alguns destes materiais, já conhecidos por meio do conhecimento tradicional e científico, poderão auxiliar no desenvolvimento de produtos e de processos, trazendo ganhos em tempo e na redução significativa de custos.

Outros setores também podem se desenvolver no país se houver um modelo institucional bem estruturado, pois a bioprospecção abre um leque de oportunidades para vários setores da economia, desde a construção civil, na qual a biodiversidade serve de modelo para o desenvolvimento de novos materiais, até para o setor de cosméticos e higiene pessoal, alimentação, bebidas, saúde etc. O país possui, para tanto, boa infraestrutura de pesquisa com universidades de renome internacional, instituições de pesquisas públicas nos mais diversos setores, recursos humanos qualificados e reconhecidos no cenário internacional, desenvolvimento nas áreas da biotecnologia, megabiodiversidade e sociobiodiversidade. No entanto, o país ainda não conseguiu criar competências para articular os agentes, para que as práticas de bioprospecção se desenvolvam e tragam benefícios para a sociedade de um modo geral.

REBIFLORA – Rede de Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica

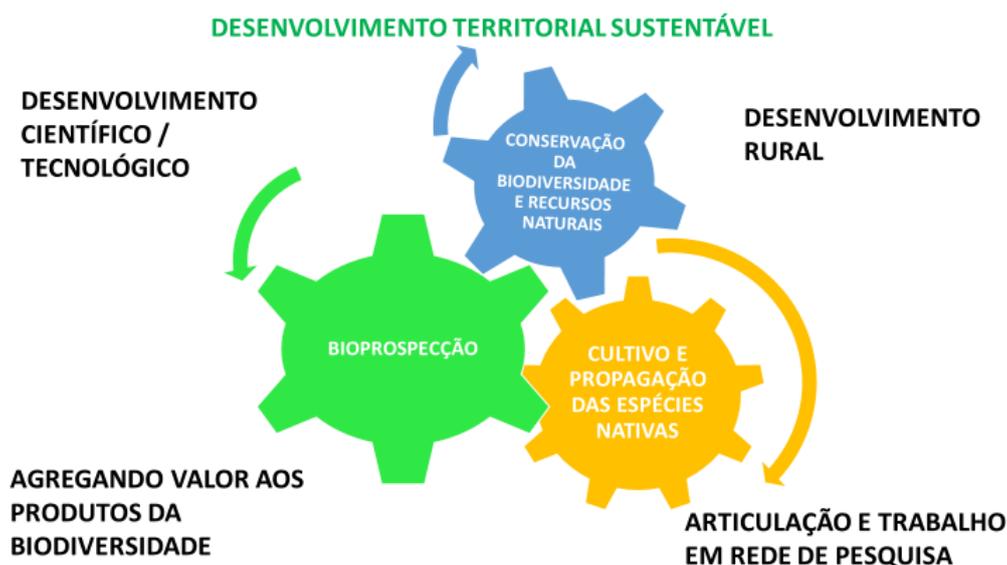
A Rede de Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica – REBIFLORA, constituída a partir do programa de Pós-Graduação do mestrado em Desenvolvimento Territorial Sustentável da Universidade Federal do Paraná – Setor Litoral em 2014, tem como objetivo incrementar a pesquisa em química de produtos naturais, interligando várias áreas de conhecimento no intuito de se promover o fortalecimento da competência científica e formar recursos humanos na região, visando o uso sustentável da biodiversidade vegetal. Nessa perspectiva, são realizados estudos botânicos de bioprospecção e identificação das espécies, atuando nos estudos químicos, agrônômicos e farmacológicos das espécies nativas da Floresta Atlântica. A Rede de Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica têm parcerias científicas, com pesquisadores e instituições nacionais de destaque nas suas áreas de atuação bem como a qualificação desses profissionais para o desenvolvimento do projeto REBIFLORA.

O marco do surgimento da Rede se deu na realização em novembro de 2016 do I Fórum de Pesquisas Sobre Uso Sustentável da Biodiversidade e Conservação de Recursos Naturais. A proposta deste Fórum foi trazer para reflexão dos estudantes, pesquisadores e comunidade, os aspectos conjunturais e analíticos

que traduzam as inquietudes sobre o uso sustentável da biodiversidade e a conservação dos recursos naturais em articulação com o Desenvolvimento Territorial. Neste evento, contamos com a participação do Professor Ulysses Paulino de Albuquerque – Pesquisador 1A do CNPq, colegas do ICMBio, Pesquisadores de Universidades do sul do Brasil, estudantes e pós-graduandos, num total de 80 inscritos: (<http://www.ufpr.br/portalufpr/noticias/ufpr-litoral-promove-forum-sobre-uso-sustentavel-da-biodiversidade-e-conservacao-de-recursos-naturais/>).

A rede se estrutura a partir da articulação em 4 pilares: desenvolvimento rural; desenvolvimento científico e tecnológico; articulação em rede e; desenvolvimento de produtos a partir da biodiversidade (**FIGURA1**).

FIGURA1: Estrutura da Rede de Bioprospecção.



Na perspectiva de trabalho em rede, foram estabelecidas cooperações tecno-científicas nas 4 regiões do Brasil: região norte – Amapá – UNIFAP - Professor Caio Pinho Fernandes no desenvolvimento de materiais nanoestruturados a partir da flora aromática; Na região nordeste com o Professor Henrique DouglasCoutinho – URCA – Cariri – na avaliação de efeitos sinérgicos de óleos essenciais de espécies nativas com antifúngicos e antibióticos. Na região Sudeste, contamos com colaboração da Professora Roberta Piccoli da Universidade Federal de Lavras, na investigação de atividade antimicrobiana aplicada aos alimentos. Na região Sul, colaboramos com a Prof.^a Michele Debiasi e com o Prof. Ricardo Andrade Rebelo da FURB na investigação de ação enzimática de metabólitos voláteis, nominalmente, anticolinérgica e alfa-glicosidase.

É importante destacar que, a constituição da Rede está fundada em fatores Socioeconômicos, Ambientais e Científicos da Pesquisa com Espécies Nativas: Econômicos: desenvolvimento de novos produtos; Científicos: produção de patente e de diversas publicações, contribuindo para o avanço do conhecimento na área. Formação de recursos humanos em níveis de iniciação científica e mestrado, contribuindo para a superação das desigualdades regionais em C&T no país; Sociais: geração de trabalho e renda na indústria de óleos essenciais e na agricultura familiar (cultivo da espécie selecionada, fornecendo matéria prima para a indústria); Ambientais: contribuição para a conservação de espécies através das técnicas de cultivo e

propagação a serem estudadas e da valorização pela comunidade, que tem nas espécies selecionadas uma oportunidade de trabalho e melhoria das condições de vida (uso sustentável de espécies nativas).

Neste sentido, empenhou-se em estudar espécies nativas da Floresta Atlântica do litoral Paranaense e de Santa Catarina. Assim, conduziu-se trabalhos em:

- avaliação do teor, composição química e diversidade dos óleos essenciais das espécies nativas;
- avaliação dos efeitos da sazonalidade na produção e diversidade química do óleo essencial das espécies;
- estudos de similaridade química das espécies;
- investigação do potencial biológico do óleo essencial das espécies por meio de métodos qualitativos e quantitativos;
- testagem em casa de vegetação de métodos de propagação por estaquia das espécies com o uso de diferentes concentrações de fito regulador;
- desenvolvimento de um protocolo de reprodução de espécies potenciais para o cultivo tanto no litoral Paranaense quanto em regiões mais altas em Santa Catarina.

Para onde estamos indo?

Os desafios são muitos, mas motivados pelas parcerias estabelecidas e pela grande possibilidade de geração de tecnologia, renda e produção para agricultores, temos focado nossos esforços em:

1. Mapear populações de plantas medicinais e aromáticas para caracterização da diversidade genotípica e fenotípica;
2. Estabelecer protocolos de desenvolvimento científico e tecnológico da produção, processamento e comercialização de plantas medicinais, plantas aromáticas, bioativos e seus derivados;
3. Avaliar, selecionar e caracterizar plantas de alto valor e seus componentes para produtos primários de alto valor agregado para aplicações industriais.

Neste sentido, estabeleceu-se parceria com a Associação de Preservação do Meio Ambiente e da Vida - APREMAVI. Essa associação conta com uma estrutura privilegiada a começar pelo centro ambiental denominado Jardim das Florestas, localizado na comunidade de Alto Dona Luiza, em Atalanta (SC) equipado com alojamentos, auditório e biblioteca, oferecendo um espaço privilegiado para desenvolver atividades de educação e capacitação ambiental em contato direto com a natureza. O Viveiro Jardim das Florestas é um dos maiores viveiros do sul do Brasil, o berçário é o carro-chefe de APREMAVI com capacidade de produzir cerca de um milhão de mudas por ano, de 200 espécies nativas diferentes da Mata Atlântica. Além de ser autossuficiente na produção, o viveiro da APREMAVI é um centro tecnológico devido a suas pesquisas, especialmente na produção de espécies nativas da Mata Atlântica, e devido ao sistema Ellepot, implementado em 2019, quando o Viveiro foi expandido e modernizado. Proporcionando assim, ganho de altura para as árvores, aumentando a sobrevivência das sementes sensíveis, e, facilitando o plantio manual e mecanizado.

A ideia desta cadeia produtiva concentra-se na obtenção de metabólitos secundários (MS), principalmente éteres aromáticos e proteínas vegetais a partir de espécies nativas da Mata Atlântica do Paraná e Santa Catarina, que podem ser utilizados como aditivo alimentar, ração ou em cosméticos (**FIGURA 2**). O

emprego de espécies vegetais nativas aumenta a diversidade de culturas cultivadas e, portanto, a sustentabilidade da agricultura nesta região, enquanto o acoplamento da produção de MS e proteínas aumenta a eficiência dos recursos e, portanto, reduz a demanda por terras cultiváveis.

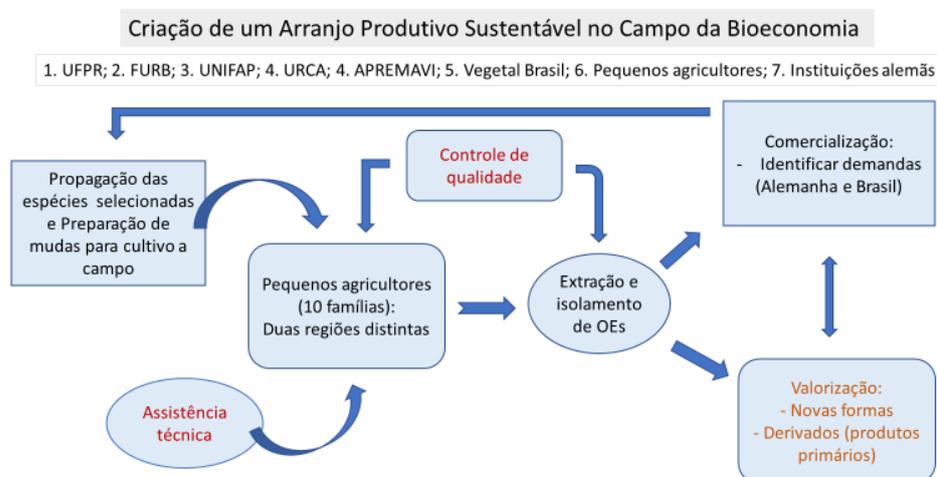
FIGURA 2: Estrutura da cadeia produtiva.



Além dos ganhos ambientais, os metabólitos secundários e as proteínas como aditivos de alto valor proporcionam novas oportunidades de renda para os pequenos agricultores locais, com o cultivo destas espécies vegetais nativas, ampliando sua área de negócios e competitividade. Assim, os benefícios econômicos e sociais para os agricultores são combinados com ganhos ambientais. Os aditivos verdes de espécies vegetais endógenas também atendem à demanda atual dos consumidores por produtos sustentáveis e verdes que contenham substâncias de origem natural de plantas cultivadas de forma sustentável, especialmente na indústria de alimentos, rações e cosméticos.

Portanto, o consórcio estabelecido avaliará o potencial de propagação e a variação sazonal do MS selecionado e o conteúdo protéico das espécies nativas do bioma da Mata Atlântica. A seleção de cultivares e a propagação das espécies vegetais potenciais serão avaliadas e serão fornecidas para pequenos agricultores, permitindo não apenas a produção e o uso *in natura* dessas plantas nativas, mas também um cultivo em larga escala utilizando sistemas agrícolas modernos e de última geração. Isto fortalecerá a economia regional e local, subsidiando o desenvolvimento sustentável da região em um conceito de Bioeconomia (**FIGURA3**).

FIGURA3: Proposta de Arranjo Produtivo no Campo da Bioeconomia.



Perspectivas

Diante do processo de fragmentação e destruição das florestas houve a diminuição dos padrões da biodiversidade, resultando em alterações do ecossistema e seus elementos. Dentre a imensa biodiversidade do bioma e inúmeras espécies vegetais podem-se destacar várias famílias como Myrtaceae, Lauraceae e Piperaceae^[18]. Assim, pode-se considerar que estudos de composição química, rendimento e atividades biológicas destas famílias, podem fornecer subsídios importantes para o conhecimento de seu potencial medicinal. O conhecimento das práticas de uso sustentável propicia melhor aproveitamento das espécies sem degradar o meio natural, promovem estratégias de desenvolvimento e contribuem para preservação da biodiversidade local^[19].

Diante do exposto, e, em função da diversidade vegetal, ganha grande relevância as pesquisas que contemplem a associação entre o recurso genético disponível na floresta e o uso sustentável dos recursos naturais. Contudo, faz-se necessária a formulação de estratégias de conservação, e desenvolvimento de pesquisas com espécies nativas, no sentido de garantir que a pressão sofrida pelo extrativismo seja substituída por uma gestão agrícola e manejo sustentável. Visando subsidiar produtores da agricultura familiar possibilitando o surgimento de trabalho e renda a partir dos produtos agroflorestais, mas numa perspectiva de desenvolvimento territorial sustentável^[20].

Pode-se afirmar que, a bioprospecção é uma forma de localizar, avaliar e explorar a diversidade biológica de forma sistemática e legal através de recursos genéticos e bioquímicos de valor comercial, através da pesquisa científica e, também, pode contar com o conhecimento tradicional que os grupos humanos fazem desta biodiversidade ao longo de várias gerações. De fato, o alto Vale do Itajaí em Santa Catarina e o Litoral do Paraná, imersos em uma área extensa de Mata Atlântica apresentam uma grande diversidade de plantas com ação biológica não identificada e a bioprospecção permite identificar fontes de novos compostos de origem natural e como consequência gerar produtos com alto valor agregado.

Neste caminho, destacam-se os aminoácidos essenciais e proteínas ricas nestes aminoácidos essenciais que são usados como aditivos em alimentos, rações e cosméticos que podem melhorar o valor nutricional e/ou

exercer efeitos benéficos adicionais sobre a saúde e o bem-estar. Atualmente, essas proteínas e aminoácidos são produzidos por fermentação microbiana em biorreatores, que consome muitos recursos e energia e que só pode ser fornecida por poucas empresas internacionais, por monoculturas de soja para as quais as florestas nativas são destruídas e que está associada ao uso intensivo de fertilizantes e pesticidas, reduzindo ainda mais a biodiversidade, ou por farinha de peixe que contribui para a pesca extensiva.

Conclusão

Assim, ao debruçar na domesticação e cultivo de espécies com pequenas populações, pode-se conhecer e aprofundar os estudos acerca da quantidade e composição dos metabólitos secundários de interesse. Isto pode ser feito por estudos que envolvam a fertilização, colheita e fitopatologia. Para todas estas atividades é necessário saber mais sobre a variabilidade dentro da espécie. Os resultados das avaliações abrem a possibilidade de selecionar plantas com melhores caracteres. Estratégias de reprodução salvarão estes genótipos ou populações em conexão com técnicas de multiplicação adequadas.

Referências

1. Ferro AFP, Bonacelli MBM, Assad ALD. Oportunidades tecnológicas e estratégias concorrenciais de gestão ambiental: o uso sustentável da biodiversidade brasileira. **Gest Prod**. 2006; 13(3): 489-501. ISSN 1806-9649. [[CrossRef](#)].
2. Cavalcanti C, Furtado A, Stahel A, Ribeiro A, Mendes A, Sekiguchi C *et al.* **Desenvolvimento e Natureza: estudos para uma sociedade sustentável**. 4ª ed. Cortez: Fundação Joaquim Nabuco; 2003. ISBN 85-249-0572-7. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 16 ago. 2021.
3. Bernardes JA, Ferreira FPM. Sociedade e Natureza. In: Cunha SB, Guerra AJT, editores. **A questão ambiental: diferentes abordagens**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 2005. p. 248. ISBN 9788528609929.
4. Silva LE, Albuquerque UP, Amaral W. Uso sustentável da biodiversidade e conservação de recursos naturais. **Rev Guaju**. 2017; 3(1): 2-10. ISSN 2447-4096. [[CrossRef](#)].
5. Joly CA, Haddad CFB, Verdade LM, De Oliveira MC, Bolzani VS, Berlink RGS. Diagnóstico da pesquisa em biodiversidade no Brasil. **Rev USP**. 2011; 89: 114-133. ISSN 2316-9036. [[CrossRef](#)].
6. Stehmann JR, Sobral M. Biodiversidade no Brasil. In: Simões CM, Schenkel EP, Mentz LA, Petrovick PR, editores. **Farmacognosia do Produto Natural ao Medicamento**. 1ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2017. p. 1-11.
7. Silva LE, Amaral W, Moura EA, Rebelo RA. Bioprospecção no litoral do Paraná: caminhos possíveis para o desenvolvimento territorial sustentável. In: Reis RA, Abrahão CMS, Tiepolo LM, Chemin M, editores. **Litoral do Paraná: território e perspectivas. Sociedade, Ambiente e Gestão**. 1ª ed. Curitiba: Brazil Publishing; 2016. p. 229-248. ISBN 978-85-68419-11-3. Disponível em: [[Link](#)]. Acesso em: 16 ago. 2021
8. Silva LE, Confortin C, Alberton MD, Siebert da, Paganelli CJ. Enzyme Inhibitory Potentials from Brazilian Flora. In: Swamy MK, editor. **Plant-derived Bioactives**. 1ª ed. Cingapura: Springer Nature Singapore; 2020. p. 383-393. [[CrossRef](#)].
9. Varjabedian R. Lei da Mata Atlântica: Retrocesso Ambiental. **Est Av**. 2010; 24(68): 147-160. ISSN 0103-4014. [[CrossRef](#)].

10. Lino CF, Simões LL. **Sustentável Mata Atlântica - A Exploração de seus Recursos Florestais**. 1ª ed. São Paulo: E. Senac; 2004. p.215. ISBN 9788573592443.
11. Fundação SOS Mata Atlântica (SOS Mata Atlântica). Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE). **Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica: Período 2013-2014**. São Paulo: Fundação SOS Mata Atlântica, 2015, p. 60. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 02 jul. 2021.
12. Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. Biodiversity Hotspots for Conservation Priorities. **Nature**. 2000; 403: 853-858. ISSN 1476-4687. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Dean W. **A Ferro e Fogo: a História e a Devastação da Mata Atlântica Brasileira**. 1ª ed. São Paulo: Companhia das Letras; 1996. ISBN: 9788571645905.
14. Brasil. **Medida Provisória Nº 2.186-16**, de 23 de agosto de 2001. Revogada pela Lei nº 13.123, de 2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, a repartição de benefícios e o acesso à tecnologia e transferência de tecnologia para sua conservação e utilização, e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, 24 ago. 2001; Seção 1, p. 11. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 04 jul. 2021.
15. Mamede JSDS. **Os Recursos Vegetais e o Saber Local na Comunidade Rural São Miguel em Várzea Grande, MT: uma Abordagem Etnobotânica**. Cuiabá, 2015. Monografia de Especialização [Pós-graduação em Ciências Florestais e Ambientais] - Universidade Federal de Mato Grosso - UFMT, Cuiabá. 2015. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 02 jul. 2021.
16. Pereira AM. **Condicionantes Institucionais para Bioprospecção no Brasil**. Campinas, 2009. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Econômico] - Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas. 2009. Disponível em: [\[Link\]](#). Acesso em: 02 jul. 2021.
17. Simões CMO, Shenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR, editores. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: E. UFRGS/E. UFSC, 2003. ISBN: 8570256825.
18. da Silva LE, Confortin C, Swamy MK. Antibacterial and Antifungal Plant Metabolites from the Tropical Medicinal Plants. In: Pal D, Nayak AK, editors. **Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications. Advanced Structured Materials**. 1ª ed. New York: Springer International Publishing, 2021; 263-285. [\[CrossRef\]](#).
19. Araujo JP, da Silva LE, Amaral W, Machado M. Formas tradicionais de uso, manejo e percepção dos recursos vegetais no litoral do Paraná: etnoconservação florestal da Mata Atlântica. **Braz J Develop**. 2018. 4(3): 886-915. ISSN: 2525-8761. [\[Link\]](#).
20. Araújo JP, da Silva LE, Amaral W. Recursos Naturais no Litoral do Paraná: Subsídios para Conservação da Floresta Atlântica. In: Prandel JA, editor. **Biodiversidade Brasileira Aspectos do Estado Atual**. 1ª ed. Ponta Grossa: E. Atena, 2019; 66-78. ISBN 978-85-7247-541-9. [\[CrossRef\]](#).

Histórico do artigo | **Submissão:** 19/05/2021 | **Aceite:** 19/10/2021 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Silva LE, Dotto ARF, Rebelo RA. Bioprospecção e Inovação na Floresta Atlântica: a atuação da REBIFLORA no Litoral do Paraná e Santa Catarina. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 227-237. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1241>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



Molecular bioprospecting of plant extracts: Experience report of the BIOPROS/UFV group in the search for antitumor compounds

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1285>

Almeida, Alisson Andrade¹; Leite, João Paulo Viana^{1*}; Simão, Marcos Vinícius Ribeiro de Castro²; Silva, Hugo Rody Vianna³.

¹Federal University of Viçosa (UFV), Center for Biological and Health Sciences. Department of Biochemistry and Molecular Biology, University Campus, Avenida Peter Henry Rolfs, S/Nº CCBII, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brazil.

²Federal Institute of Education, Science and Technology of Amazonas, Rua Otaviano Melo, Nossa Senhora de Fátima, CEP 69880-000, Eirunepé, AM, Brazil.

³School of Agriculture Centro Luiz de Queiroz - ESALQ. Campus University of São Paulo (USP), Avenida Pádua Dias, 11, CX Postal 9, CEP 13418-900, Piracicaba, SP, Brazil.

*Correspondência: jpvlite@ufv.br.

Abstract

This manuscript discusses the experience of the research group BIOPROS (Molecular Bioprospecting in the Sustainable Use of Biodiversity) from the Federal University of Viçosa in the field of bioprospecting. We describe our experience on the search for antitumor compounds from the collection of extracts of native tree species from the Atlantic Forest biome. Presenting an interdisciplinary approach, integrating knowledge of forestry engineering, bioinformatics and natural products chemistry, the bioprospecting research of the BIOPROS group has innovated in the generation of pharmacochemical knowledge of native species of the Atlantic Forest. For the composition of the extract library a total of 220 plant species distributed in 57 botanical families and 140 genera were identified. 196 extracts from 49 plant species were produced; all of them evaluated for cytotoxic activity. By showing the process of obtaining a promising antitumor activity withanolides compounds from *Athenaea velutina*, a species hitherto little known to science, this manuscript shows our sequence of methodological steps used to unravel bioactive natural products from fragments of Atlantic Forest. The research follows the premises of the Convention on Biological Diversity, regarding the creation of strategies for the sustainable use of biodiversity.

Keywords: Extract Library. Pharmaceutical Bioprospecting. Atlantic Forest. Cytotoxic Activity. *Athenaea velutina*. Withanolides.

Introduction

The Convention on Biological Diversity (CBD) established by the United Nations Conference on Environment and Development (UNCED), held in Rio de Janeiro in June 1992, was an important milestone for the international discussion on environment-related issues^[1]. Ratified by Brazil in 1998, the CBD established

measures for the identification, conservation, and sustainable use of biological diversity and its components. In this context, research aimed to know the pharmacochemical properties of natural resources are strategic to achieve the objectives of the CBD.

Biodiversity continues to be an important source of new bioactive compounds. The scientific field dedicated to the search for biochemicals, genetic information, and related traditional knowledge from plants, animals, or microorganisms, is known as molecular bioprospecting^[2]. In the plant kingdom, different methodological approaches are used to identify natural products, such as ethnopharmacology, chemosystematics, molecular ecology, and computational tools^[3]. However, in order to maximize the pharmaceutical bioprospecting, one of the most effective method is to build libraries of extracts from biodiversity^[4].

A prominent example of natural resource bioprospecting program was developed by the U.S. National Cancer Institute (NCI-USA), and led to the discovery of important anticancer drugs, such as taxanes and camptothecins^[5]. The NCI program also served as a model to other prospecting groups, which resulted in the discovery of potential lead molecules as demonstrated in the works of Fouche et al.^[6], Eisenberg et al.^[7], He et al.^[8], and thousands of others. In Brazil, public universities and research centers have been also screening plants, fungi and marine organisms extracts against tumor cells, pathogenic bacteria, and neglected diseases^[9-12].

The large biodiversity found in the Brazilian biomes and ecosystems represents an immense repository of little-known species and its biochemical compounds with high bioactive potential^[13]. To highlight, the Atlantic Forest alone hosts about 20,000 plant species, most of them are endemic^[14]. The anesthetic coadjuvant Atracurium and the hypertensive Captopril are examples of success medicines derived from lead molecules isolated from Brazilian organisms^[15]. However, the release of competitive bioproducts from substances extracted from Brazilian biodiversity is just a promise for the bioeconomy. Among scientists, it is consensus that this scenario could be changed by a cooperative program between research centers, government, and industries^[16].

The Molecular Bioprospecting in the Sustainable Use of Biodiversity group (BIOPROS; www.biopros.ufv.br), has been producing extracts from the Atlantic Forest species for many years (BIOPROS Extracts Library). In addition, a computerized platform named MAPA integrates phytochemical and geographic information from the sampled species. Each plant specimen receives ID MAPA number, which is highlighted in stainless steel plates to be fixed in the trees and finally guide the access to genetic heritage through a random strategy. In the laboratory, plant material is processed to extract secondary metabolites by maceration process using solvents with different polarities. The BIOPROS Extract Library have been tested against cancer cell lines by the MTT assay.

Herein, we describe our experience on building the BIOPROS Extract Library in order to prospect new cytotoxic extracts and related compounds. Preliminary results are disclosed reporting the antitumor activity of *Athenaea velutina* (Sendtn.) D'Arcy (Solanaceae), an endemic Brazilian shrub source of withanolide compounds.

We describe our experience on the search for antitumor compounds from the collection of extracts of native tree species from the Atlantic Forest biome. To: inventory a fragment of Atlantic Forest (Mata do Paraíso, Federal University of Viçosa); develop the computerized MAPA platform; fix the ID MAPA plates code on the trees; access leaves and twigs by random strategy; perform plant material extraction; screen extracts against cancer cells; identify natural products responsible for cytotoxic activity.

Materials and Methods

Plant species inventory

We inventoried trees in a fragment of Atlantic Forest known as Mata do Paraíso; a 400 hectares semi-deciduous forest that conserves several native fauna and flora species and belong to Federal University of Viçosa/UFV^[17]. All inventoried trees were marked and georeferenced by GPS (*Global Positioning System*). These trees represent the BIOPROS Extract Library *in situ* collection. The voucher specimens were identified (**FIGURE 1**) by specialists and deposited in the VIC Herbarium of UFV, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. Species names and botanical families were checked against the database of Brazilian Flora 2020 Project list species^[18].

FIGURE 1: Herborization process for making exsiccates deposited in the VIC herbarium of the Federal University of Viçosa.



MAPA Platform

The MAPA computerized platform is software that integrates chemical-pharmaceutical information with geographic location of inventoried plant species of BIOPROS Extract Library *in situ* collection. A unique identification number (ID MAPA) is generated for each specimen taking into consideration the family, genus and species, and following the criteria: a) the first three numbers refer to the family, b) the next three numbers inform the genus, and c) the last three numbers indicate the species. The generated ID MAPAs were highlighted in stainless steel plates and fixed to the trees from Mata do Paraíso forest (**FIGURE 2a**).

Access to biodiversity and plant material processing

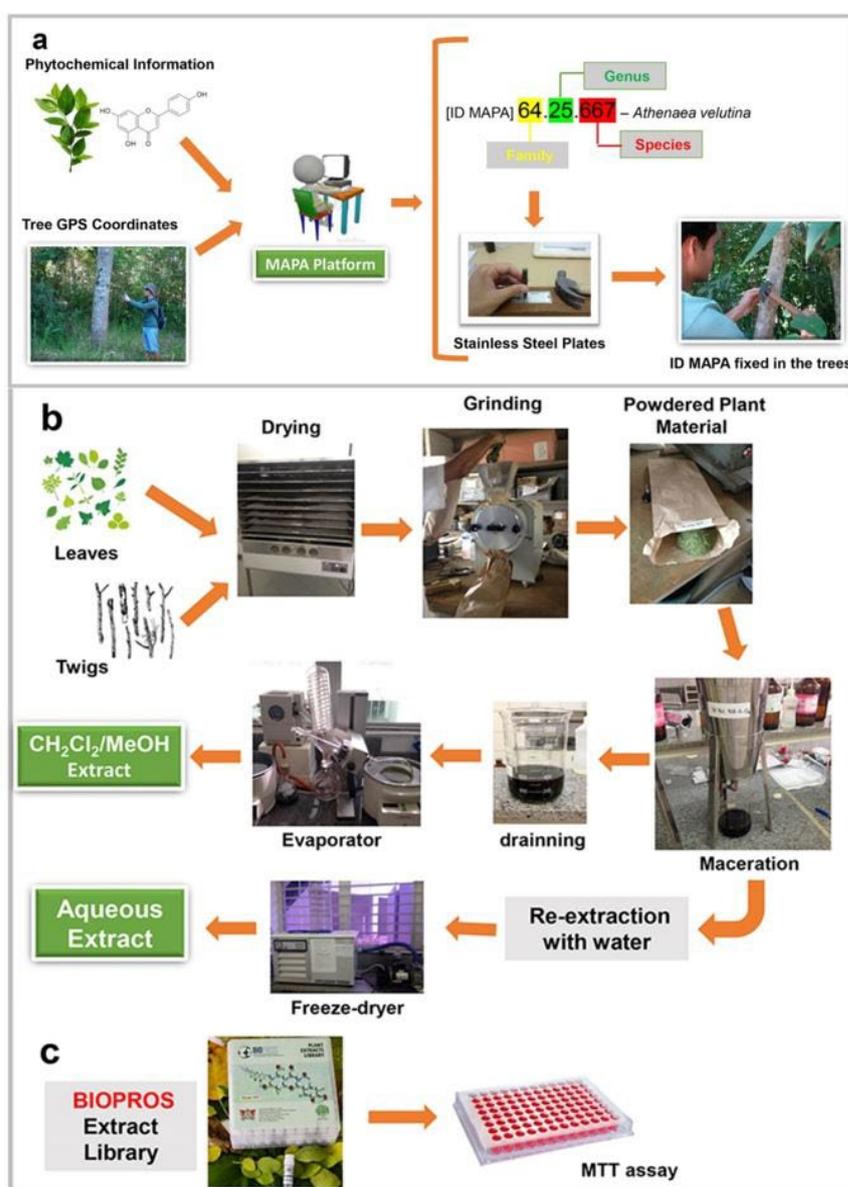
Access to the plant material was authorized by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/number 010134/2014-0), and was always performed using a random strategy. Leaves and twigs were collected with a tree pruner and stored in plastic bags previously identified with the ID MAPA

number. In the lab, the plant materials were cleaned, dried in plant dehydrator (40°C), and grinded in hammer mill (FIGURE 2b).

Plant extract production

We used the methodology of plant extracts production adopted by the Natural Products Drug Discovery of U.S. National Cancer Institute^[19], adapted to our laboratory. Two extracts were sequentially produced from leaves and twigs of each plant specimen using organic solvent (equivalent mixture of dichloromethane and methanol) and distilled water. The organic liquid extract was drained and concentrated in rotary evaporator to obtain the organic extract. The remaining plant material was re-extracted with distilled water, which is lyophilized resulting in the dry aqueous extract (FIGURE 2b).

FIGURE 2: BIOPROS methodology used to search cytotoxic extracts from Atlantic Forest.



Legend: (a) The MAPA platform stores phytochemical and geographic information about the species identified in the Mata do Paraíso. This software also generates the ID MAPA code, which is fixed in the trees to guide the plant access. (b) The plant material is processed and sequentially extracted with dichloromethane/methanol (1:1) and distilled water. (c) The BIOPROS Extracts Library is screened in cancer cell lines.

***In vitro* cytotoxic test**

The cancer cells were grown in culture RPMI medium and maintained in humidified CO₂ (5%) incubator at 37°C. For the assays, the cells were plated in 96-well microplate. The extracts were dissolved in dimethyl sulfoxide (DMSO) and tested at 100 µg/mL. The cytotoxic activity of the extracts was measured by spectrometric absorbance of the formazan reagent (MTT assay) (**FIGURE 2c**). The extracts that reduced the growth of cancer cell lines by 70% (GI₇₀) or more were tested at eight serial dilution concentrations in the range from 200-1.562 µg/mL to determine the IC₅₀ (the concentration of the extract that inhibits 50% of cell growth).

Description of the experience

We developed a methodology to bioprospect hundreds of extracts including plant species inventory, rational access to plant material in the forest, extracts manufacturing, and cytotoxic screening.

Via plant inventory, 220 native species distributed in 57 botanical families and 140 genera were identified in the Mata do Paraíso. Nowadays, the BIOPROS Extract Library *in situ* collection is represented by 282 individuals (**FIGURE 3**).

The dichloromethane-methanol (1:1) solvent optimizes the yield of extracts; the time consumed to extraction was reduced draining the solvents once (the extraction time for each type of chemical solvent is 15 h); the reuse of the dichloromethane-methanol solvents (distilled in rotary evaporator) reduced the costs with chemical reagents; the aqueous extracts from leaves and twigs had lower yields and higher time consumption due to the lyophilization. The average yield of extracts obtained for each extraction solvent for different parts of the plants, are shown in **TABLE 1**. Furthermore, the use of different solvents produces extracts containing a representation of all molecules found in the specimen^[19]; since that organic solvent removes nonpolar and intermediate polar compounds, while water extract contains substances with high polarity.

FIGURE 3: Map of georeferenced trees (*in situ* collection) from the BIOPROS Extracts Library at the Mata do Paraíso forest.

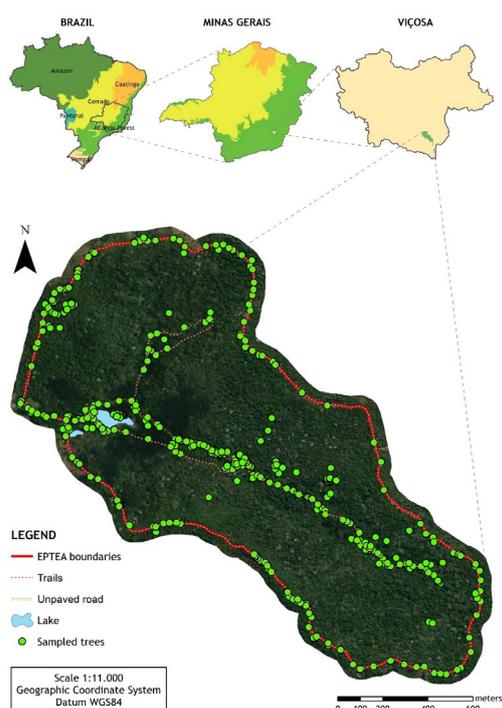


Table 1: Overall average yield (%) and cytotoxic activity (%) of the BIOPROS Extract Library.

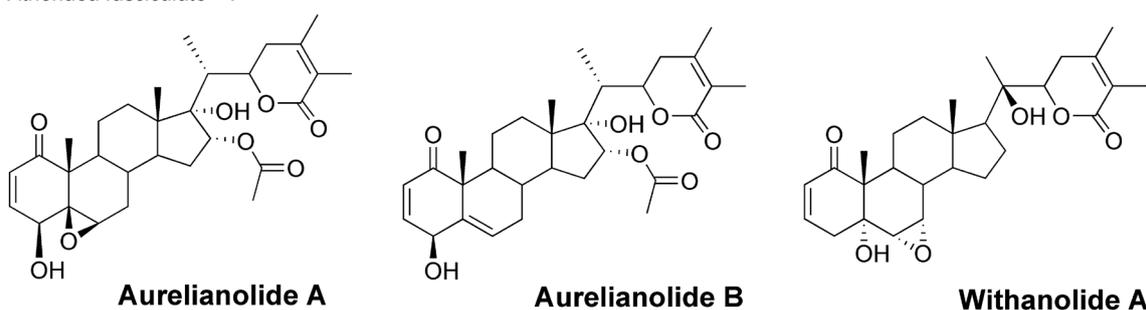
| Plant Material | Leaves | | Twigs | |
|----------------|---|---------|---|---------|
| | CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1:1) | Aqueous | CH ₂ Cl ₂ /MeOH (1:1) | Aqueous |
| Yield (%) | 6.4% | 3.3% | 3.3% | 2.8% |
| Cytotoxic (%) | 2.5% | 1.0% | 1.5% | 0% |

CH₂Cl₂: dichloromethane; MeOH: metanol

We produced 196 extracts from 49 plant species in one year. During a week, for instance, using two maceration equipment, it was possible to produce up to 32 extracts. The cytotoxic assay was also optimized. In each 96-well microplate, 31 extracts and the controls could be tested in triplicate. Our preliminary results reported the cytotoxicity of *Tabernaemontana hystrix*, *Vernonanthura polyanthes*, *Croton celtidifolius*, *Maclura tinctoria*, *Syzygium jambos*, *Casearia sylvestris* and *Acnistus arborescens*. Therefore, a hit rate of 14% was obtained based on the number of plant species with cytotoxic activity amongst the 49 investigated species. Overall, the dichloromethane-methanol extracts of leaves were the most cytotoxic followed by the extracts of twigs using the same mixture of solvents (**TABLE 1**).

However, as main results, we disclosed for the first time the cytotoxic potential of *Athenaea velutina*, an endemic plant species from Brazilian Atlantic Forest^[20]. Further studies showed that *A. velutina* extract inhibited *in vitro* cells adhesion, invasion, migration and colony formation. A pharmaceutical formulation containing this extract effectively reduced the metastatic lung black nodules of melanoma B16F10-bearing mice^[11].

The antitumor effect of *A. velutina* was attributed to the presence of withanolides, a group of steroidal compounds that occur as natural products built in an ergostane skeleton, which are appropriately oxidized to form a lactone ring. Among the withanolides identified in *A. velutina*, we highlight aurelianolide A, aurelianolide B and withanolide A (**FIGURE 4**). These compounds induced cancer cell death by apoptosis and promoted cell cycle arrest^[21].

FIGURE 4: Withanolides identified from *A. velutina* leaves. The both aurelianolides A and B were previously isolated in *Athenaea fasciculata*^[22].

Results and Discussion

The Convention on Biological Diversity, which is an international agreement that recognizes the sovereign rights of States over their natural resources, gave new dimension for molecular bioprospecting with clearer rules for the sustainable use, conservation, and equitable sharing of benefits derived from biodiversity^[1]. It also provided an institutional framework for the promotion of scientific studies of biodiversity between developing countries – high biodiversity holders –, and industrialized nations. Thus, the development of

methodologies for the rational investigation and use of bioactive natural products support the conservation of natural resources^[23].

A bioprospecting program based on the sustainable use of life biodiversity is paramount to developing countries such as Brazil, not only to reap economic benefits but also to promote the protection and conservation of biodiversity in accordance with the CBD's guidelines^[1]. To reach this purpose, bioprospecting technologies must be developed in order to increase the knowledge about the diversity of life, which could be employed for the identification and use of new biotechnological valuable products to mankind^[9,13,16]. It is the aim of the BIOPROS group that has been implemented a large-scale project to produce and test extracts from the Atlantic Forest trees, where species are still rarely studied for their biological activity. The BIOPROS Extract Library is also screened in other biological targets such as antibacterial^[24,25], Anticholinesterase inhibitor^[26], Insecticidal^[27], and phytonematode control^[28].

Our molecular bioprospecting approach relies on the accuracy of scientific data on the taxonomic information and localization of organism sources using GPS dates. The traceability of the trees in the forest and the labeled ID MAPA plates is the great feature of our extract library, whereas this enables the supply of more plant material from the same individual, reducing metabolic variations due to edaphoclimatic conditions. In addition, the pharmacological information about the species available in the MAPA database guide the phytochemical studies. An efficient method of extract manufacturing and cytotoxic screening was standardized by us leading to the identification of species with potential pharmacochemical use. Our major discovery was to report the unpublished cytotoxic activity of *Athenaea velutina*. Other studies have been conducted with *A. velutina* leading novel withanolides isolated and toxicological safety proven (unpublished data).

Conclusion

In conclusion, pharmaceutical bioprospecting in plant extracts from the Brazilian Atlantic Forest can be an important factor for the conservation and sustainable use of biodiversity, following the guidelines of the Convention on Biological Diversity. Furthermore, it can contribute to increasing the therapeutic arsenal, aiming at the development of new drugs.

Acknowledgements

This work involved biochemists, pharmacists, forestry engineers and software developers, reinforcing the importance of the interdisciplinary research. AAA would like to thank Izabela Galvão, Marcela Escudeiro, Camila Bento, and Jean Rezende for the support with plant material access and extracts manufacturing. We also are grateful to Departamento de Bioquímica e Molecular (UFV) for the facilities provided and helps with administrative procedures. This project has been funded by FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais and CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

References

1. Brasil. Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, Diretoria de Conservação da Biodiversidade. **Convenção sobre diversidade biológica**. Brasília, DF: MMA. 1992. 32 p. [\[Link\]](#).

2. Palma CM, Palma MS. Bioprospecção no Brasil: análise crítica de alguns conceitos. **Cienc Cult.** 2012; 64(3): 22-26. [\[Link\]](#).
3. Albuquerque UP, Medeiros PM, Ramos MA, Ferreira Júnior WS, Nascimento ALB, Avilez WMT et al. Are ethnopharmacological survey useful for the discovery and development of drugs from medicinal plants? **Rev Bras Farmacogn.** 2014; 24(2): 101-115. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
4. Lowell AN, Santoro N, Swaney SM, Mcquade TJ, Schultz PJ, Larsen MJ et al. Microscale adaptation of *in vitro* transcription/translation for high throughput screening of natural product extract libraries. **Chem Biol Drug Des.** 2015; 86(6): 1331-1338. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
5. Thornburg CC, Britt JR, Evans JR, Akee RK, Whitt JA, Trinh SK et al. NCI program for natural product discovery: a publicly-accessible library of natural product fractions for high-throughput screening. **ACS Chem Biol.** 2018; 13(9): 2484-2497. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
6. Fouche G, Cragg GM, Pillay P, Kolesnikova N. *In Vitro* Anticancer Screening of South African Plants. **J Ethnopharmacol.** 2008; 119: 455-461. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
7. Eisenberg DM, Harris ES, Littlefield BA, Cao S, Craycroft JA, Scholten R et al. Developing a library of authenticated Traditional Chinese Medicinal (TCM) plants for systematic biological evaluation-rationale, methods and preliminary results from a Sino-American collaboration. **Fitoterapia.** 2011; 82(1): 17-33. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
8. He M, Grkovic T, Evans JR, Thornburg CC, Akee RK, Thompson JR et al. The NCI library of traditional Chinese medicinal plant extracts - Preliminary assessment of the NCI-60 activity and chemical profiling of selected species. **Fitoterapia.** 2019; 137: 104285. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
9. Bolzani VS, Siqueira DHS, Cavalheiro AJ, Castro-Gamboa I, Pauletti PM, Viegas CJ et al. Bioprospecting Program-Biota: A rational search for drug discovery from Brazilian biodiversity. **Planta Med.** 2006; 72(11): 973-974. [\[Link\]](#).
10. Quintana J, Brango-Vanegas J, Costa GM, Castellanos L, Arévalo C, Duque C. Marine organisms as source of extracts to disrupt bacterial communication: bioguided isolation and identification of quorum sensing inhibitors from *Ircinia felix*. **Rev Bras Farmacogn.** 2015; 25(3): 199-207. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
11. Almeida AA, Lima GDA, Simão MVRC, Moreira GA, Siqueira RP, Zanatta AC et al. Screening of plants from the Brazilian Atlantic Forest led to identification of *Athenaea velutina* (Solanaceae) as a novel source of antimetastatic agents. **Int J Exp Pathol.** 2020; 101(3-4): 106-121. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
12. Rosa MN, Silva LRV, Longato GB, Evangelista AF, Gomes INF, Alves ALV et al. Bioprospecting of natural compounds from Brazilian cerrado biome plants in human cervical cancer cell lines. 2021; **Int J Mol Sci.** 22(7): 3383. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
13. Berlinck RGS. Bioprospecção no Brasil: um breve histórico. **Ciênc Cult.** 2012; 64(3): 27-30. [\[Link\]](#).
14. Joly CA, Metzger JP, Tabarelli M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. **New Phytol.** 2014; 204(3): 459-473. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
15. Bolzani VS. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciênc Cult.** 2016; 68(1): 4-5. [\[Link\]](#).
16. Valli M, Russo HM, Bolzani VS. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. **An Acad Bras Ciênc.** 2018; 16(90) (1 Suppl 1): 763-778. [\[CrossRef\]](#) [\[Link\]](#).
17. Simão MVRC, Fonseca RS, Almeida AA, Lima GS, Leite JPV, Martins SV. **Árvores da Mata Atlântica: livro ilustrado para identificação de espécies típicas de floresta estacional semidecidual.** 1ª ed. Manaus: Sem editora. 2017. 234 p. ISBN: 978-85-914451-3-4.

18. LEFB. **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro; 2018. [\[Link\]](#).
19. McCloud TG. High throughput extraction of plant, marine and fungal specimens for preservation of biologically active molecules. **Molecules**. 2010; 15(7): 4526-4563. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
20. Stehmann JR, Mentz LA, Agra MF, Vignoli-Silva M, Giacomini L, Rodrigues IMC. **Solanaceae in lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. [\[Link\]](#).
21. Almeida AA, Lima GDA, Eiterer M, Rodrigues LA, do Vale JA, Zanatta AC et al. A Withanolide-rich fraction of *Athenaea velutina* induces apoptosis and cell cycle arrest in melanoma B16F10 cells. **Planta Med**. 2021. (Ahead of Print). [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
22. Almeida-Lafetá RC, Ferreira MJP, Emerenciano VP, Kaplan MAC. Leishmanicidal activity of withanolides from *Aureliana fasciculata* var. *fasciculata*. **Molecules**. 2010; 93(12): 2478-2487. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
23. Dutra RC, Campos MM, Santos ARS, Calixto JB. Medicinal plants in Brazil: pharmacological studies, drug discovery, challenges and perspectives. **Pharmacol Res**. 2016; 112: 4-29. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
24. Almeida AC, Rodrigues LA, Santos GP, Aguiar AP, Almeida AA, Ferreira SO et al. Prenylated flavonoid-enriched fraction from *Maclura tinctoria* shows biological activity against *Staphylococcus aureus* and protects *Galleria mellonella* larvae from bacterial infection. **BMC Complement Altern Med**. 2019; 19(1): 189-201. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
25. Rodrigues LA, Almeida AC, Gontijo DC, Salustiano IV, Almeida AA, Brandão GC et al. Antibacterial screening of plants from the Brazilian Atlantic Forest led to the identification of active compounds in *Miconia latecrenata* (DC.) Naudin. **Nat Prod Res**. 2020; 34: 1-5. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
26. Pacheco NM. **Bioprospecção de extratos vegetais da Mata Atlântica na busca de inibidores de acetilcolinesterase**. Viçosa, 2020. Tese de doutorado [Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada] Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, 2020.
27. Britto IO, Araújo SHC, Toledo PFS, Lima GDA, Salustiano IV, Alves JR et al. Potential of *Ficus carica* extracts against *Euschistus heros*: toxicity of major active compounds and selectivity against beneficial insects. **Pest Manag Sci**. 2021. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#).
28. Alves JR, Assis JN, Pádua CCA, Balbino HM, Lima LL, Buonicontro DS et al. Phytochemical potential of *Ficus* species for the control of the phytonematode *Meloidogyne javanica*. **J Plant Prot Res**. 2020; 60: 193-206. [\[Link\]](#).

Histórico do artigo | **Submissão:** 30/06/2021 | **Aceite:** 01/09/2021 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Almeida AA, Leite JPV, Simão MVRC, Silva HRV. Molecular bioprospecting of plant extracts: Experience report of the BIOPROS/UFV group in the search for antitumor compounds. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 238-246. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1285>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Bioprospecção de atividade anticâncer dos gêneros *Garcinia* e *Clusia*: uma breve revisão

Bioprospecting of anticancer activity of genera *Garcinia* and *Clusia*: a brief review

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1227>

Brito, Lavínia de Carvalho^{1*}; Figueiredo, Maria Raquel².

¹Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Instituto de Química/Central Analítica Fernanda Coutinho. Av São Francisco Xavier, 524, Pavilhão Haroldo Lisboa da Cunha, sala 109, terreo, Maracanã, CEP 20550-013, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Fundação Oswaldo Cruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Química de Produtos Naturais. Rua Sizenando Nabuco, 100, Manguinhos, Laboratório de Química de Produtos Naturais-PN3, CEP 21041-250, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: laviniabrito@yahoo.com.br.

Resumo

A bioprospecção é uma das formas de extrair valor econômico da biodiversidade brasileira, abrangendo principalmente a indústria farmacêutica. O câncer é uma das principais causas de mortalidade no mundo e 64,9% das drogas anticâncer, aprovadas de 1946 a 2019, são de origem natural. A família Clusiaceae possui vários metabólitos secundários bioativos, destacando-se a ação antineoplásica de espécies dos gêneros *Garcinia* e *Clusia*. O objetivo deste trabalho foi realizar uma breve revisão da atividade anticâncer dos gêneros *Clusia* e *Garcinia*, pertencentes à família Clusiaceae. A pesquisa bibliográfica foi realizada no período de 2000 até 2021, nas bases de dados Scifinder, PubMed, Scopus e Web of Science. Foram selecionados os estudos *in vitro* e *in vivo* dos dois gêneros, sobre a atividade anticâncer de algumas das substâncias isoladas mais representativas, e os mecanismos de ação envolvidos. Foram excluídas as duplicatas ou os dados considerados questionáveis ou insuficientes. Essa revisão reforça a importância da bioprospecção de moléculas anticâncer da família Clusiaceae, que poderia contribuir para a descoberta de fármacos de origem natural, visando o desenvolvimento tecnológico sustentável brasileiro.

Palavras-chave: Bioprospecção. Clusiaceae. *Clusia studartiana*. Câncer. *Garcinia*.

Abstract

Bioprospecting is a way to extract economic value from Brazilian biodiversity, comprising mainly the pharmaceutical industry. Cancer is one of the main causes of mortality in the world and 64.9% of anticancer drugs approved from 1946 to 2019 were extracted from natural sources. The Clusiaceae family has several bioactive secondary metabolites, highlighting the antineoplastic action of species from the genera *Garcinia* and *Clusia*. The objective of this work was to carry out a brief review on anticancer activity of the *Clusia* and *Garcinia* genera, belonging to the Clusiaceae family. The bibliographic search was carried out from 2000 to 2021, in the Scifinder, Pubmed, Scopus and Web of Science databases. *In vitro* and *in vivo* studies of both

genera were selected, on anticancer activity of some of the most representative isolated substances, and the action mechanisms involved. Duplicates, questionable or insufficient data were excluded. This review reinforces the importance of bioprospecting anticancer molecules from the Clusiaceae family, which could contribute to drug discovery from natural sources and a sustainable technological development in Brazil.

Keywords: Bioprospecting. Clusiaceae. *Clusia studartiana*. Cancer. *Garcinia*.

Introdução

Biodiversidade, bioprospecção e câncer

O Brasil abrange mais de 8,5 milhões de quilômetros quadrados, sendo efetivamente o quinto maior país do mundo em extensão, contendo a maior floresta tropical, extensas planícies e áreas montanhosas. Possui uma grande diversidade de flora e fauna, devido à existência de habitats muito diferentes e peculiares^[1]. É o país com a maior diversidade genética vegetal do planeta, com 115.333 espécies de animais e 47.754 espécies de plantas e fungos, sendo 32.292 angiospermas^[2]. A biodiversidade brasileira foi a responsável por descobertas de substâncias que conduziram a inovações no tratamento de doenças no Brasil e no mundo, mas apesar disso, seus recursos biológicos ainda não foram muito explorados^[1].

A bioprospecção é a busca sistemática por organismos, genes, enzimas, substâncias, processos e partes provenientes de seres vivos em geral, sendo uma das formas de extrair um valor econômico da biodiversidade. Essa estratégia, eventualmente, pode levar ao desenvolvimento de um produto com importante significado para a humanidade. A bioprospecção abrange muitos setores como a agricultura, a biotecnologia, a indústria farmacêutica e de cosméticos e a saúde, entre outros^[3]. A indústria farmacêutica, relacionada à saúde e ao bem-estar, se destaca movimentando U\$1,3 trilhão em 2019, e devendo ultrapassar U\$1,5 trilhão até 2023^[4]. Neste setor, produtos naturais constituem 51,15% das moléculas aprovadas como fármacos, no período de 01/01/1981 a 30/09/2020, considerando-se sob essa classificação também os derivados de produtos naturais. Portanto, estes continuam a ser uma fonte de grande importância, apesar do número muito reduzido de programas da indústria farmacêutica para a descoberta de medicamentos^[5].

Entre as várias doenças existentes, o câncer é considerado uma das principais causas de mortalidade. Em 2018, foram descritos 17 milhões de novos casos e 9,5 milhões de mortes causadas por câncer no mundo. Estima-se que a incidência de câncer crescerá até alcançar 27,5 milhões de novos casos e 16,3 milhões de mortes até 2040, devido ao crescimento e envelhecimento da população. Dessa forma, o câncer continua sendo um grave e crítico problema de saúde pública mundial^[6].

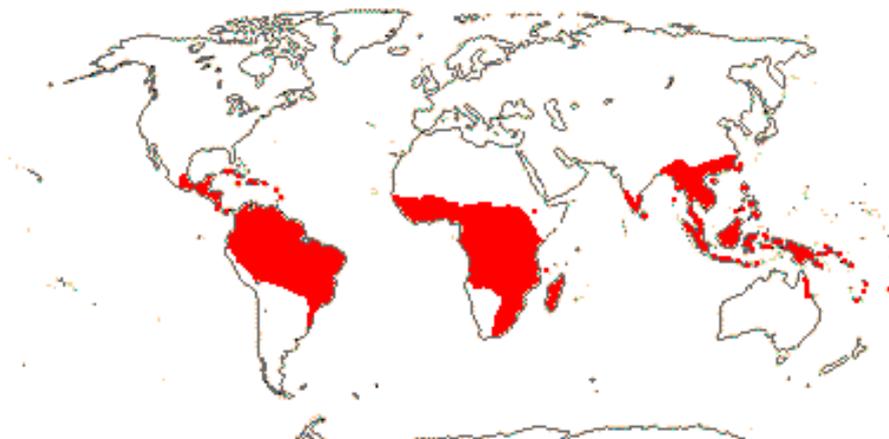
As pesquisas realizadas, na área de agentes anticâncer, mostraram uma grande contribuição de substâncias de origem natural. De 1946 a 1980 foram aprovadas 74 substâncias com atividade anticâncer e de janeiro de 1981 até setembro de 2019 foram aprovadas 185. Do total de 259 substâncias, 168 (64,9%) são originárias ou derivadas de produtos naturais^[5].

Perfil fitoquímico de Clusiaceae – gêneros *Garcinia* e *Clusia*

A família Clusiaceae é uma fonte importante de metabólitos secundários, tais como: antraquinonas, antronas, benzofenonas, cumarinas, flavonoides, xantomas e triterpenos de diversos tipos^[7]. Várias espécies desta família possuem atividades: anti-inflamatória, antiinfecção e anticâncer, antinociceptivos, antioxidantes, antidiabética, antimicrobial, hepatoprotetora entre outras atividades farmacológicas^[8-11].

Esta família possui aproximadamente 15 gêneros e 800 espécies, distribuídas nas regiões tropicais, de acordo com o mapa (FIGURA 1)^[12], sendo representadas por arbustos, árvores e algumas espécies são hemiepífitas. No Brasil ocorrem 12 gêneros e 147 espécies de Clusiaceae^[13].

FIGURA 1: Mapa de distribuição mundial da família Clusiaceae.



Fonte: Stevens PF, 2001 ^[12].

O gênero *Garcinia* possui aproximadamente 240 espécies^[12,13], distribuídas no sudeste da Ásia (Ex: *G. cambogia*, *G. dulcis* e *G. mangostana*), na Índia (Ex: *G. indica*), na África (Ex: *G. kola*) e na América do Sul (Ex: *G. humilis* e *G. brasiliensis*)^[14]. Em geral, os frutos das espécies deste gênero são comestíveis e usados na agricultura. As suas sementes são utilizadas na produção de corantes ou óleos, como antioxidantes ou no tratamento de várias doenças como hiperglicemia, diabetes e câncer^[15-18].

Existem várias classes de substâncias nas espécies de *Garcinia*, tais como: xantonas^[19], procianidinas^[20], bisflavonóides^[21] e floroglucinois^[22]. As espécies desse gênero apresentam uma grande variedade de atividades farmacológicas, destacando-se a atividade anticâncer^[9,11,18,22].

Na China, a resina gamboge, extraída de espécies de *Garcinia* é rica em xantonas, e usada em formulações orais e injetáveis para o tratamento de carcinoma de mama e linfoma maligno^[23]. Estas xantonas têm despertado muito interesse por sua atividade citotóxica, em várias linhagens de células tumorais, mesmo em baixas concentrações. Além disso, frequentemente estas substâncias não possuem resistência a múltiplas drogas (MDR), uma propriedade importante para os quimioterápicos^[24]. Por estes motivos, estas substâncias são consideradas promissoras agentes anticâncer, sendo citados alguns exemplos abaixo.

Dez xantonas foram isoladas dos caules de *Garcinia schomburgkiana*. Três destas xantonas mostraram citotoxicidade contra quatro linhagens tumorais (KB, HeLa S3, MCF-7 e Hep G2), com valores de IC₅₀ na faixa de 0,18-9,95 µM^[25].

O garcinol, uma benzofenona poliisoprenilada, é isolado dos frutos de *Garcinia indica* e possui propriedades anticâncer, envolvendo diferentes alvos, demonstrada por muitos estudos *in vitro* e *in vivo*^[26]. Estudos recentes indicam o garcinol é um inibidor de histona acetiltransferases (HAT) e desregulador de microRNA (miRNA), que atuam no desenvolvimento e progressão de vários tipos de câncer. Esta ação moduladora de HAT e miRNA indica um potencial epigenético^[27].

Outro gênero da família Clusiaceae, que também é muito estudado, é o gênero *Clusia*, que compreende cerca de 300 a 400 espécies, com distribuição neotropical e altamente diversificada na América Central e do Sul^[12]. A distribuição total deste gênero estende-se ao norte e ao sul dos trópicos e o Brasil possui aproximadamente cerca de 70 espécies^[28].

O perfil químico das espécies de *Clusia* é representado pela presença de benzofenonas polipreniladas^[29-31], xantonas^[32], bifenilas^[33], flavonoides^[34,35] e triterpenoides^[36]. Este gênero é considerado uma das principais fontes de benzofenonas em Angiospermas^[29], sendo considerado marcador químico do gênero *Clusia*^[30]. A atividade anticâncer em *Clusia rosa* foi atribuída à presença destas benzofenonas polipreniladas, tendo como alvo a enzima topoisomerase^[37]. Outros estudos sobre a atividade anticâncer das espécies de *Clusia* já foram descritos^[38-42] e serão detalhados e mostrados nesta revisão.

Os estudos descritos na literatura sobre a ação anticâncer das espécies dos gêneros *Clusia* e *Garcinia*, realizados em modelos experimentais *in vitro* e *in vivo*, validam a importância da realização de pesquisas sobre metabólitos secundários bioativos nestas espécies, visando o desenvolvimento de medicamentos com atividade anticâncer.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma breve revisão da atividade anticâncer dos gêneros *Clusia* e *Garcinia*, pertencentes à família Clusiaceae.

Material e Método

A pesquisa bibliográfica foi realizada, no período de 2000 até 2021, nas bases de dados Scifinder, PubMed, Scopus e Web of Science. Foram selecionados os estudos sobre a atividade anticâncer *in vitro* e *in vivo* de algumas das substâncias mais representativas destes gêneros e os mecanismos envolvidos. Foram excluídas as duplicatas ou os dados que foram considerados questionáveis ou insuficientes.

Resultados e Discussão

Atividade anticâncer do gênero *Garcinia*

Os frutos de *G. mangostana* (mangostão), *G. xanthochymus* e *G. cambogia* são utilizados pelos povos do leste asiático como alimento ou controle da obesidade. Na Índia, os extratos de *G. xanthochymus* e *G. cambogia* são usados para intensificar o sabor do curry e o extrato de *G. cambogia* é também usado como antisséptico para preservar os alimentos^[43-45].

O principal constituinte do mangostão é o α -mangostin, que possui ação anticâncer e quimiopreventiva, agindo nos três diferentes estágios da carcinogênese, que são denominados como iniciação, promoção e progressão^[46].

A ação quimiopreventiva de substâncias está ligada à etapa de **iniciação** do câncer que envolve a inibição das enzimas da fase I (pertencentes ao citocromo P450/superfamília CYP), responsáveis pela ativação dos carcinógenos e posteriormente à indução das enzimas da fase II (Ex: glutatona-S-transferase), que conjugam os carcinógenos com ligantes endógenos, para promover a sua eliminação^[47]. De fato, foi observado que α -mangostin inibiu o surgimento de lesões pré-neoplásicas, induzidas por 7,12 dimetilbenzantraceno (DMBA), em ensaio de cultura *ex vivo* de células de mama de camundongo. Uma vez que a ativação por DMBA requer a presença das enzimas da fase I (CYP1A1, CYP1A2 e CYP1B1), possivelmente este fato deve estar ligado à inibição destas enzimas na fase de iniciação do câncer^[48].

Corroborando esta hipótese, o tratamento realizado com a α -mangostina em células de câncer de mama, do tipo SK-BR-3, provocou a inibição da aromatase (CYP-19) nestas células, de forma dose-dependente. A linhagem SK-BR-3 possui altos níveis de aromatase (CYP-19), que é uma enzima limitante da taxa na biossíntese de estrogênio. Como o estrogênio desempenha um papel vital no desenvolvimento e progressão do câncer de mama responsivo a hormônios, o efeito supressor de α -mangostina na aromatase indica seu potencial como agente quimiopreventivo na carcinogênese mamária^[49].

A geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de espécies reativas de nitrogênio (ERN) pode ocorrer por vias endógenas e exógenas tais como: os processos inflamatórios, a irradiação UV, a cadeia respiratória mitocondrial, a peroxidação lipídica, e os poluentes ambientais^[50]. Em condições normais, as células mantêm o balanço de ERO/ERN em níveis adequados, pela ação de antioxidantes enzimáticos como SOD, CAT e GPx, assim como através de antioxidantes não enzimáticos, como GSH e ácido úrico^[51]. Quando ocorrem perturbações neste equilíbrio, as defesas celulares ficam sobrecarregadas e a célula sofre modificações oxidativas de carboidratos e proteínas, cortes de fita de DNA e peroxidação lipídica, podendo gerar o câncer. Comprovou-se que α -mangostin apresentou um efeito de proteção em processos que envolviam estresse oxidativo^[52-55], e que os mecanismos envolvidos incluíam a eliminação de radicais livres, a modulação de enzimas ligadas ao estresse oxidativo e a atenuação do processo inflamatório, bloqueando o câncer, ainda na sua etapa inicial^[46].

Na fase de promoção do câncer, as células com disfunção no controle de proliferação celular e das proteínas reguladoras de apoptose podem originar um núcleo de células pré-neoplásicas. Estudos realizados com α -mangostin mostraram que esta substância foi capaz de atuar, em concentrações micromolares, nesta fase do câncer. O mecanismo de atuação desta substância ocorre através da modulação dos principais mediadores do ciclo celular, gerando apoptose, por bloqueio na transição G1/S, resultando na interrupção no ciclo celular na fase G1 em: câncer de próstata^[56], melanoma^[57], câncer de mama^[58] e câncer pancreático^[59]. No câncer de próstata, sua atividade antiproliferativa envolveu ainda a regulação negativa das ciclinas D1 e D3, Rb fosforilado e ciclina E^[56]. Esta substância induz a apoptose de várias linhagens de células tumorais *in vitro*, assim como também em modelos de implante de tumor em animais, através de modulação das moléculas de sinalização pró e antiapoptóticas^[60,61], de forma seletiva, com baixa toxicidade para as células normais^[62-64].

Posteriormente, as células pré-neoplásicas transformam-se em neoplásicas quando passam a ter propriedades angiogênicas, promovendo a invasão de células e tecidos, gerando metástases e entrando no estágio de progressão do câncer. A supressão da angiogênese envolve principalmente a modulação da expressão do factor de crescimento endotelial vascular (VEGF), que estimula a proliferação das células endoteliais, a migração e a diferenciação para formar novos vasos sanguíneos. O VEGF liga-se aos seus

receptores, gerando mudanças conformacionais nos receptores, dimerização e autofosforilação dos resíduos de tirosina, ativando assim a cascata de sinalização como MAPK e via PI3K/Akt^[65]. A substância α -mangostin reduziu a expressão de VEGF, em células de câncer de mama T47D^[66], inibindo assim a sua progressão. Além disso, esta xantona mostrou ser capaz de prevenir a progressão do câncer pancreático induzido por hipóxia, que também está associada à angiogênese^[67].

Além da invasão de células tumorais que ocorre através do estroma associado ao tumor, as subsequentes metástases são os eventos centrais que ocorrem na progressão neoplásica. Uma das marcas da invasão tumoral e migração é a degradação excessiva da matriz extracelular mediada por enzimas proteolíticas, principalmente MMP-2 e MMP-9. A xantona α -mangostina é capaz de regular negativamente a expressão de MMP-2 e MMP-9, de maneira dose-dependente, bloqueando assim a invasão e a metástase de vários tipos de câncer como o carcinoma de pele^[68], de células escamosas de cabeça e pescoço^[69], o adenocarcinoma de pulmão^[70], o carcinoma de próstata^[71] e o câncer pancreático^[72].

Além de ser capaz de bloquear, reverter ou retardar a carcinogênese, agindo em todas as suas etapas por diferentes mecanismos, a α -mangostina também inibe a atividade do transportador ABC, que é uma interessante característica para a quimioterapia, pois previne a resistência a múltiplas drogas (MDR)^[73].

Além dos artigos descritos, há outro artigo de revisão sobre o α -mangostin, que mostra suas propriedades quimiopreventivas, antiproliferativas, pró-apoptóticas, antiangiogênicas e antimetastáticas contra uma ampla gama de tipos de células tumorais^[74].

A substância garcinona E, outra xantona presente no mangostão, mostrou citotoxicidade em várias linhagens de células de carcinoma hepatocelular (HCC)^[75], e inibiu a proliferação de células de feocromocitoma (PC12) e de glioma (U87), com dependência da dose, sendo esta atividade mais intensa nas células de glioma^[76]. Sua atividade anticâncer também foi avaliada em células de câncer colorectal (HCT-116), hepatocelular (HepG2) e mama (MCF-7). Sua atividade antiproliferativa contra HCT-116 e HepG2 ocorre devido à interrupção do ciclo celular na fase G0/G1 e indução de apoptose e necrose^[43]. O tratamento realizado com esta xantona em células de câncer oral (HSC-4) inibiu a sua proliferação destas células e o seu potencial de formação de colônias. Este estudo mostrou que o efeito antiproliferativo desta substância ocorre devido a apoptose, ocorrendo também a supressão da migração e invasão celular, por inibição da expressão de MMP-2 e MMP-9. Além destes resultados, foi observado ainda uma redução no nível de IL-6, que contribuiu para a inibição da metástase e um nível elevado de IL-2, sugerindo que a Garcinona E possui uma atividade anti-inflamatória e imunoestimulante, que contribui diretamente para o seu potencial antimetastático^[77]. O crescimento de dois outros tipos de linhagens cancerígenas de ovário (HEY e A2780) também foi inibido pelo tratamento com garcinona E, através da modulação do estresse induzido pelo retículo endoplasmático (RE) que ativou a via de sinalização (IRE) -1 α , induzindo assim a apoptose. O mecanismo apoptótico baseou-se na interrupção no ciclo celular na fase G2/M. O processo de invasão celular, baseado nas modificações nas MMPs e, diretamente relacionado à metástase foi bloqueado^[78]. Um estudo mais recente apresentou resultados semelhantes, pois esta xantona também mostrou uma potente atividade citotóxica em células de câncer cervical (HeLa), com mecanismos de ação que envolvem também a apoptose por interrupção do ciclo celular na fase G2/M. Além disso, esta xantona também foi capaz de suprimir a migração, a invasão e a adesão celular^[79].

Além da garcinona E, várias outras xantonas preniladas, também foram isoladas do mangostão (Ex: 8-desoxigartanina, gartanina, 9-hidroxiclabaxantona e tovofillina A). Todas mostraram atividade antiproliferativa sobre células de câncer gástrico (SGC 7901), cervical (HeLa) e hepatoma (HepG2), sendo que a garcinona-E possui o efeito citotóxico mais intenso. A substituição por unidades isoprênicas nos anéis A e B em combinação com uma substituição 4-oxo são determinantes para a atividade antiproliferativa, enquanto que a ciclização da unidade isoprênica ocasiona um decréscimo desta atividade^[80].

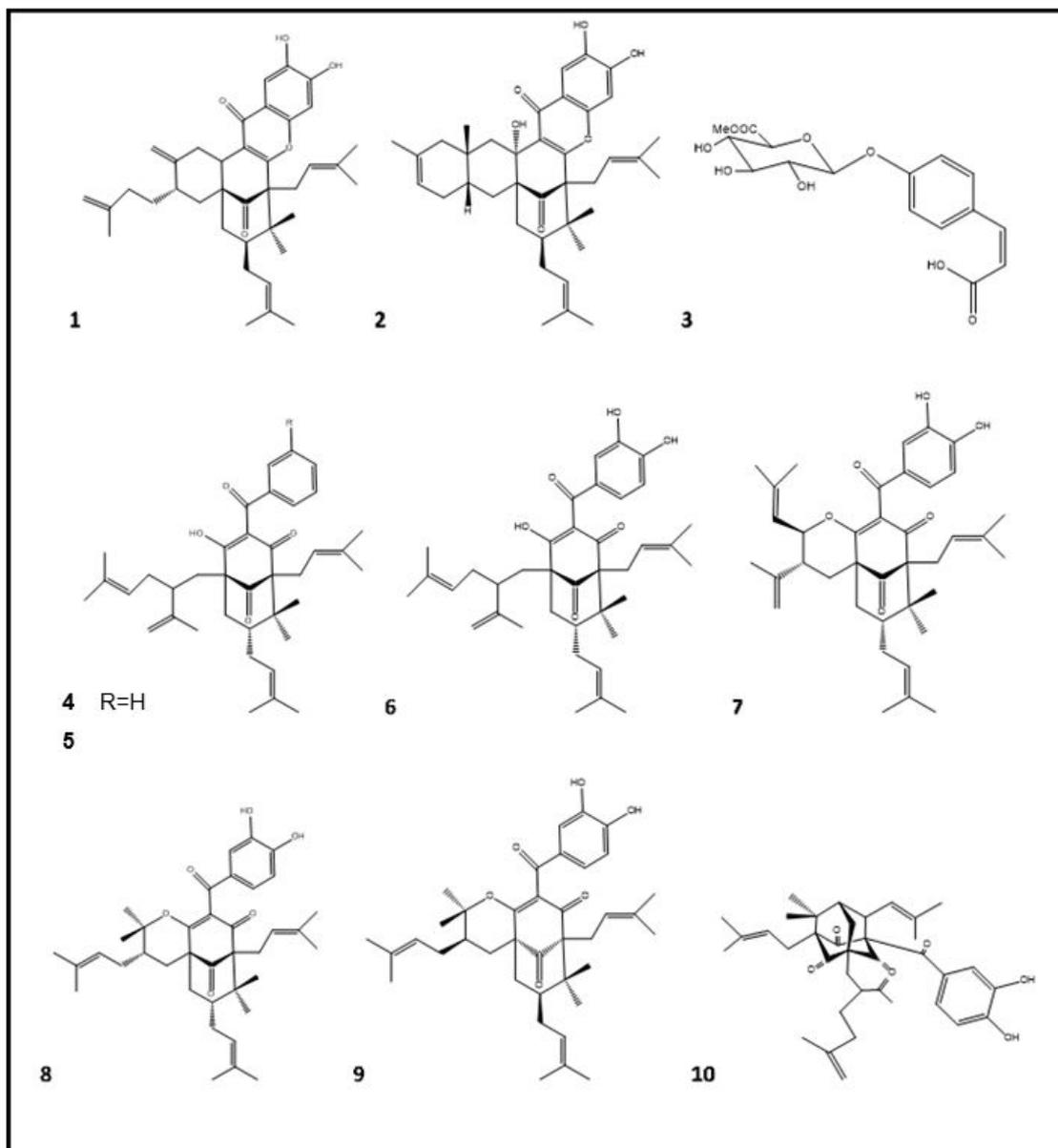
A garciniaxantona I e mais cinco substâncias conhecidas foram isoladas da casca de *G. xanthochymus* e testadas em quatro linhagens de células tumorais: hepatoma (HepG2), adenocarcinoma de pulmão (A549), câncer gástrico (SGC7901) e câncer de mama (MCF-7). Os resultados obtidos neste estudo permitiram concluir que a garciniaxantona I promove apoptose nas células de hepatoma (HepG2) pela via mitocondrial, mediada pelas caspases 3/7/9, através do aumento da expressão do gene Bax (pró-apoptótico), com redução da expressão dos genes supressores de apoptose (Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1). O tratamento com esta substância inibe também a expressão das metaloproteinases de matriz (MMP-7 e MMP-9), que são enzimas de degradação da matriz celular, ligadas à migração celular e à metástase^[81].

Pela primeira vez foram isoladas, dos frutos de *G. xanthochymus*, as garcinoxantocinas A e B e um fenilpropanoide glicosilado, além de sete substâncias já conhecidas, spiritona, 14-desoxigarcinol, xantochimol, garcicovina C, isogarcinol, cicloxantochimol e garcinialiptona (**FIGURA 2**). A atividade anticâncer destas substâncias foi avaliada contra células de glioblastoma (U251MG) e câncer de mama (MDA-MB-231). Entre as substâncias, a 14-desoxigarcinol mostrou a maior inibição na proliferação de células de U251MG, com IC₅₀ de 1,3 µM. As substâncias garcinoxantocinas A e B, xantochimol, garcicovina, isogarcinol e cicloxantochimol também mostraram uma boa atividade antiproliferativa, mostrando valores de IC₅₀ 1,8–6,0 µM, enquanto que a garcinialiptona foi inativa. Nenhuma destas substâncias mostrou efeito na viabilidade celular de MDA-MB-231. Ainda neste estudo, o tratamento das células de glioma com xantochimol inibiu a fosfo-tirosina STAT3, sugerindo que a atividade antiproliferativa desta substância poderia estar ligada à inibição desta proteína, uma vez que STAT-3 é um importante alvo que controla a proliferação e sobrevivência celular. A garcicovina C inibiu a migração das células do glioma e a atividade de ligação do STAT-3 ao DNA. Dessa forma, xantochimol e garcicovina C possuem um efeito inibidor do tumor, relacionado à inibição de STAT-3 em células tumorais^[82].

A substância 7-epiclusianona (**FIGURA 3**), isolada de *G. brasiliensis*, apresentou efeito citotóxico com concentração-dependente para células A-549, promovendo a interrupção do ciclo celular na transição G1/S^[83]. Em outro estudo, as substâncias garciniafenona e 7-epiclusianona foram testadas em diferentes células: melanoma (UACC-62), câncer de mama (MCF-7) e mama resistente a medicamentos (NCI-ADR), câncer de pulmão de não pequenas células (NCIH460), câncer de ovário (OVCAR 03), câncer de próstata (PC03), câncer de rim (786-0) e câncer de língua (CRL-1624 e CRL-1623). As duas benzofenonas mostraram efeito citotóxico em todas as linhagens, mas apenas a 7-clusianona teve um efeito dose-dependente, possuindo ainda uma maior citotoxicidade na maioria das linhagens tumorais. O mecanismo antiproliferativo envolvido está relacionado à inibição das catepsinas B e G. Estas duas enzimas são secretadas pelas células cancerosas e promovem a hidrólise da matriz celular do tumor primário, rompendo assim o limite com os tecidos da vizinhança deste, provocando a invasão e metástase^[84]. A viabilidade de duas linhagens celulares de glioblastoma (U251MG e U138MG) foi drasticamente inibida, quando ambas foram tratadas com 7-epiclusianona. A capacidade de formação de colônias, dos dois tipos de células, também foi significativamente reduzida, demonstrando efeitos em longo prazo, mesmo após a remoção do

tratamento. Em baixas concentrações, o tratamento das células de glioblastoma com a 7-epiclusianona (10 μ M) mostrou alterações na progressão do ciclo celular, causando diminuição na população da fase G2/M. Em culturas de U251S houve redução da população na fase S e na fase G2/M e em maiores concentrações de 7-epiclusianona (40 μ M) houve um significativo aumento na população Sub-G1 para as duas linhagens. Os resultados são compatíveis com a ocorrência de apoptose, mas os mecanismos envolvidos são diferentes e necessitam de um aprofundamento em estudos posteriores^[85].

FIGURA 2: Substâncias isoladas de *G. xanthochymus*: garcinoxantocinas A e B (1 e 2), fenilpropanóide glicosilado (3), spiritona (4), 14-desoxigarcinol (5), xantochimol (6), garcicovina C (7), isogarcinol (8), cicloxantochimol (9) e garcinialiptona (10).

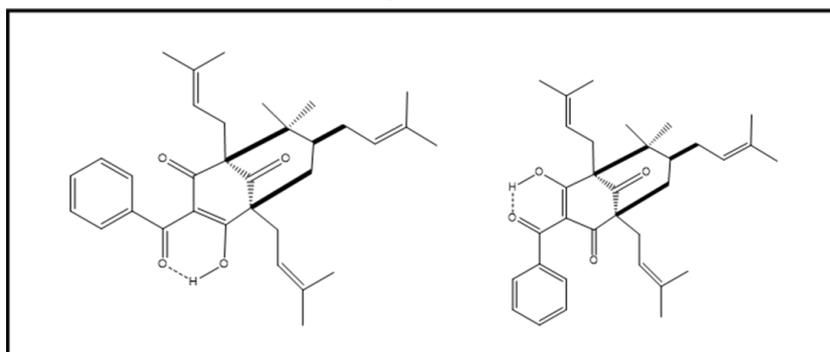


Em 2019, um estudo realizado por Taylor e colaboradores^[86], mostrou que a 7-epiclusianona também inibiu o crescimento de 60 linhagens de células cancerosas e induziu morte celular significativa em apenas alguns tipos de câncer, particularmente para o câncer renal, melanoma, tumores do SNC, câncer de cólon e câncer de pulmão de não pequenas células (NSCLC). Entre as linhagens de NSCLC, a mais suscetível à 7-

epiclusianona foi a linhagem NCIH460, que é originária do fluido pleural, sendo a escolhida para realização de estudos sobre os mecanismos envolvidos. A análise do ciclo celular revelou que a morte celular foi precedida por uma interrupção na fase G1/S, semelhante ao ocorrido em células de câncer de pulmão A549^[83], sugerindo que o mesmo mecanismo de ação pode estar envolvido, envolvendo apoptose de maneira dose-dependente. Ainda neste estudo, em concentrações menores que 200 nM, foi observada uma significativa inibição da invasão celular. Além disso, a 7-epi-clusianona, a uma concentração de 20 µM, mostrou reduzir significativamente a formação dos tubos de células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC). Esta etapa é crítica para o processo de angiogênese, sendo utilizada tanto pelo processo de cicatrização de feridas, quanto na alimentação do tumor. Dessa forma, a 7-epi-clusianona possivelmente atua para inibir o crescimento contínuo do tumor e as metástases da linhagem NCIH460. Além disso, esta substância possui uma boa capacidade imunomoduladora, que torna possível a combinação dos dois tratamentos, a quimioterapia citotóxica e a terapia imunológica, resultando em uma maior eficácia.

Em um estudo mais recente, a 7-epiclusianona apresentou atividade antiproliferativa contra células de câncer de mama (MCF-7 e Hs 578T), sendo mais responsivo na primeira. Este efeito foi relacionado à parada no ciclo celular na fase G1/S, nas duas linhagens, por modulação de reguladores do ciclo celular e sua atividade pró-apoptótica foi associada à sua capacidade de aumentar a razão BAX (proteína apoptótica) / BCL-2 (proteína anti-apoptótica)^[87].

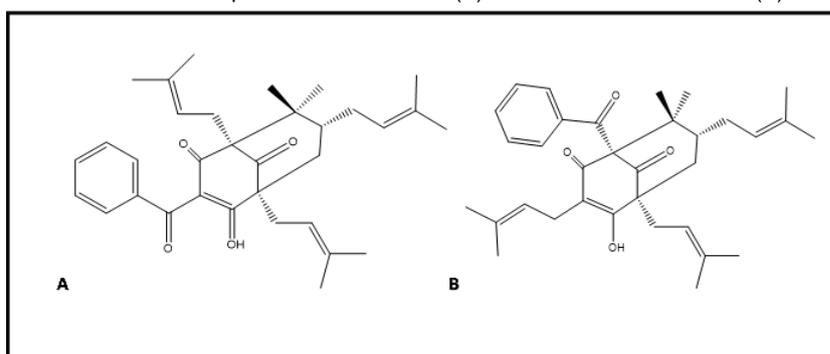
FIGURA 3: Formas tautoméricas da 7-epiclusianona isolada de *Garcinia brasiliensis*.



Atividade anticâncer do gênero *Clusia*

A clusianona (**FIGURA 4**) é uma benzofenona poliisoprenilada, isômera da nemorosona, que foi isolada pela primeira vez das raízes de *Clusia congestiflora*^[88].

FIGURA 4: Estruturas químicas da clusianona (A) e seu isômero nemorosona (B).



Os enantiômeros nemorosona e clusianona, assim como outros pares de enantiômeros de acilfloroglucinol policíclicos poliprenilado (PPAP), foram obtidos por via sintética, para a realização dos testes de citotoxicidade de cada enantiômero puro contra diferentes linhagens tumorais. Os resultados obtidos para os tratamentos com os enantiômeros da nemorosona, da clusianona, são similares para as linhagens de carcinoma cervical (HeLa), carcinoma pancreático (MIA-PaCa2) e câncer de mama (MCF7). Os enantiômeros da nemorosona possuem atividades muito semelhantes aos da clusianona^[89]. Em estudos realizados anteriormente foi observado que a nemorosona atua por dissipação no potencial da membrana mitocondrial e liberação de Ca^{+2} e níveis elevados de estresse celular^[90]. Desta forma, a similaridade entre os isômeros clusianona e nemorosona deve-se às ações físico-químicas comparáveis membrana mitocondrial^[89]. Esta ação nas mitocôndrias foi demonstrada em um estudo posterior, realizado em células isoladas de fígado de rato (HepG2). Neste estudo, o tratamento com a clusianona e a nemorosona promovem o desacoplamento mitocondrial protonofórico, pela dissociação dos prótons fenólicos na matriz mitocondrial. Isso foi evidenciado pela dissipação do potencial de membrana mitocondrial e pela inibição de influxo de Ca^{+2} , pela promoção do efluxo em mitocôndrias carregadas com Ca^{+2} e por uma diminuição nos níveis de ATP e NAD (P) H e geração de ROS. A ação citotóxica e o desacoplamento da clusianona foram, consideravelmente, menores do que as da nemorosona, provavelmente devido à presença de uma ligação de hidrogênio intramolecular, que diminui a interação com os receptores^[91].

A substância nemorosona, isolada de resinas florais de *Clusia rosea*, mostrou atividade citotóxica em células de carcinoma epitelial (HeLa), epidermóide (Hep-2), prostáticos (PC-3) e do sistema nervoso central (U-251)^[92]. Esta substância também mostrou citotoxicidade *in vitro* contra células de mama, colon, ovário, fígado e pulmão^[93]. Em células leucêmicas do tipo Jurkat e K-562 esta substância mostrou atividade antiproliferativa e apoptótica, através da inibição da enzima Akt/PKB promovendo a interrupção do ciclo celular. Ainda neste trabalho, foram realizadas avaliações *in vivo* que sugerem que a nemorosona afeta significativamente a hematopoiese em camundongos^[94].

A nemorosona mostrou atividade citotóxica em linhas de células de neuroblastoma do tipo NB69, Kelly, SK-N-AS e LAN-1, assim como nas células LAN-1 quimioresistentes à cisplatina, etoposideo, adriamicina e 5-fluoruracil. Nas células LAN-1, esta benzofenona, apresentou um aumento de células na fase G0/G1 e uma diminuição da percentagem de células na fase S, com aumento dos níveis de proteína p21Cip1, uma das principais reguladoras interrupção do ciclo celular na fase G1/S, evidenciando a presença de um mecanismo apoptótico. Os danos causados ao DNA, característicos de 'apoptose tardia', foram avaliados semiquantitativamente e considerados significativos. Houve também um aumento significativo de caspases-3, de maneira dose-dependente. A atividade enzimática do imunoprecipitado Akt/PKB foi fortemente inibida *in vitro*, sugerindo que, seu efeito antiproliferativo, pelo menos em parte, está relacionado ao alvo Akt/PKB, nas linhagens de células estudadas^[95].

Sua ação nas células pancreáticas (Capan-1, AsPC-1 e MIA-PaCa-2) difere do mecanismo de ação em células leucêmicas já descrito anteriormente^[94], envolvendo a liberação do citocromo C das mitocôndrias e subsequente apoptose dependente de caspase. Os resultados mostraram ainda que o potencial da membrana mitocondrial foi abolido e houve um aumento dos níveis de cálcio citosólico. O perfil de expressão gênica revelou 336 genes afetados pela nemorosona. Um total de 75 genes foi alterado, em todas as três linhagens celulares, e muitos destes estavam dentro da rede de resposta de proteína desdobrada (UPR). A UPR é desencadeada pelo acúmulo de proteínas desdobradas ou mal dobradas no retículo endotelial (RE) e tem como objetivo restabelecer a homeostase celular, desencadeando, porém, a apoptose caso esta não seja

alcançada. Em resumo, o mecanismo anticâncer da nemorosona nas células pancreáticas mostrou uma rápida elevação do nível de cálcio citosólico, despolarização da membrana mitocondrial, seguido por ativação da apoptose, por meio de uma via de resposta ao estresse denominada UPR^[96].

A nemorosona também mostrou atividade antiproliferativa em células de carcinoma de mama (MCF-7), com receptor de estrogênio positivo pela interrupção do ciclo celular na fase G0/G1. Este efeito antiproliferativo parece envolver a interação da nemorosona com os receptores de estrogênio, pois, foi significativamente reduzido por adição de 17 β -estradiol e intensificado por adição de um antagonista de receptor de estrogênio. Não houve citotoxicidade em células tumorais de MDA-MD-231, uma linhagem de células de câncer de mama com receptor de estrogênio negativo e em uma linhagem celular de carcinoma de próstata (LNCaP), confirmando a interação da nemorosona com os receptores de estrogênio^[97]. Em um estudo posterior, seguindo-se diferentes metodologias, a nemorosona inibiu a ação do 17- β -estradiol em células de câncer de mama dependente de estrogênio (MCF-7 BUS), confirmando sua ação antiestrogênica^[98]. Maiores investigações sobre os mecanismos anticâncer envolvidos nestas células de adenocarcinoma de mama (MCF-7 BUS) mostraram que, além da parada discreta do ciclo celular na fase G0/G1, a nemorosona causa depleção significativa na fase G2/M. Além disso, ocorreu a alteração da expressão de 19 genes relacionados a diferentes vias, especialmente o ciclo celular, a apoptose e receptores hormonais^[99].

Já foi mencionado neste trabalho que o efeito citotóxico da nemorosona contra células de carcinoma hepático (HepG2) atua por um mecanismo que promove a dissipação do potencial de membrana de mitocôndrias, através de desacoplamento protonofórico e ativação de deflexão de adenosina trifosfato (ATP)^[90]. Em outro estudo realizado em células HepG2, o tratamento com nemorosona inibiu significativamente a proliferação celular, tanto na presença quanto na ausência dos fatores solúveis secretados pelos macrófagos associados ao tumor (TAMs), com redução do número de colônias e da migração celular^[100].

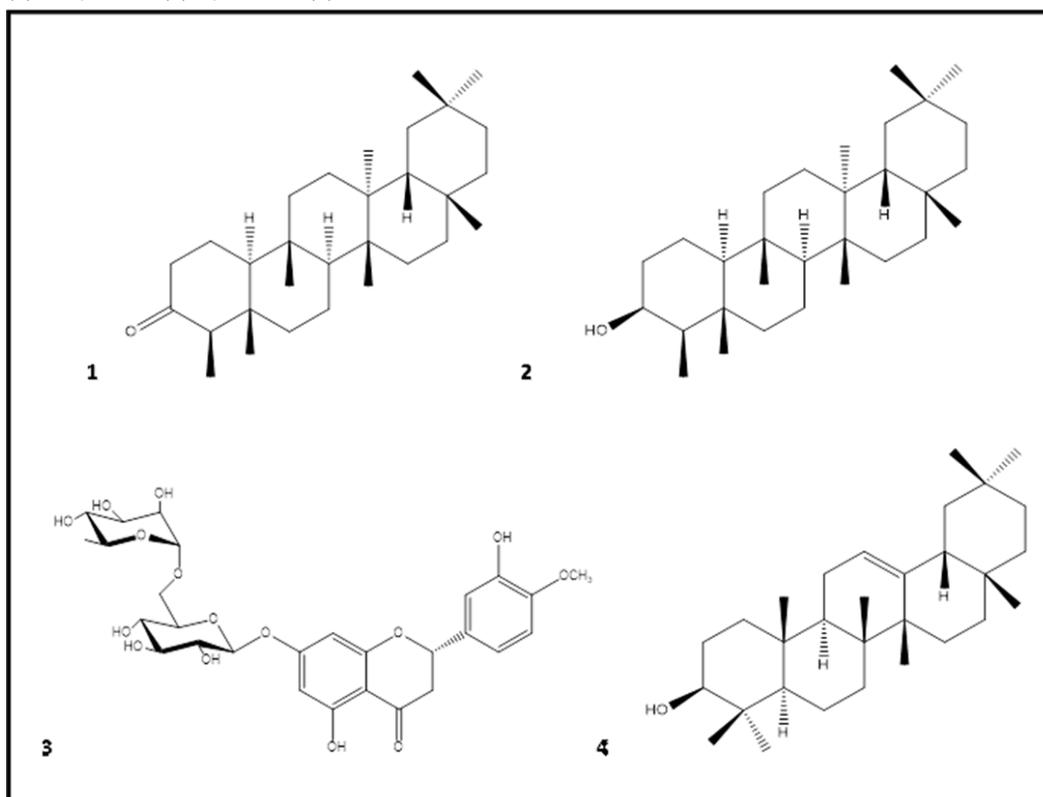
Em outro trabalho, foi mostrado que o efeito citotóxico da nemorosona, em células de carcinoma de colo LoVo WT e LoVo Dox (resistentes à doxorubicina), foi dose e tempo-dependente, inclusive restaurando a sensibilidade da linhagem resistente à doxorubicina. Ocorreu apoptose por interrupção do ciclo celular na fase G0/G1, nas duas linhagens tumorais, tanto no tratamento realizado apenas com nemorosona como no tratamento conjunto realizado com doxorubicina. A produção de ROS foi significativamente maior do que a obtida apenas com o tratamento com doxorubicina, especialmente em células resistentes. Isso sugere que, na indução da morte celular, o efeito sinérgico de nemorosona e doxorubicina envolveu o aumento da produção de ROS. O tratamento com nemorosona ou com doxorubicina em células LoVo WT também diminuiu significativamente o potencial de membrana mitocondrial. Já os tratamentos combinados aumentaram o potencial de membrana. O efeito sinérgico das combinações destes tratamentos na apoptose é mediado pela produção de ROS, podendo estar em estreita associação com a concentração de nemorosona. Os co-tratamentos também induziram a parada do ciclo celular, resultando em apoptose por uma maior produção de ROS e alteração drástica do potencial de membrana^[101]. O mesmo grupo de pesquisa estudou a ação anticâncer de nemorosona sobre células de câncer colorretal (CRC), sendo observado que a sua viabilidade celular e a sua capacidade clonogênica foram reduzidas significativamente por este tratamento, de maneira dose-dependente, induzindo apoptose com interrupção do ciclo celular na fase G0/G1. Além disso, a nemorosona reduziu a expressão do gene BCL2 (antiapoptótico) e intensificou a expressão dos genes TP53 e BAX (pró-apoptóticos), resultando na ativação das caspases 3/7. Esta benzofenona poliisoprenilada atenuou a migração celular e a invasão tumoral pela inibição da atividade de MMP9, pelo aumento da E-caderina (envolvida na adesão celular), assim como pela diminuição da

expressão de β -catenina e vimentina, que são proteínas que estão envolvidas na transição epitelial-mesênquimal (EMT), diminuindo assim o potencial metastático das células CRC^[102].

Em estudo recente, a citotoxicidade de vinte e cinco substâncias, isoladas de extratos de *Clusia criuva*, foram testadas em células de glioblastoma humano (GL-15). O ácido betulínico não esterificado, o ácido betulínico esterificado pelo feruloil em C-28, as propolonas B, C e D e a hiperisampsina E apresentaram um potencial citotóxico superior a temozolomida. Esta substância é o principal agente quimioterápico usado para combater a proliferação de células de glioma (grau IV), sendo utilizado como controle^[103].

Foi avaliada a citotoxicidade dos extratos em hexano, acetato de etila e metanol de *Clusia latipes* em células de câncer de próstata humano (PC-3), células de câncer de cólon (RKO), células de astrocitoma (D-384) e células de câncer de mama (MCF-7). O extrato em acetato de etila apresentou citotoxicidade mais relevante e o hexânico mostrou atividade genotóxica *in vitro*, avaliada através de ensaio Cometa. Friedelina, friedolan-3-ol e hesperidina, isoladas do extrato hexânico são substâncias citotóxicas, assim como β -amirina, isolada do extrato em acetato de etila (**FIGURA 5**)^[104].

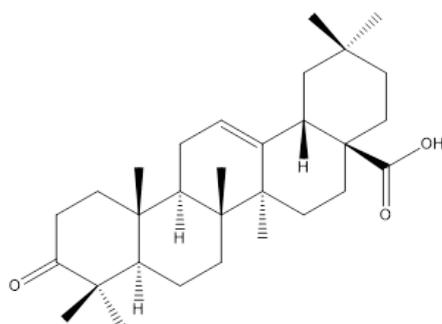
FIGURA 5: Triterpenos pentacíclicos isolados de *Clusia latipes* com atividade anticancer: friedelina (1), friedolan-3 β -ol (2), hesperidina (3) e β -amirina (4).



As aplicações medicinais de espécies de Clusiaceae já são conhecidas há muito tempo, destacando-se sua atividade antineoplásica. Por esse motivo, nosso grupo desenvolve pesquisas da família Clusiaceae que se iniciou com a espécie *Clusia studartiana*, inédita do ponto de vista químico e farmacológico, registrada no Patrimônio Genético (SIGEN), sob o número AB5D582. O projeto denomina-se “Bioprospecção e isolamento de produtos naturais com potencial atividade antitumoral de Clusiaceae” (FIOCRUZ/UERJ) e é realizado em colaboração com o Laboratório de Farmacologia Molecular/FIOCRUZ. Como resultado deste trabalho, dois triterpenos pentacíclicos friedolan-3 β -ol (**FIGURA 5**) e o ácido 3-oxo-olean-12-en-28-oico

(FIGURA 6) foram isolados do extrato hexânico das partes aéreas de *Clusia studartiana* e mostraram inibição na proliferação de células de leucemia mielóide (K562). Contudo, apenas o ácido 3-oxo-olean-12-en-28-oico foi capaz de aumentar a percentagem de Anexina (V)/Iodeto de propídeo (PI) nas células ($p < 0,05$), com 40% de aumento de caspase 3/7, mostrando ainda inibição na atividade do P-gp. Dessa forma, o ácido 3-oxo-olean-12-en-28-oico mostrou-se como um promissor agente anticâncer, inclusive prevenindo a resistência a múltiplas drogas (MDR) [105].

FIGURA 6: Ácido 3-oxo-olean-12-en-28-oico isolado de *Clusia studartiana* com atividade anticâncer.



A citotoxicidade dos triterpenos já é bem descrita na literatura. Estas substâncias inibem a proliferação celular e induzem a morte celular através de alvos específicos para câncer como proteassomas, Bcl-2, NF- κ B, TNF, STAT-3, TLR, PI3K/Akt/mTOR e angiogênese [106]. Basicamente, seu mecanismo anticâncer consiste em inibição da inflamação e do estresse oxidativo, na regulação do ciclo celular e na indução de apoptose e na redução da proliferação celular. Os triterpenos destacam-se na pesquisa e no desenvolvimento de novas terapias anticâncer naturais/ semissintéticas, em particular para tratamento de cânceres dependentes de hormônio sexual (mama, ovário, endométrio, próstata e testículo), que estão relacionados à alta incidência de mortes em todo o mundo. Nestes tipos de câncer, os hormônios sexuais mantêm altas taxas mitóticas e aumentam a proliferação celular, aumentando a probabilidade de incidência de erros genéticos, divisão celular desordenada e fenótipos malignos [107].

Conclusão

No cenário brasileiro, onde a biodiversidade de seus biomas ainda permanece pouco explorada, a bioprospecção de substâncias anticâncer na família Clusiaceae pode contribuir para a descoberta de fitofármacos que poderiam ser associados a um desenvolvimento tecnológico moderno e sustentável. Nossa perspectiva é realizar um estudo mais profundo com *Clusia studartiana*, para a valorização da nossa biodiversidade através da sua possível utilização terapêutica e econômica.

Referências

1. Newman DJ. The influence of brazilian biodiversity on searching for human use pharmaceuticals. *J Braz Chem Soc.* 2017; 28(3): 402-414. ISSN 01035053 [CrossRef].
2. SiBBR. **Sistema da Informação sobre a Biodiversidade Brasileira.** Acesso em: 05 jan. 2021. Disponível em: [Link].
3. Saccaro Junior NL. **Bioprospecção e desenvolvimento sustentável. Desafios do Desenvolvimento.** Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA) [online] 2012; Acesso em: 22 fev. 2021. Disponível em: [Link].

4. Institute for Human Data Science (IQVIA). **The global use of medicine in 2019 and outlook to 2023 – Forecasts and Areas to Watch**. Institute Reports January 2019. Acesso em: 18 fev. 2021. Disponível em: [\[Link\]](#).
5. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **J Nat Prod**. 2020; 83(3): 770–803. ISSN 01633864, 15206025. [\[CrossRef\]](#).
6. American Cancer Society (ACS). **Global cancer facts and figures**. Atlanta 2018. Acesso em: 10 jan. 2021. Disponível em: [\[Link\]](#).
7. Vieira LLM, Kijoa A. 2009. **Triterpenes from the plants of the family Clusiaceae (Guttiferae): chemistry and biological activities. In natural products chemistry biochemistry and pharmacology**. Goutam Brahmachari (Editor), Narosa Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi, India, 326-381. ISBN: 978-81-7319-886-1.
8. Pradeep Kumar SV, Puranik SB, Nandini BN. Evaluation of alpha-mangostin, isolated and purified from the crude extract of *Garcinia mangostana*, for the antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant activity. **Int J Pharm Pharm Res**. 2017; 8(2): 75-95. ISSN 2349-7203. [\[Link\]](#).
9. Ibrahim SRM, Abdallah HM, El-Halawany AM, Radwan MF, Shehata IA, Al-Harshany EM *et al*. Garcixanthonones B and C, new xanthonones from the pericarps of *Garcinia mangostana* and their cytotoxic activity. **Phytochem Lett**. 2018. 12-16. ISSN 1874-3900 [\[CrossRef\]](#).
10. Jiang Y, Xiao L, Fu W, Tang Y, Lertnimitphun P, Kim N *et al*. Gaudichaudione H Inhibits inflammatory responses in macrophages and dextran sodium sulfate-induced colitis in mice. **Front Pharmacol**. 2020; 10: 1561. ISSN 1663-9812. [\[CrossRef\]](#).
11. Espírito Santo BLS, Santana LF, Junior WHK, Araújo FO, Bogo D, Freitas KC *et al*. Medicinal potential of *Garcinia* species and their compounds. **Molecules** 2020; 25: 4513. eISSN 1420-3049 [\[CrossRef\]](#).
12. Stevens PF. 2001 **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 14. July 2017. [and more or less continuously updated since]. Acesso em: 20 mar. 2020. Disponível em [\[Link\]](#).
13. REFLORA - Flora do Brasil 2020 - **Algas Fungos e Plantas**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Acesso em: 15 ago. 2020. Disponível em: [\[Link\]](#).
14. Ullah MF, Ahmad A. **Nutraceuticals and natural product derivatives: disease Prevention & Drug Discovery**. John Wiley & Sons, 2019. ISBN: 978-1-119-43667-6.
15. Chen TH, Tsai MJ, Fu YS, Weng CF. The exploration of natural compounds for anti-diabetes from distinctive species *Garcinia linnii* with comprehensive review of the garcinia family. **Biomolecules**. 2019; 9(11): 641. ISSN 2218-273X. [\[CrossRef\]](#).
16. Karim N, Rahman A, Chanudom L, Thongsom M, Tangpong J. Mangosteen vinegar rind from *Garcinia mangostana* prevents high-fat diet and streptozotocin-induced type ii diabetes nephropathy and apoptosis. **J Food Sci**. 2019; 84(5): 1208-1215. ISSN 1750-3841. [\[CrossRef\]](#).
17. Ali MY, Paul S, Tanvir EM, Hossen MS, Rumpa NN, Saha M *et al*. Antihyperglycemic, antidiabetic, and antioxidant effects of *Garcinia pedunculata* in rats. **Evid-Based Compl Alt**. [online]. 2017. ID 2979760. Acesso em: 20 fev. 2021. ISSN 1741-4288. [\[CrossRef\]](#).
18. Brito LC, Berenger AL, Figueiredo MR. An overview of anticancer activity of *Garcinia* and *Hypericum*. **Food Chem Toxicol**. 2017; 109: 847-862. ISSN 0278-6915 [\[CrossRef\]](#).
19. Mello RFA, Pinheiro WBS, Benjamim JK, Siqueira FC, Chisté RC, Santos AS. A fast and efficient preparative method for separation and purification of main bioactive xanthonones from the waste of *Garcinia mangostana* L. by high-speed counter current chromatography. **Arab J Chem**. 2021; 103252. ISSN 1878-5352. [\[CrossRef\]](#).

20. John OD, Mouatt P, Panchal SK, Brown L. Rind from purple mangosteen (*Garcinia mangostana*) attenuates diet-induced physiological and metabolic changes in obese rats. **Nutrients**. 2021; 13: 319. ISSN 2072-6643 [[CrossRef](#)].
21. Al-Shagdari A, Alarcón AB, Cuesta-Rubio O, Piccinelli AL, Rastrelli L. Biflavonoids, main constituents from *Garcinia bakeriana* leaves. **Nat Prod Comm**. 2013; 8(9): 1237-1240. ISSN 15559475. [[CrossRef](#)].
22. Fuentes RG, Pearce KC, Du Y, Rakotondrafara A, Valenciano AL, Cassera MB *et al*. Phloroglucinols from the roots of *Garcinia dauphinensis* and their antiproliferative and antiplasmodial activities. **J Nat Prod**. 2019; 82(3): 431-439. ISSN 0163-3864. [[CrossRef](#)].
23. Nanjing University of Chinese Medicine. 2006. **Dictionary of Chinese Traditional Medicines**. Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai, China.
24. Wang X, Deng R, Lu Y, Xu Q, Yan M, Ye D *et al*. Gambogic acid as a non-competitive inhibitor of ATPbinding cassette transporter B1 reverses the multidrug resistance of human epithelial cancers by promoting ATP-binding CassetteTransporter B1 protein degradation. **Basic Clin Pharmacol**. 2013; 112: 25-33. ISSN 2279-0780. [[CrossRef](#)].
25. Kaennakam S, Sukandar ER, Juntagoot T, Siripong P, Tip-Pyang S. Four new xanthenes and their cytotoxicity from the stems of *Garcinia schomburgkiana*. **J Nat Med**. 2021. 75(4): 871-876. ISSN 13403443. [[CrossRef](#)].
26. Aggarwal V, Tuli HS, Kaur J, Aggarwal D, Parashar G, Parashar NC *et al*. Garcinol exhibits anti-neoplastic effects by targeting diverse oncogenic factors in tumor cells. **Biomedicines**. 2020; 8(5): 103. ISSN 2227-9059. [[CrossRef](#)].
27. Kopytko P, Piotrowska K, Janisiak J, Tarnowski M. Garcinol-A natural histone acetyltransferase inhibitor and new anti-cancer epigenetic drug. **Int J Mol Sci**. 2021; 22: 2828. ISSN 1422-0067. [[CrossRef](#)].
28. Lüttge U. **Clusia A woody neotropical genus of remarkable plasticity and diversity**. Ecological Studies 194. Springer Berlin Heidelberg. 2007. ISBN 978-3-540-37243-1.
29. Kumar S, Yanshu, Sharma S, Chattopadhyay SK. The potential health benefit of polyisoprenylated benzophenones from *Garcinia* and related genera: ethnobotanical and therapeutic importance. **Fitoterapia**. 2013; 89(1): 86-125. ISSN 0367-326X. [[CrossRef](#)].
30. Anholeti MC, Paiva, SR, Figueiredo MR, Kaplan MAC. Chemosystematic aspects of polyisoprenylated benzophenones from the Genus *clusia*. **An Acad Bras Cienc**. 2015; 87(1): 289-301. ISSN 0001-3765. [[CrossRef](#)].
31. Ferraz CG, Silva MDCC, Pereira DASG, Caldas BVV, Mattos R, Oliveira VVG *et al*. Polyprrenylated benzophenone derivatives from *Clusia burle-marxii* and their chemotaxonomic significance. **Biochem Systemat Ecol**. 2021; 94: 104218. ISSN 0305-1978. [[CrossRef](#)].
32. Silva EM, Araújo RM, Freire-Filha LG, Silveira ER, Lopes NP, Paula JE *et al*. Clusioxanthone and tocotrienol series from *Clusia pernambucensis* and their antileishmanial activity. **J Braz Chem Soc**. 2013; 24(8): 1314-1321. ISSN 1678-4790. [[CrossRef](#)].
33. Ribeiro PR, Ferraz CG, Guedes MLS, Martins D, Cruz FG. A new biphenyl and antimicrobial activity of extracts and compounds from *Clusia burlemarxii*. **Fitoterapia**. 2011; 82(8): 1237-1240. ISSN 1873-6971. [[CrossRef](#)].
34. Silva MCA, Paiva SR. Antioxidant activity and flavonoid content of *Clusia fluminensis* Planch. & Triana. **An Acad Bras Cienc**. 2012; 84(3): 609-616. ISSN 0001-3765. [[CrossRef](#)].
35. Ferreira RO, de Carvalho Jr. AR, Riger CJ, Castro RN, da Silva TMS, de Carvalho MG. Chemical constituents and *in vivo* antioxidant activity of flavonoids isolated of *Clusia lanceolata* (Clusiaceae). **Quim Nova**. 2016; 39 (9): 1093-1097. [[CrossRef](#)].

36. Ferraz CG. **Derivados poliprenilados de benzofenonas, triterpenos, esteróides, bifenila e xantona de *Clusia burleamarxii* e atividade citotóxica contra células GL-15, de glioblastoma humano.** Salvador. 2011. Dissertação de Mestrado [Programa de Pós-graduação em Química] – Universidade Federal da Bahia, UFBA, Salvador. 2011. [\[Link\]](#).
37. Carballo DD, Seeber S, Strumberg D, Hilger RA. Novel antitumoral compound isolated from *Clusia rosea*. **Int J Clin Pharmacol Ther.** 2003; 41(12): 622-3. ISSN 0946-1965. [\[CrossRef\]](#).
38. Ferraz CG, Ribeiro PR, Marques EJ, Mendonça R, Guedes MLS, Silveira ER *et al.* Polyprenylated benzophenone derivatives with a novel tetracyclo [8.3.1.0^{3,11}.0^{5,10}] tetradecane core skeleton from *Clusia burle-marxii* exhibited cytotoxicity against GL-15 glioblastoma-derived human cell line. **Fitoterapia.** 2019; 138: 104346. ISSN 0367-326X. [\[CrossRef\]](#).
39. Cuesta-Rubio O, Frontana-Uribeb BA, Ramírez-Apanb T, Cárdenas J. Polyisoprenylated benzophenones in cuban propolis; biological activity of nemorosone. **Z Naturforsch C J Biosci.** 2002; 57(3-4): 372-8. ISSN 0341-0382. [\[CrossRef\]](#).
40. Díaz-Carballo D, Seeber S, Strumberg D, Hilger RA. Novel antitumoral compound isolated from *Clusia rosea*. **Int J Clin Pharmacol Ther.** 2003; 41(12): 622-623. [\[CrossRef\]](#).
41. Díaz-Carballo D, Malak S, Freistühler M, Elmaagacli A, Bardenheuer W, Reusch HP. Nemorosone blocks proliferation and induces apoptosis in leukemia cells. **Int J Clin Pharmacol Ther.** 2008; 46(8): 428-439. ISSN 0946-1965. [\[CrossRef\]](#).
42. Díaz-Carballo D, Malak S, Bardenheuer W, Freistuehler M, Reuscha HP. Cytotoxic activity of nemorosone in neuroblastoma cells. **J Cell Mol Med.** 2008; 12 (6B): 2598-2608. ISSN 1582-4934. [\[CrossRef\]](#).
43. Mohamed GA, Al-Abd AM, El-Halawany AM, Abdallah HM, Ibrahim SRM. New xanthenes and cytotoxic constituents from *Garcinia mangostana* fruit hulls against human hepatocellular, breast and colorectal cancer cell lines. **J Ethnopharmacol.** 2017. 198: 302-312. ISSN 1872-7573. [\[CrossRef\]](#).
44. Semwal RB, Semwal DK, Vermaak I, Viljoen A. A comprehensive scientific overview of *Garcinia cambogia*. **Fitoterapia.** 2015; 102: 134-148. ISSN 0367-326X. [\[CrossRef\]](#).
45. Hassan, NKNC, Taher M, Susanti D. Phytochemical constituents and pharmacological properties of *Garcinia xanthochymus*: a review. **Biomed Pharmacother.** 2018; 106: 1378-1389. ISSN 7533322. [\[CrossRef\]](#).
46. Zhang K-J, Gu Q-L, Yang K, Ming X-J, Wang J-X. Anticarcinogenic effects of α -mangostin: a review. **Planta Med.** 2017; 83 (188-202). ISSN 0032-0943. [\[CrossRef\]](#).
47. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient: molecular basis, open questions and promises **J Nutr Biochem.** 2005. 16(8): 449-66. ISSN 0955-2863 [\[CrossRef\]](#).
48. Jung H-A, Su B-N, Keller WJ, Mehta RG, Kinghorn AD. Antioxidant xanthenes from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen). **J Agric Food Chem.** 2006; 54(6): 2077-2082. ISSN 0021-8561. [\[CrossRef\]](#).
49. Balunas MJ, Brueggemeier BSRW, Kinghorn AD. Xanthenes from the botanical dietary supplement mangosteen (*Garcinia mangostana*) with aromatase inhibitory activity. **J Nat Prod.** 2008; 71(7): 1161-1166. ISSN 0163-3864. [\[CrossRef\]](#).
50. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol Rev.** 1994; 74(1): 139-162. ISSN 1522-1210. [\[CrossRef\]](#).
51. Ma Q. Transcriptional responses to oxidative stress: pathological and toxicological implications. **Pharmacol Ther.** 2010. 125(3): 376-393. ISSN 1879-016X. [\[CrossRef\]](#).

52. Sampath PD, Vijayaraghavan K. Cardioprotective effect of α -mangostin, a xanthone derivative from mangosteen on tissue defense system against isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **J Biochem Mol Toxicol**. 2007; 21(6): 336-339. ISSN 1099-0461. [[CrossRef](#)].
53. Sampath PD, Kannan V. Mitigation of mitochondrial dysfunction and regulation of eNOS expression during experimental myocardial necrosis by alpha-mangostin, a xanthonic derivative from *Garcinia mangostana*. **Drug Chem Toxicol**. 2009; 32(4): 344-52. ISSN 1525-6014. [[CrossRef](#)].
54. Buelna-Chontal M, Correa F, Hernández-Reséndiz S, Zazueta C, Pedraza-Chaverri J. Protective effect of α -mangostin on cardiac reperfusion damage by attenuation of oxidative stress. **J Med Food**. 2011; 14(1): 1370-1374. ISSN 1557-7600. [[CrossRef](#)].
55. Márquez-Valadez B, Lugo-Huitrón R, Valdivia-Cerda V, Miranda-Ramírez LR, Pérez-De La Cruz V, González-Cuahutencos O *et al*. The natural xanthone alpha-mangostin reduces oxidative damage in rat brain tissue. **Nutr Neurosci**. 2009; 12(1): 35-42. ISSN 1476-8305. [[CrossRef](#)].
56. Johnson JJ, Petiwala SM, Syed DN, Rasmussen JT, Adhami VM, Siddiqui IA *et al*. α -Mangostin, a xanthone from mangosteen fruit, promotes cell cycle arrest in prostate cancer and decreases xenograft tumor growth. **Carcinogenesis**. 2012; 33(2): 413-419. ISSN 1460-2180. [[CrossRef](#)].
57. Wang JJ, Zhang W, Sanderson BJ. Altered mRNA expression related to the apoptotic effect of three xanthenes on human melanoma SK-MEL-28 cell line. **Biomed Res Int**. 2013; 7: 715603. ISSN 2314-6141. [[CrossRef](#)].
58. Kurose H, Shibata MA, Iinuma M, Otsuki Y. Alterations in cell cycle and induction of apoptotic cell death in breast cancer cells treated with α -mangostin extracted from mangosteen pericarp. **J Biomed Biotechnol**. 2012; 672428. [[CrossRef](#)].
59. Xu Q, Ma J, Lei J, Duan W, Sheng L, Chen X *et al*. α -Mangostin suppresses the viability and epithelial-mesenchymal transition of pancreatic cancer cells by downregulating the PI3 K/Akt pathway. **Biomed Res Int**. 2014; 546353. ISSN 2314-6141. [[CrossRef](#)].
60. Aisha AF, Abu-Salah KM, Ismail Z, Majid AM. *In vitro* and *in vivo* anti-colon cancer effects of *Garcinia mangostana* xanthenes extract. **BMC Complement Altern Med**. 2012; 12: 104. ISSN 1472-6882. [[CrossRef](#)].
61. Watanapokasin R, Jarinthanan F, Jerusalem A, Suksamran S, Nakamura Y, Sukseree S *et al*. Potential of xanthenes from tropical fruit mangosteen as anticancer agents: caspase-dependent apoptosis induction *in vitro* and in mice. **Appl Biochem Biotechnol**. 2010; 162(4): 1080-1094. ISSN 1559-0291. [[CrossRef](#)].
62. Matsumoto K, Akao Y, Kobayashi E, Ohguchi K, Ito T, Tanaka T *et al*. Induction of apoptosis by xanthenes from mangosteen in human leukemia cell lines. **J Nat Prod**. 2003; 66(8): 1124-1127. ISSN 0163-3864. [[CrossRef](#)].
63. Chen JJ, Long ZJ, Xu DF, Xiao RZ, Liu LL, Xu ZF *et al*. Inhibition of autophagy augments the anticancer activity of α -mangostin in chronic myeloid leukemia cells. **Leuk Lymphoma**. 2014; 55(3): 628-638. ISSN 1029-2403. [[CrossRef](#)].
64. Menasria F, Azebaze AGB, Billard C, Faussat AM, Nkengfack AE, Meyer M *et al*. Apoptotic effects on B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) cells of heterocyclic compounds isolated from Guttiferaes. **Leuk Res**. 2008; 32(12): 1914-1926. ISSN 0145-2126. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
65. Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signaling—in control of vascular function. **Nat Rev Mol Cell Biol**. 2006; 7(5): 359-371. ISSN 1471-0080. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
66. Arifianti L, Rofida S, Sukardiman, Zaini NC. Antiangiogenesis from pericarp of mangosteen on T47D breast cancer. **Planta Husada**. 2014; 2(1): 12-15. ISSN 2338-7130. [[Link](#)].

67. Lei J, Huo X, Duan W, Xu Q, Li R, Ma J *et al.* Alpha-Mangostin inhibits hypoxia-driven ROS-induced PSC activation and pancreatic cancer cell invasion. **Cancer Lett.** 2014; 347(1): 129-138. ISSN 1872-7980. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
68. Wang JJ, Sanderson BJ, Zhang W. Significant anti-invasive activities of α -mangostin from the mangosteen pericarp on two human skin cancer cell lines. **Anticancer Res.** 2012; 32(9): 3805-3816. [[Link](#)].
69. Kaomongkolgit R. Alpha-mangostin suppresses MMP-2 and MMP-9 expression in head and neck squamous carcinoma cells. **Odontology.** 2013; 101(2): 227-232. ISSN 1618-1255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
70. Shih YW, Chien ST, Chen PS, Lee JH, Wu SH, Yin LT. α -Mangostin suppresses phorbol 12-myristate 13-acetate-induced MMP-2/MMP-9 expressions via $\alpha v \beta 3$ integrin/FAK/ERK and NF- κ B signaling pathway in human lung adenocarcinoma A549 cells. **Cell Biochem Bioph.** 2010; 58(1): 31-44. ISSN 1559-0283. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
71. Hung SH, Shen KH, Wu CH, Liu CL, Shih YW. α -Mangostin suppresses PC-3 human prostate carcinoma cell metastasis by inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 and urokinase-plasminogen expression through the JNK signaling pathway. **J Agric Food Chem.** 2009; 57(4): 1291-1298. ISSN 1520-5118. [[CrossRef](#)].
72. Yuan J, Wu Y, Lu G. α -Mangostin suppresses lipopolysaccharide-induced invasion by inhibiting matrix metalloproteinase-2/9 and increasing E-cadherin expression through extracellular signalregulated kinase signaling in pancreatic cancer cells. **Oncology Lett.** 2013; 5(6): 1958-1964. ISSN 1792-1082. [[CrossRef](#)].
73. Wu C-P, Hsiao SH, Murakami M, Lu YJ, Li YQ, Huang YH *et al.* Alpha-Mangostin reverses multidrug resistance by attenuating the function of the multidrug resistance-linked ABCG2 transporter. **Mol Pharm.** 2017; 14(8): 2805-2814. ISSN 1543-8392. [[CrossRef](#)].
74. Muchtaridi M, Wijaya CA. Anticancer potential of α -mangostin. **Asian J Pharm Clin Res.** 2017; 10(12): 440-445. ISSN 2455-3891. [[CrossRef](#)].
75. Ho C-K, Huang Y-L, Chen C-C. Garcinone E, a xanthone derivative, has potent cytotoxic effect against hepatocellular carcinoma cell lines. **PI Med.** 2002; 68(11): 975-979. ISSN 0032-0943. [[CrossRef](#)].
76. Yang R, Li P, Li N, Zhang Q, Bai X, Wang L *et al.* Xanthonones from the Pericarp of *Garcinia mangostana*. **Molecules.** 2017; 22(5): 683. ISSN 1433-1373. [[CrossRef](#)].
77. Sheeja K, Lakshmi S. Antimetastatic potential of garcinone E in human oral cancer cells. **Asian Pac J Cancer Prev.** 2019; 20 (1): 65-72. ISSN 1513-7368. [[CrossRef](#)].
78. Xu X-H, Liu Q-Y, Li T, Liu J-L, Chen X, Huang L *et al.* Garcinone E induces apoptosis and inhibits migration and invasion in ovarian cancer cells. **Sci Rep.** 2017; 7(1):1-13. ISSN 2045-2322. [[CrossRef](#)].
79. Yang L, Xu Z, Wang W. Garcinone-E exhibits anticancer effects in HeLa human cervical carcinoma cells mediated via programmed cell death, cell cycle arrest and suppression of cell migration and invasion. **AMB Express.** 2020; 10(1): 126. ISSN 2191-0855. [[CrossRef](#)].
80. Ying Y-M, Yu K-M, Lin T-S, Ma L-F, Fang L, Yao J-B *et al.* Antiproliferative prenylated xanthonones from the pericarps of *Garcinia mangostana*. **Chem Nat Compd.** 2017; 53(3): 555–556. ISSN 1573-8388. [[CrossRef](#)].
81. Jin S, Shi K, Liu L, Chen Y, Yang G. Xanthonones from the bark of *Garcinia xanthochymus* and the mechanism of induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells via the mitochondrial pathway. **Int J Mol Sci.** 2019; 20(19): 4803. ISSN 1422-0067. [[CrossRef](#)].
82. Youn UJ, Sripisut T, Miklossy G, Turkson J, Laphookhieo S, Chang LC. Bioactive polyprenylated benzophenone derivatives from the fruits extracts of *Garcinia xanthochymus*. **Bioorganic Med Chem Lett.** 2017; 27(16): 3760-3765. ISSN 0960-894X. [[CrossRef](#)].

83. Ionta M, Ferreira-Silva GA, Niero EL, Costa EM, Martens AA, Rosa W *et al.* 7-epiclusianone, a benzophenone extracted from *Garcinia brasiliensis* (Clusiaceae), induces cell cycle arrest in G1/S transition in A549 cells. **Molecules**. 2015; 20(7): 12804-12816. ISSN 1433-1373. [[CrossRef](#)].
84. Murata RM, Yatsuda R, dos Santos MH, Kohn LK, Martins FT, Nagem TJ *et al.* Antiproliferative effect of benzophenones and their influence on cathepsin activity. **Phytother Res**. 2010; 24(3): 379-383. ISSN 0951-418X. [[CrossRef](#)].
85. Sales L, Pezuk JA, Borges KS, Brassesco MS, Scrideli CA, Tone LG *et al.* Anticancer activity of 7-epiclusianone, a benzophenone from *Garcinia brasiliensis*, in glioblastoma. **BMC Complement Altern Med**. 2015; 15: 393. ISSN 1472-6882. [[CrossRef](#)].
86. Taylor WF, Yanez M, Moghadam SE, Farimani MM, Soroury S, Ebrahimi SN *et al.* 7-epi-clusianone, a multi-targeting natural product with potential chemotherapeutic, immune-modulating, and anti-angiogenic properties. **Molecules**. 2019; 24(23): 4415. ISSN 1433-1373. [[CrossRef](#)].
87. Lamartine-Hanemann SS, Ferreira-Silva GA, Horvath RO, Soncini R, Caixeta ES, Rocha-Sales B *et al.* A tetraprenylated benzophenone 7-epiclusianone induces cell cycle arrest at G1/S transition by modulating critical regulators of cell cycle in breast cancer cell lines. **Toxicol In Vitro**. 2020; 68:104927. ISSN 0887-2333. [[CrossRef](#)].
88. McCandlish LE, Hanson JC, Stout GH. The structures of two derivatives of bicyclo [3,3,1]nonane-2,4,9-trione. A natural product: clusianone, C₃₃H₄₂O₄, and trimethylated catechinic acid, C₁₈H₂₀O₆. **Acta Crystallogr**. 1976; 32(6): 1793-1801. ISSN 1600-8642. [[Link](#)].
89. Simpkins NS, Holtrup F, Rodeschini V, Taylor JD, Wolf R. Comparison of the cytotoxic effects of enantiopure PPAPs, including nemorosone and clusianone. **Bioorg Med Chem Lett**. 2012; 22(19): 6144-6147. ISSN 0960-894X. [[CrossRef](#)].
90. Pardo-Andreu GL, Nuñez-Figueredo Y, Tudella VG, Cuesta-Rubio O, Rodrigues FP, Pestana CR *et al.* The anti-cancer agent nemorosone is a new potent protonophoric mitochondrial uncoupler. **Mitochondrion**. 2011; 11(2): 255-263. ISSN 1567-7249. [[CrossRef](#)].
91. Reis FHZ, Pardo-Andreu GL, Nunez-Figueredo Y, Cuesta-Rubio O, Marin-Prida J, Uyemura AS *et al.* Clusianone, a naturally occurring nemorosone regioisomer, uncouples rat liver mitochondria and induces HepG2 cell death. **Chem-Biol Interact**. 2014; 212: 20-29. ISSN 0009-2797. [[CrossRef](#)].
92. Cuesta-Rubio O, Frontana-Uribeb BA, Ramírez-Apanb T, Cárdenas J. Polyisoprenylated Benzophenones in Cuban Propolis; Biological Activity of Nemorosone. **Z Naturforsch C J Biosci**. 2002; 57(3-4): 372-378. ISSN 0939-5075. [[CrossRef](#)].
93. Díaz-Carballo D, Seeber S, Strumberg D, Hilger RA. Novel antitumoral compound isolated from *Clusia rosea*. **Int J Clin Pharmacol Ther**. 2003; 41(12): 622-623. ISSN 0946-1965. [[CrossRef](#)].
94. Díaz-Carballo D, Malak S, Freistühler M, Elmaagacli A, Bardenheuer W, Reusch HP. Nemorosone blocks proliferation and induces apoptosis in leukemia cells. **Int J Clin Pharmacol Ther**. 2008; 46(8): 428-439. ISSN 0946-1965. [[CrossRef](#)].
95. Díaz-Carballo D, Malak S, Bardenheuer W, Freistuehler M, Reuscha HP. Cytotoxic activity of nemorosone in neuroblastoma cells. **J Cell Mol Med**. 2008; 12(6B): 2598-608. ISSN 1582-4934. [[CrossRef](#)].
96. Holtrup F, Bauer A, Fellenberg K, Hilger RA, Wink M, Hoheisel JD. Microarray analysis of nemorosone-induced cytotoxic effects on pancreatic cancer cells reveals activation of the unfolded protein response (UPR). **Br J Pharmacol**. 2011; 162(5): 1045-1059. ISSN 1476-5381. [[CrossRef](#)].

97. Popolo A, Piccinelli AL, Morello S, Sorrentino R, Osmany CR, Rastrelli L *et al.* Cytotoxic activity of nemorosone in human MCF-7 breast cancer cells. **Can J Physiol Pharmacol.** 2011; 89(1): 50-57. ISSN 1205-7541. [[CrossRef](#)].
98. Camargo MS, Prieto AM, Resende FA, Boldrin PK, Cardoso CR, Fernández MF *et al.* Evaluation of estrogenic, antiestrogenic and genotoxic activity of nemorosone, the major compound found in brown Cuban propolis. **BMC Complement Altern Med.** 2013; 13: 201. ISSN 1472-6882. [[CrossRef](#)].
99. Camargo MS, Oliveira MT, Santoni MM, Resende FA, Oliveira-Höhne AP, Espanha LG *et al.* Effects of nemorosone, isolated from the plant *Clusia rosea*, on the cell cycle and gene expression in MCF-7 BUS breast cancer cell lines. **Phytomedicine** 2015; 22(1): 153-157. ISSN 0944-7113. [[CrossRef](#)].
100. Frión-Herrera Y, Gabbia D, Cuesta-Rubio O, Martin S, Carrara M. Nemorosone inhibits the proliferation and migration of hepatocellular carcinoma cells. **Life Sci.** 2019; 235: 116817. ISSN 1879-0631. [[CrossRef](#)].
101. Frión-Herrera Y, Gabbia D, Díaz-García A, Cuesta-Rubio O, Carrara M. Chemosensitizing activity of Cuban propolis and nemorosone in doxorubicin resistant human colon carcinoma cells. **Fitoterapia.** 2019; 136: 104173. ISSN 0367-326X. [[CrossRef](#)].
102. Frión-Herrera Y, Gabbia D, Scaffidi M, Zagni L, Cuesta-Rubio O, Martin S *et al.* The Cuban Propolis component nemorosone inhibits proliferation and metastatic properties of human colorectal cancer cells. **Int J Mol Sci.** 2020; 21: 1827. ISSN 1422-0067. [[CrossRef](#)].
103. Marques EJ, Ferraz CG, dos Santos IBF, dos Santos IIP, El-Bacha RS, Ribeiro PR *et al.* Chemical constituents isolated from *Clusia criuva* subsp. *Criuva* and their chemophenetics significance. **Biochem Syst Ecol.** 2021; 97: 104293. ISSN 0305-1978. [[CrossRef](#)].
104. Bailon-Moscoso N, Romero-Benavides JC, Sordo M, Villacis J, Silva R, Celi L *et al.* Phytochemical study and evaluation of cytotoxic and genotoxic properties of extracts from *Clusia latipes* leaves. **Rev Bras Farmacog.** 2016; 26(1): 44-49. ISSN 1981-528X. [[CrossRef](#)].
105. Brito LC, Carvalho MV, Silva VP, Heringer AP, Silva PM, Fontão APGA *et al.* Evaluation of cytotoxic activity of triterpenes from *Clusia studartiana*. **J Med Plants Res.** 2019; 13(15): 335-342. ISSN 1996-0875. [[CrossRef](#)].
106. Gill BS, Kumar S, Navgeet. Triterpenes in cancer: significance and their influence. **Mol Biol Reports.** 2016; 43(9): 881-896. ISSN 1573-4978. [[CrossRef](#)].
107. Şoica C, Voicu M, Ghiulai R, Dehelean C, Racoviceanu R, Trandafirescu C *et al.* Natural Compounds in Sex Hormone-Dependent Cancers: The role of triterpenes as therapeutic agents. **Front Endocrinol.** 2021; 11: 612396. ISSN 1664-2392. [[CrossRef](#)].

Histórico do artigo | Submissão: 11/05/2021 | Aceite: 16/11/2021 | Publicação: 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Brito LC, Figueiredo MR. Bioprospecção de atividade anticâncer dos gêneros *Garcinia* e *Clusia*: uma breve revisão. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 247-266. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1227>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



Desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica

New medicinal plants derivatives development for neglected diseases: a bibliometric analysis

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1287>

Ferreira Neto, Paula Teixeira Pinto^{1*}; Santos, Tais Rubia¹; Tellis, Carla Junqueira Moragas².

¹Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Pavilhão Gaspar Vianna, Avenida Brasil 4.365, Manguinhos, CEP 21.040-900, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Instituto de Tecnologia de Fármacos (Farmanguinhos), Rua Sizenando Nabuco, 100, Manguinhos, CEP: 21041-250, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*Correspondência: paulatneto@gmail.com.

Resumo

Doenças negligenciadas impõem um fardo humano, social e econômico devastador a mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo. Embora existam ferramentas para controlar e até mesmo eliminar muitas dessas doenças, novos produtos terapêuticos precisam urgentemente ser desenvolvidos. Produtos derivados da biodiversidade são uma alternativa à busca de novos medicamentos. Este estudo buscou apresentar por meio de uma análise bibliométrica o cenário global de desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais destinadas ao tratamento de doenças negligenciadas, destacando a experiência da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). A base de dados *Scopus* foi utilizada para investigar a pesquisa relacionada ao tema nas últimas décadas. Observou-se aumento na produção de conhecimento sobre o tema, com relevante participação de autores, instituições e financiamentos públicos brasileiros, incluindo a contribuição da Fiocruz. Sugere-se a implementação de estratégias futuras de pesquisa e de financiamento que promovam maior produção científica e que propiciem a tradução da pesquisa básica para a prática clínica.

Palavras-chave: Desenvolvimento de medicamentos. Doenças negligenciadas. Bibliometria. Biodiversidade.

Abstract

Neglected diseases impose a devastating human, social and economic burden on more than 1 billion people worldwide. Although tools exist to control and even eliminate many of those diseases, new therapeutic products urgently need to be developed. Products derived from biodiversity are an alternative to the search for new drugs. This study presents, through a bibliometric analysis, the global scenario of development of new medicinal plant derivatives for the treatment of neglected diseases, highlighting the experience of the

Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz). The *Scopus* database was used to investigate research related to the topic over the last decade. There was an increase in the production of knowledge on the subject, with relevant participation of Brazilian authors, institutions and public funding, including the contribution of Fiocruz. It is suggested to implement future research strategies and funding that promote greater scientific production and facilitate the conversion of basic research into clinical practice.

Keywords: Drug development. Neglected diseases. Bibliometrics. Biodiversity.

Introdução

As doenças negligenciadas persistem como um problema de saúde global atingindo, desproporcionalmente, as populações mais vulneráveis e impondo um fardo humano, social e econômico, devastador a mais de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo^[1].

A eliminação das epidemias de: AIDS, tuberculose, malária e outras doenças tropicais negligenciadas, está refletida entre os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável da Organização das Nações Unidas (ONU). O avanço em pesquisa e desenvolvimento (P&D) de novos medicamentos está entre as ações necessárias para o alcance do ODS^[2]. Outro compromisso global relevante é o roteiro da Organização Mundial da Saúde (OMS) que estabeleceu planos de ação para controlar, eliminar ou erradicar 20 doenças negligenciadas até 2030^[1].

O combate a doenças negligenciadas envolve questões geográficas, ambientais, econômicas e sociais^[3], contudo a falta de medicamentos seguros, eficazes e acessíveis é considerado um fator limitante para eliminação dessas doenças. Para muitas doenças negligenciadas, os medicamentos disponíveis têm uso limitado devido a toxicidade, falta de eficácia, alto custo e/ou dificuldade de uso, e, portanto, novas tecnologias precisam urgentemente ser desenvolvidos para melhoria do controle da doença e potencialmente alcance da eliminação^[4]. Pesquisa, desenvolvimento e inovação são facilitadores fundamentais para o progresso contra todas as doenças negligenciadas^[1].

Como alternativa à busca e ao desenvolvimento de novos medicamentos destacam-se os produtos derivados da biodiversidade. Estes representam não apenas uma alternativa a ampliação de opções terapêuticas eficazes, seguras e a preços acessíveis, como também uma janela de oportunidade para a P&D de produtos com variadas indicações terapêuticas, devido ao alto potencial para inovações radicais e incrementais e capacidade de geração de riqueza^[5,6].

Biodiversidade ou diversidade biológica corresponde a variabilidade de organismos vivos de todas as origens, incluindo os ecossistemas terrestres, marinhos e outros ecossistemas aquáticos, contemplando a diversidade dentro de espécies, entre espécies e de ecossistemas^[7].

O uso da biodiversidade para obtenção de substâncias com propriedades terapêuticas é antigo, e o emprego de plantas medicinais, ou seja, espécies vegetais utilizadas com propósitos terapêuticos, é uma prática comum, até os dias de hoje, em diversos países. No Brasil, uma das iniciativas governamentais voltadas para o sistema de saúde nacional foi a criação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF)^[8], aprovada em 2006, com o objetivo garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso sustentável de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo assim o desenvolvimento da cadeia

produtiva e da indústria nacional com base na biodiversidade. Dentre as diretrizes dessa Política destacam-se: o incentivo à capacitação de recursos humanos para o desenvolvimento de pesquisas, tecnologias e inovação em plantas medicinais e fitoterápicos; fomento em pesquisa, desenvolvimento tecnológico e inovação com base na biodiversidade brasileira. Dessa forma, a produção de inovação utilizando as plantas medicinais e fitoterápicos surge como oportunidade para o desenvolvimento tecnológico e para a integração da produção científica e da indústria, além de atender a demanda socioeconômica da população^[9].

Nesse contexto, a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) surge como ator relevante no desenvolvimento de novos medicamentos derivados de plantas medicinais. Já centenária, é considerada uma das instituições públicas de ciência e tecnologia em saúde mais importantes da América Latina^[10]. Emblemática no desenvolvimento e produção de medicamentos estratégicos para a saúde brasileira, é sede da criação do Núcleo Gestão em Biodiversidade e Saúde (NGBS) do Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos), núcleo que participou ativamente da concepção e elaboração da PNPMF. Entre os objetivos do NGBS está a inovação em medicamentos da biodiversidade como forma de intervenção na saúde pública brasileira^[11], e o núcleo associado a proposta de desenvolvimento na área de P&D através das Rede de Implementação da Cadeia Produtiva de Fitoterápico (RedesFito), um sistema nacional de redes do conhecimento voltado para a inovação em medicamentos da biodiversidade^[12].

O objetivo deste trabalho foi apresentar por meio de uma análise bibliométrica o cenário global de desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais destinadas ao tratamento de doenças negligenciadas, destacando a experiência da Fiocruz.

Avaliações bibliométricas têm sido comumente utilizadas por fornecer uma visão abrangente e precisa de esforços de pesquisa ao longo do tempo e seu impacto futuro^[13,14].

Material e Método

Para esta análise bibliométrica foi selecionada a base de dados *Scopus* desenvolvida pela editora Elsevier e disponível no Portal da Capes (www.periodicos.capes.gov.br), por se tratar de uma fonte de natureza multidisciplinar, apresentar um maior volume de periódicos indexados, quando comparado a outras fontes de informação, além de dispor de funcionalidades de apoio à análise de resultados. Em 2020, a base de dados indexava mais de 23.452 periódicos revisados por pares, incluindo 5.500 classificados como de acesso aberto^[15].

Os termos selecionados para estratégia de busca estão descritos no **QUADRO 1**. Além dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e suas sinônimas, termos adicionais relacionados ao tema foram incluídos, a fim de ampliar a busca das publicações relevantes relacionadas ao tema.

QUADRO 1: Termos selecionados, descritores e sinônimas para estratégia de busca.

| Descritores e sinônimas em português | Descritores e sinônimas em inglês |
|--------------------------------------|--|
| Doenças negligenciadas | <i>Neglected Diseases</i> |
| Medicina Tropical | <i>Tropical Medicine</i> |
| Doenças Transmissíveis Emergentes | <i>Communicable Diseases, Emerging</i> |
| Úlcera de buruli | <i>Buruli Ulcer</i> |

| | |
|---|---|
| <i>Doença de Chagas</i> | <i>Chagas Disease</i> |
| <i>Dengue</i> | <i>Dengue</i> |
| <i>Chikungunya</i> | <i>Chikungunya</i> |
| Dracunculíase; Infecção pelo Verme da Guiné | <i>Dracunculiasis; Guinea-worm disease</i> |
| Equinococose; Infecção por <i>Echinococcus</i> | <i>Echinococcosis; Echinococcoses; Echinococcus Infection</i> |
| Infecções por Trematódeos | <i>Trematode Infections</i> |
| Tripanossomíase Africana; Doença Africana do Sono | <i>Trypanosomiasis, African; African Sleeping Sickness</i> |
| Leishmaniose; Infecção por <i>Leishmania</i> | <i>Leishmaniasis; Leishmania Infection</i> |
| Hanseníase; Lepra | <i>Leprosy; Hansen's Disease</i> |
| Filariose linfática; Elefantíase Filarial | <i>Elephantiasis, Filarial</i> |
| Micetoma | <i>Mycetoma</i> |
| Cromblastomicose | <i>Chromoblastomycosis</i> |
| Paracoccidiodomicose | <i>Paracoccidiodomycosis</i> |
| Histoplasmose | <i>Histoplasmosis</i> |
| Esporotricose | <i>Sporotrichosis</i> |
| Criptococose | <i>Cryptococcosis</i> |
| Oncocercose | <i>Onchocerciasis</i> |
| Raiva; Hidrofobia | <i>Rabies; Hydrophobia</i> |
| Escabiose | <i>Scabies</i> |
| Ectoparasitoses | <i>Ectoparasitic Infestations</i> |
| Esquistossomose; Infecção por <i>Schistosoma</i> | <i>Schistosomiasis; Schistosoma infection</i> |
| Helmintíase; Infecções por Helminthos; verminose | <i>Helminthiasis; Helminth Infestation; worm</i> |
| Envenenamento por picada de cobra | <i>Snake Bites</i> |
| Teníase; Infecções por <i>Taenia</i> | <i>Taeniasis; Taenia Infections</i> |
| Cisticercose | <i>Cysticercosis</i> |
| Tracoma; Oftalmia Egípcia | <i>Trachoma; Egyptian Ophthalmia</i> |
| Bouba; Framboesia | <i>Yaws; Framboesia</i> |
| Desenvolvimento de Medicamentos | <i>Drug Development</i> |
| Avaliação de Medicamentos | <i>Drug Evaluation</i> |
| Desenho de Fármacos | <i>Drug Design</i> |
| Cromatografia | <i>Chromatography</i> |
| Análise Espectral; Espectrometria; Espectroscopia | <i>Spectrum Analysis; Spectrometry; Spectroscopy</i> |
| Avaliação Pré-Clínica de Medicamentos | <i>Drug Evaluation, Preclinical</i> |
| Estudo Clínico | <i>Clinical Study</i> |
| Reposicionamento de Medicamentos | <i>Drug Repositioning</i> |
| Plantas Medicinais | <i>Medicinal Plants</i> |
| Extratos Vegetais | <i>Plant Extracts</i> |
| Óleos essenciais | <i>Essential Oils</i> |
| Fitoquímicos | <i>Phytochemicals</i> |
| Terpenos; Terpenóides | <i>Terpenes; Terpenoids</i> |
| Compostos Fenólicos | <i>Phenolic Compound</i> |
| Polifenóis | <i>Polyphenols</i> |
| Flavonóides | <i>Flavonoids</i> |
| Alcaloides | <i>Alkaloids</i> |

| | |
|---|-------------------------|
| Antocianinas | <i>Anthocyanins</i> |
| Antraquinonas | <i>Anthraquinones</i> |
| Cumarínicos | <i>Coumarins</i> |
| Glicosídeos | <i>Glycosides</i> |
| Lignananas | <i>Lignans</i> |
| Saponinas | <i>Saponins</i> |
| Taninos | <i>Tannins</i> |
| Termos adicionais relacionados ao tema | |
| Português | Inglês |
| <i>Mycobacterium</i> | <i>Mycobacterium</i> |
| <i>Trypanosoma</i> | <i>Trypanosoma</i> |
| <i>Leishmania</i> | <i>Leishmania</i> |
| <i>Wuchereria</i> | <i>Wuchereria</i> |
| <i>Paracoccidioides</i> | <i>Paracoccidioides</i> |
| <i>Histoplasma</i> | <i>Histoplasma</i> |
| <i>Sporothrix</i> | <i>Sporothrix</i> |
| <i>Cryptococcus</i> | <i>Cryptococcus</i> |
| <i>In vitro</i> | <i>In vitro</i> |
| <i>In vivo</i> | <i>In vivo</i> |
| Produtos Naturais | <i>Natural products</i> |
| Antocianidinas | <i>anthocyanidins</i> |

Fonte: autores.

A busca foi realizada em maio de 2021, utilizando os campos título, resumo e palavra-chave para obter a produção de pesquisa relacionada ao desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas, em nível global, no período de 2000 a 2021.

Foram encontrados inicialmente 7.450 documentos e após delimitação temporal (2000 a 2021), obteve-se 6.822 referências distribuídas nas diferentes tipologias documentais: *Article* (6.028), *Review* (598), *Conference Paper* (69), *Book Chapter* (49), *Editorial* (24), *Short Survey* (19), *Letter* (14), *Note* (5), *Conference Review* (4), *Erratum* (4), *Retracted* (4), *Book* (2) e *Data Paper* (1).

Foram selecionadas para análise somente aqueles documentos classificados como artigo (6.028), dado as características de originalidade e o processo de *peer review* de avaliação. Os indicadores bibliométricos referentes aos artigos identificados incluíram ano de publicação, distribuição de publicações por países/territórios, instituição dos autores, patrocinadores e principais periódicos.

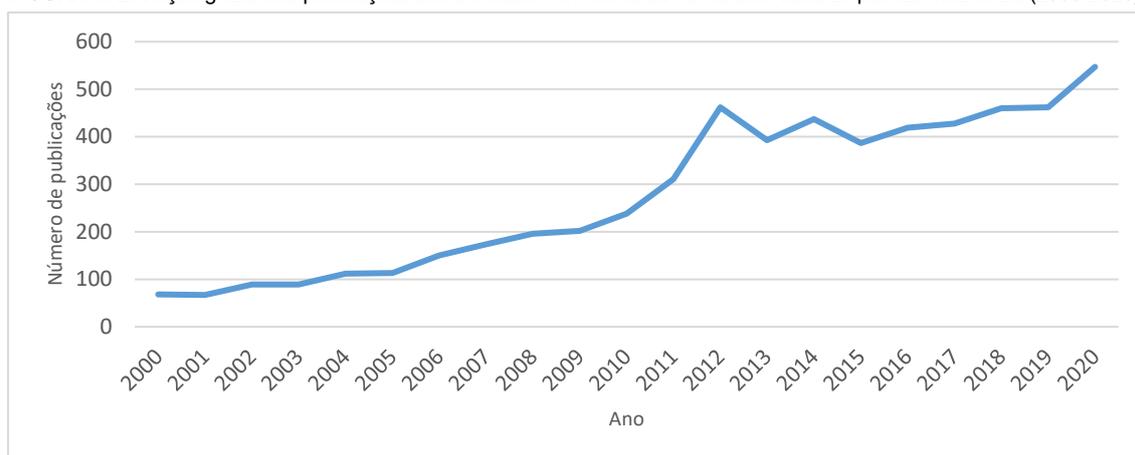
As publicações que continham pelo menos um autor filiado à Fiocruz, foram migradas da base *Scopus* para uma planilha eletrônica e, quando aplicável, os derivados de plantas medicinais em desenvolvimento foram classificados quanto a fonte natural de obtenção, a doença negligenciada e o resultado observado no experimento. Publicações que não abordem derivados de plantas medicinais, destinadas ao tratamento de doenças negligenciadas em seres humanos, foram desconsideradas.

Resultados e Discussão

Cenário global da produção científica sobre desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas

Os 6.028 artigos encontrados após os procedimentos metodológicos descritos no item anterior estão distribuídos ao longo do tempo conforme **FIGURA 1**.

FIGURA 1: Evolução global das publicações sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais (2000-2020).

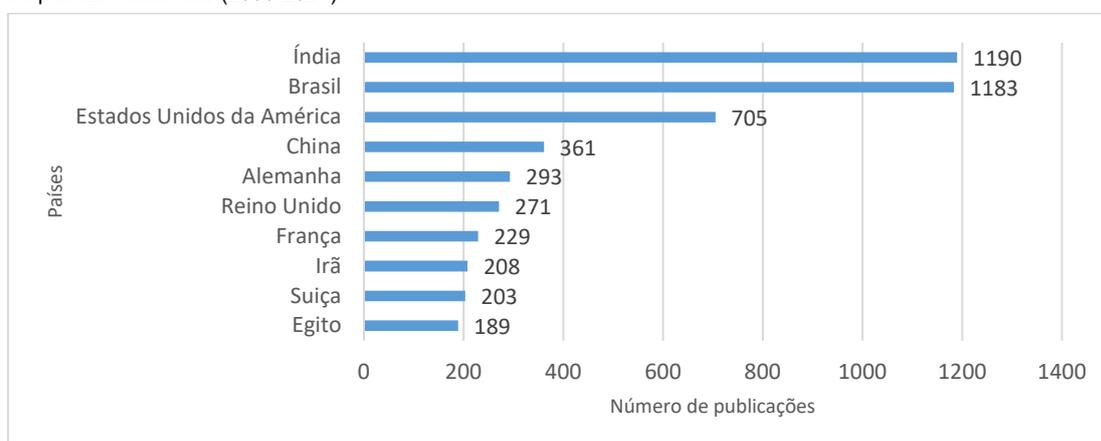


Fonte: autores, a partir da *Scopus*.

Os dados apontam para um aumento significativo na produção de conhecimento sobre a temática. Tal resultado pode estar relacionado aos esforços da comunidade internacional voltados ao estímulo de P&D de novos medicamentos para as doenças negligenciadas nos últimos anos.

Ao analisar a contribuição dos países na divulgação dos resultados de pesquisa, identificaram-se 142 países cujos autores contribuíram com ao menos uma produção. Os países que mais contribuíram com a produção científica global sobre a temática foram Índia (1.190; 20%) e Brasil (1183; 20%), seguidos de Estados Unidos da América (EUA) (705; 12%), China (361; 6%) e Alemanha (293; 5%), dentre outros, conforme **FIGURA 2**.

FIGURA 2: Principais países que contribuíram com a produção científica sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais (2000-2021).



Fonte: autores, a partir da *Scopus*.

Observa-se na **FIGURA 2** que países em desenvolvimento inovadores como Índia, Brasil e China e países desenvolvidos como EUA, Alemanha e Reino Unido desempenham um papel relevante em P&D para doenças negligenciadas e a quantidade de literatura produzida parece estar relacionada aos investimentos em pesquisa.

Índia e Brasil vêm ampliando os gastos públicos com financiamento de pesquisas sobre doenças negligenciadas nas últimas décadas^[16] e segundo dados do G-Finder^[17], projeto que rastreia o investimento anual em P&D para novas tecnologias para enfrentar os desafios de saúde globais prioritários, o EUA é o maior financiador público de P&D em doenças negligenciadas, seguido pelo Reino Unido e a Comissão Europeia.

Acrescenta-se que a Índia é um dos 17 países com megabiodiversidade do planeta, sendo responsável por 8% da biodiversidade global. Seu destaque, como país cujos autores mais contribuíram com a produção científica sobre novos derivados de plantas medicinais, pode estar relacionado aos seus sistemas medicinais tradicionais, como *Ayurveda*, *Unani*, *Siddha* ou homeopatia que desempenham um papel milenar significativo na saúde do país^[18]. Dada sua relevância, a validação científica da eficácia terapêutica dos derivados de plantas medicinais ayurvédicas vem se expandindo no país^[19].

Já o Brasil, é o país com a maior biodiversidade do mundo, e a sua produção científica vêm ganhando progressiva importância mundial^[20]. A partir dos anos 2000 houve avanços nas políticas públicas de estímulo à inovação na indústria farmacêutica e na pesquisa brasileira com plantas medicinais. Destaca-se, além da PNPMF, a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), ambas criadas com objetivo de incorporar discussões sobre a oportunidade, importância, dificuldades, facilidades e vantagens da implementação da Fitoterapia nos serviços públicos de saúde^[21]. Outras iniciativas de estímulo a inovação em medicamentos da biodiversidade incluíram a criação do NGBS em 2006 e da RedesFito em 2009, passos relevantes no sentido de promover a inovação em medicamentos da biodiversidade^[12].

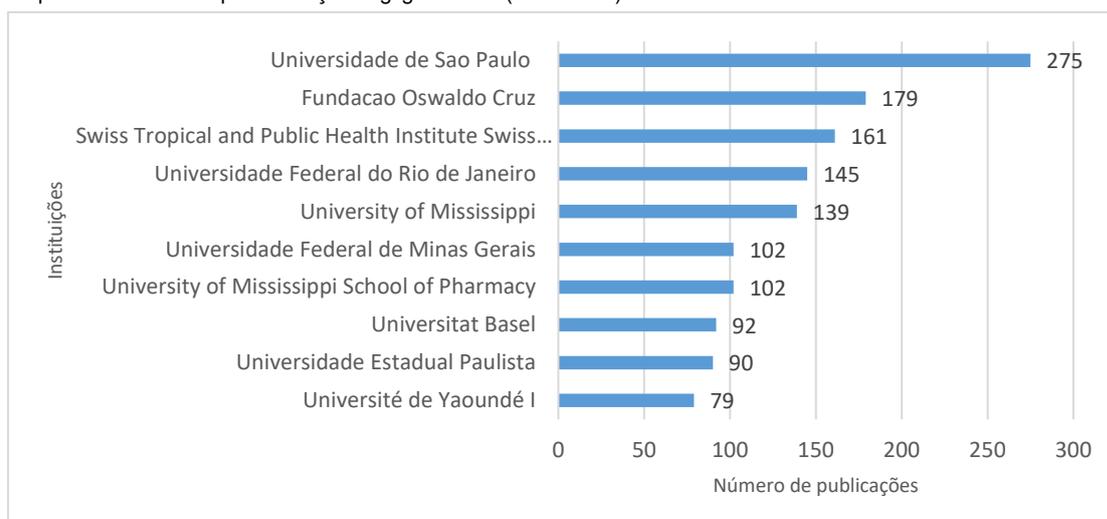
As principais instituições responsáveis pela produção de conhecimento sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais, baseado na afiliação dos autores, são mostradas na **FIGURA 3**.

As instituições mostradas na **FIGURA 3** são principalmente universidades públicas (8) e institutos públicos de pesquisa (2), reforçando a proeminência dessas instituições na produção científica global e a relevância do Estado na P&D de medicamentos para doenças negligenciadas.

Destaca-se que, entre as instituições que mais contribuíram na produção científica sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais no período analisado, 5 são instituições públicas brasileiras. O destaque das universidades na produção científica brasileira já é conhecido, em geral, as universidades públicas realizam a maior parte das pesquisas no Brasil^[22].

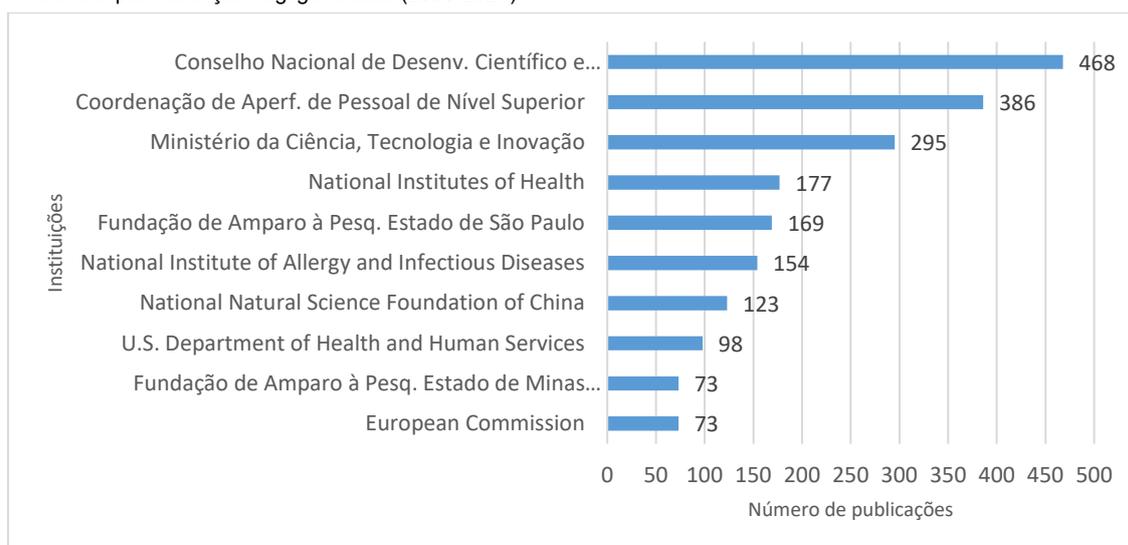
As informações mostradas na **FIGURA 4** podem ser úteis no direcionamento estratégico de parceiros para construção de cooperações na área de pesquisa de novos produtos derivados de plantas medicinais para combate as doenças negligenciadas.

FIGURA 3: Principais instituições que contribuíram na produção científica sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas (2000-2021).



Fonte: elaborado pelos autores, a partir da *Scopus*.

FIGURA 4: Principais patrocinadores das pesquisas publicadas sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas (2000-2021).



Fonte: autores, a partir da *Scopus*.

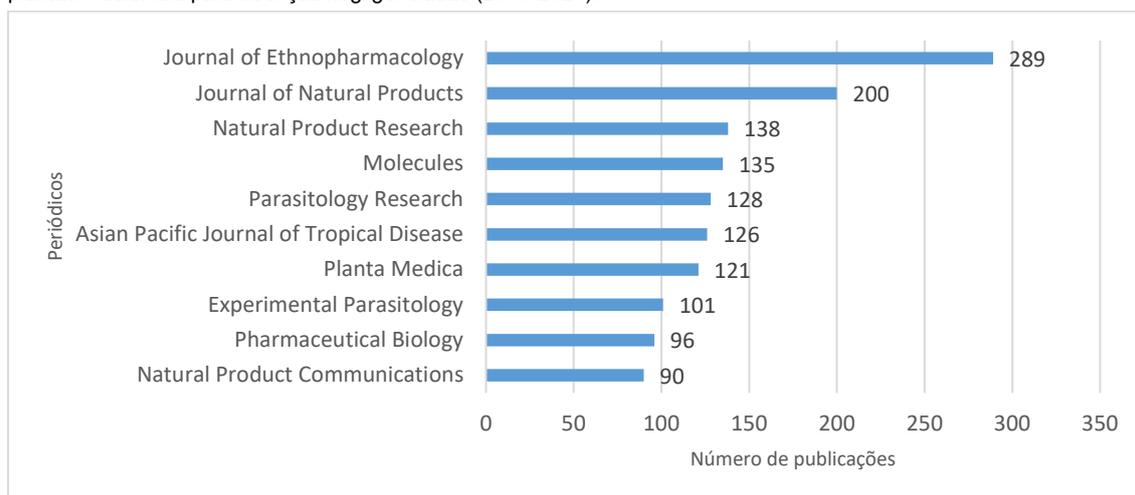
As instituições mostradas na **FIGURA 4** são organizações governamentais localizadas no Brasil (5), EUA (3), China (1) e Europa (1), e enfatizam o financiamento público como imprescindível no desenvolvimento de novas tecnologias de combate às doenças negligenciadas. De fato, o setor público tem sido a fonte mais significativa de financiamento em P&D para doenças negligenciadas nos últimos anos^[17].

Os 3 principais patrocinadores mostrados na **FIGURA 4** são organizações governamentais federais brasileiras: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). É possível observar, ainda, o destaque das agências de fomento estaduais, principalmente nos

estados de São Paulo e Minas Gerais. A relevância das agências de fomento, federais e estaduais no financiamento de pesquisas no Brasil, se expande além da área da saúde^[22].

Os principais periódicos utilizados para veiculação da produção de conhecimento sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas são mostrados na **FIGURA 5**.

FIGURA 5: Principais periódicos utilizados para veiculação da produção de conhecimento sobre novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas (2000-2021).



Fonte: autores, a partir da *Scopus*.

No que tange ao tipo de acesso, 2.447 (41%) das publicações foram divulgadas em periódicos de acesso aberto, ou seja, periódicos nos quais todos os artigos acadêmicos revisados por pares estão *online* e disponíveis sem restrições.

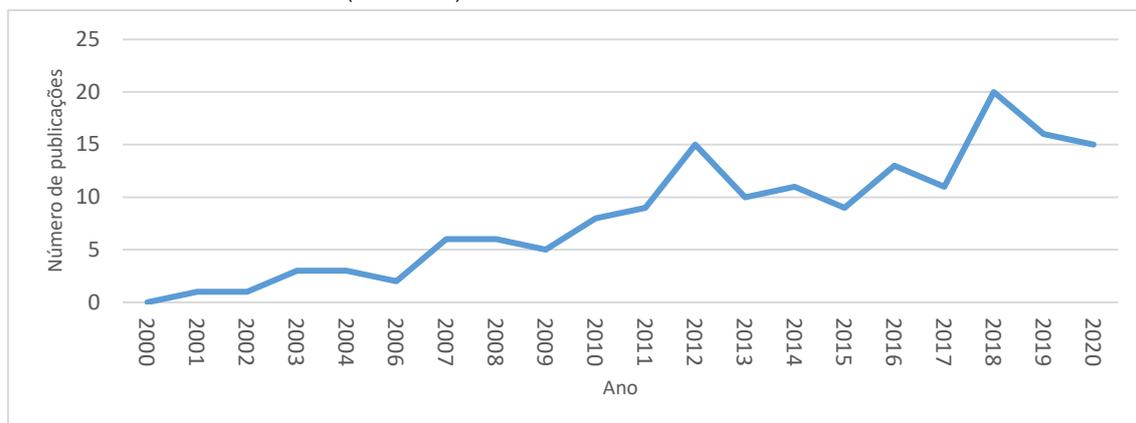
Periódicos médicos de acesso aberto ampliam a disseminação do conhecimento e possuem métricas de citação mais altas. Nas últimas décadas, houve um aumento no número de periódicos de acesso aberto em quase todas as disciplinas^[23], inclusive na área de doenças infecciosas^[24]. A comunicação aberta dos resultados das pesquisas voltadas para doenças negligenciadas é primordial para o progresso científico global.

Produção científica sobre desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas da Fiocruz

Dentre os 6.028 artigos encontrados neste estudo foram identificadas 179 publicações sobre novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas, com, pelo menos, um autor filiado a Fiocruz, que estão distribuídas ao longo do tempo conforme **FIGURA 6**.

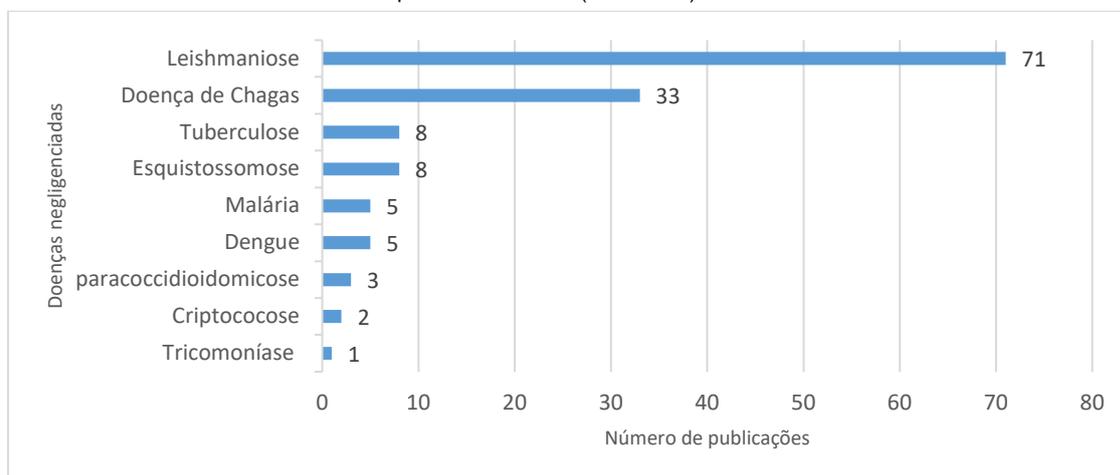
As doenças negligenciadas com maior índice de aparição nas publicações que descrevem novos derivados de plantas medicinais em desenvolvimento foram leishmaniose (71; 57%) e doença de Chagas (33; 26%), seguidas de esquistossomose (8; 1%) e tuberculose (8; 1%), entre outras, conforme **FIGURA 7**.

FIGURA 6: Evolução temporal das publicações científicas sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais com autores da Fiocruz (2000-2020).



Fonte: autores, a partir da *Scopus*.

FIGURA 7: Doenças negligenciadas com maior índice de aparição na produção científica da Fiocruz sobre o desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais (2000-2021).



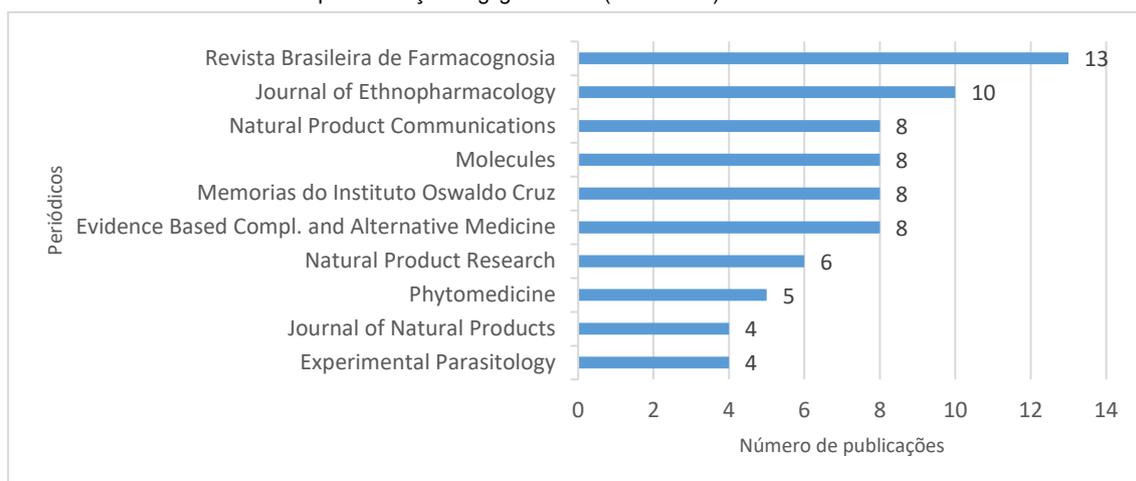
Fonte: autores.

Entre as publicações da Fiocruz com pelo menos um autor filiado a Fiocruz, 88% (157) delas receberam pelo menos uma citação na literatura científica. O artigo intitulado "*Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities*" publicado no periódico *Journal of Ethnopharmacology* em 2001 foi o artigo com maior número de citações segundo a *Scopus*, com 304 citações.

No que tange ao tipo de acesso, 103 (58%) das publicações foram divulgadas em periódicos de acesso aberto. E quanto ao idioma utilizado, 174 (97%) foram publicados em inglês.

Os principais periódicos utilizados para publicação dos novos derivados de plantas medicinais em desenvolvimento na Fiocruz para doenças negligenciadas são mostrados na **FIGURA 8**.

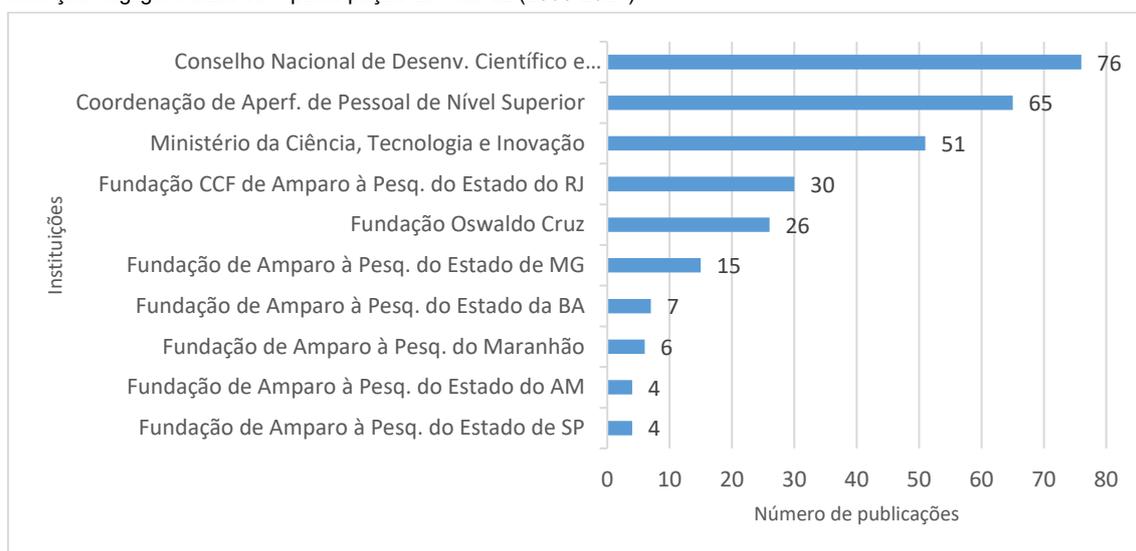
FIGURA 8: Principais periódicos utilizados para publicação dos estudos da Fiocruz sobre novos derivados de plantas medicinais em desenvolvimento para doenças negligenciadas (2000-2021).



Fonte: elaborado pelos autores, a partir da *Scopus*.

As principais instituições responsáveis pelo financiamento das pesquisas de desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas, com participação da Fiocruz, são mostradas na **FIGURA 9**. Todas são organizações governamentais brasileiras e enfatizam o financiamento público como imprescindível no desenvolvimento de novas tecnologias de combate às doenças negligenciadas. E de fato, o setor público tem sido a fonte mais significativa de financiamento em P&D para doenças negligenciadas nos últimos anos^[17].

FIGURA 9: Principais patrocinadores das pesquisas de desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas com participação da Fiocruz (2000-2021).



Fonte: elaborado pelos autores, a partir da *Scopus*.

Após análise das publicações com participação de autores da Fiocruz, foram identificadas 120 (67%) publicações descrevendo novos derivados de plantas medicinais em desenvolvimento. A fonte natural de obtenção, a doença negligenciada e o resultado observado no experimento são mostrados no **QUADRO 2**.

Foram desconsideradas publicações que abordavam produtos derivados da biodiversidade de origem não vegetal; produtos que embora disponíveis na natureza, haviam sido obtidos por síntese química; artigos sobre doenças não negligenciadas; produtos em desenvolvimento sem finalidade de tratamento em seres humanos; publicações sobre métodos de trabalho, um artigo com acesso indisponível e em duplicidade.

QUADRO 2: Artigos sobre novos derivados de plantas medicinais em desenvolvimento para doenças negligenciadas, incluindo ao menos um autor da Fiocruz (2000-2021).

| Fonte natural | Doença | Resultado |
|---|---------------------------------|---|
| <i>Plinia cauliflora</i> (Mart.) Kausel (Myrtaceae Juss) | Doença de Chagas | O extrato de folhas de <i>P. cauliflora</i> é uma fonte potencial de compostos bioativos antiparasitários, porém apresenta efeitos citotóxicos em linhagens de células hepáticas. |
| <i>Piper cabralanum</i> C.DC. (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | Os extratos das folhas de <i>P. cabralanum</i> (frações em metanol, hexano e diclorometano) apresentaram atividade contra <i>Leishmania amazonensis</i> com baixa citotoxicidade para macrófagos murinos e diminuição da infectividade pelo parasita. |
| <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze (Theaceae Mirb. ex Ker Gawl.) | Leishmaniose | Sugerem que o (-)-Epigallocatechin 3-O-gallate (EGCG) é eficaz para o tratamento da leishmaniose visceral. |
| <i>Piper diospyrifolium</i> Kunth (Piperaceae Giseke) e <i>Piper mikanianum</i> (Kunth) Steud. (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose e doença de Chagas | A análise fitoquímica de óleos essenciais mostrou que as duas espécies de <i>Piper</i> apresentam composição heterogênea. O óleo essencial de <i>P. diospyrifolium</i> apresentou 21 compostos voláteis, incluindo o fenilpropanoide (Z) -carpacina como componente majoritário. O óleo essencial de <i>P. mikanianum</i> apresentou um total de 19 compostos, sendo o safrol fenilpropanoide majoritário. Os óleos essenciais exibiram baixa citotoxicidade quando comparados aos antiparasitários padrões, indicando que são fontes promissoras de novos compostos com atividade antiparasitária. |
| <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry (Myrtaceae Juss.) | Doença de Chagas | O óleo essencial de <i>S. aromaticum</i> e o eugenol (composto principal) exibiram atividade inibitória do <i>Trypanosoma cruzi</i> e apresentaram baixa citotoxicidade. |
| <i>Lychnophora trichocarpha</i> (Spreng.) Spreng. (Asteraceae Bercht. & J.Presl) e <i>Lychnophora passerina</i> (Mart. ex DC.) Gardner (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Doença de Chagas | As lactonas sesquiterpênicas nanoencapsuladas lychnopholide e goiazensolide mostraram excelente eficácia contra diferentes cepas de <i>T. cruzi</i> com sensibilidade variável ao benzinidazol. |
| <i>Caryocar coriaceum</i> Wittm. (Caryocaraceae Szyszyl.) | Leishmaniose | Flavonóides presentes nos extratos da casca e da polpa de <i>C. coriaceum</i> podem atuar como inibidores de <i>Leishmania</i> . |
| <i>Aniba rosiodora</i> Ducke (Lauraceae Juss.) | Doença de Chagas | O óleo essencial de <i>A. rosiodora</i> e o linalol (composto majoritário) apresentam a atividade antitripanossômica, sem efeito citotóxico em macrófagos. |
| <i>Vernonia brasiliana</i> (L.) Druce (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Leishmaniose | A associação do óleo essencial de <i>V. brasiliana</i> com miltefosina exibiu um efeito antagonístico contra promastigotas de <i>Leishmania infantum</i> . |

| | | |
|--|--|--|
| Aniba panurensis (Meisn.) Mez (Lauraceae Juss.), Aniba parviflora (Meisn.) Mez (Lauraceae Juss.) e Aniba rosiodora Ducke (Lauraceae Juss.) | Doença de Chagas, leishmaniose e malária | Extratos de <i>A. panurensis</i> apresentaram atividades in vitro contra <i>T. cruzi</i> e <i>L. amazonenses</i> . Estirilpironas isoladas dos extratos demonstraram atividade contra <i>Plasmodium falciparum</i> . |
| <i>Protium altsonii</i> Sandwith (Burseraceae Kunth) e <i>Protium hebetatum</i> Daly (Burseraceae Kunth) | Leishmaniose | Os resultados indicam que as oleorresinas do gênero <i>Protium</i> são potentes contra <i>Leishmania</i> . Além disso, os três monoterpenos (α -pineno, p- cimeno e 1,8-cineol) constituintes dessas oleorresinas possuem propriedades anti- <i>Leishmania</i> que podem ser exploradas em ensaios sinérgicos para o desenvolvimento de novos candidatos a fármacos. |
| <i>Croton velutinus</i> Baill. (Euphorbiaceae Juss.) | Doença de Chagas | Derivados fenilpropanóides de <i>C. velutinus</i> podem ser candidatos promissores com atividade citotóxica, tripanocida e antiinflamatória. |
| <i>Arrabidaea chica</i> (Bonpl.) Verl. (Bignoniaceae Juss.) | Leishmaniose | A carajurina, uma das antocianidinas identificadas nos extratos de <i>A. chica</i> , apresentou atividade contra <i>L. amazonensis</i> . |
| <i>Mentha hirsuta</i> Huds. (Lamiaceae Martinov) | Esquistossomose | O óleo essencial de <i>M. hirsuta</i> e rotundifolona demonstrou atividade esquistossomicida in vivo (camundongos) contra <i>Schistosoma mansoni</i> . |
| <i>Origanum vulgare</i> L. (Lamiaceae Martinov) | Leishmaniose | Formulações parenterais de carvacrol com carreadores de lipídios nanoestruturados se mostraram promissoras para o tratamento da leishmaniose. |
| <i>Ocotea pulchella</i> (Nees & Mart.) Mez (Lauraceae Juss.) | Esquistossomose | A nanoemulsão de óleos essenciais das folhas de <i>O. pulchella</i> causou mortalidade de <i>B. glabrata</i> adulta, seus embriões de ovo e <i>S. mansoni</i> . Miristicina, biciclogermacreno e α -Pineno foram as principais substâncias do óleo. Esses resultados sugerem o uso desta nanoemulsão como alternativa no controle do ciclo da esquistossomose. |
| <i>Bocageopsis multiflora</i> (Mart.) R.E.Fr. (Annonaceae Juss.), <i>Duguetia quitarensis</i> Benth (Annonaceae Juss.), <i>Fusaea longifolia</i> (Aubl.) Saff. (Annonaceae Juss.) e <i>Guatteria punctata</i> (Aubl.) RA Howard (Annonaceae Juss.) | Doença de Chagas | Os óleos essenciais das quatro espécies mostraram atividade tripanocida nas concentrações testadas, sendo o óleo essencial de <i>G. punctata</i> 34 vezes mais ativo do que o medicamento de referência benznidazol. |
| <i>Quassia amara</i> L. (Simaroubaceae DC.) | Leishmaniose | Os resultados sugerem que o alcalóide do ácido β -carbolina-1-propiónico tem potencial como agente antileishmania. |
| <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze (Theaceae Mirb. ex Ker Gawl.) | Leishmaniose | O (-) - epigalocatequina 3-O-galato se demonstrou in vitro e in vivo (camundongos) como um novo composto para o tratamento da leishmaniose visceral. |
| <i>Geissospermum vellosii</i> Allemão (Apocynaceae Juss.) | Leishmaniose | A flavopereirina mostrou-se uma molécula promissora por sua atividade antileishmania. |

| | | |
|---|---------------------------------|--|
| Platanus acerifolia L. (Platanaceae T.Lestib.) e Malus domestica (Suckow) Borkh. (Rosaceae Juss.) | Tricomoníase e leishmaniose | Derivados modificados por semisíntese não exibiram atividade pronunciada contra <i>T. vaginalis</i> e <i>L. amazonensis</i> mostrando que os triterpenos podem ser uma fonte de novos derivados se consideradas modificações semissintéticas adicionais, especialmente incluindo grupos polares, como grupos hidroxila. |
| Myrciaria plinioides D.Legrand (Myrtaceae Juss.) | Leishmaniose | Óleo essencial derivado das folhas de <i>M. plinioides</i> apresentou atividade <i>in vitro</i> significativa contra <i>L. amazonensis</i> . |
| Trixis vauthieri DC (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Doença de Chagas | Dois novos trixingolídeos de <i>T. vauthieri</i> apresentaram notável atividade tripanocida <i>in vitro</i> . |
| Endlicheria bracteolata (Meisn.) C.K.Allen (Lauraceae Juss.) | Leishmaniose | O óleo essencial de <i>E. bracteolata</i> demonstrou ter atividade antileishmania <i>in vitro</i> . |
| Cinnamomum zeylanicum Blume (Lauraceae Juss.), Origanum vulgare Linn. (Lamiaceae Martinov) e Curcuma longa L. (Zingiberaceae) | Leishmaniose | Atividade antileishmania contra formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> foi observada em óleo essencial de <i>C. longa</i> , mas não em óleo essencial de <i>C. zeylanicum</i> e <i>O. vulgare</i> . A atividade do óleo essencial de <i>C. longa</i> contra amastigota intracelular evidencia potencial antileishmania. |
| Arrabidaea brachypoda (DC.) Bureau (Bignoniaceae Juss.) | Leishmaniose | Com base na alta atividade <i>in vitro</i> , os flavonóides diméricos podem ser usados como uma estrutura líder para o desenvolvimento de novas moléculas que podem ser úteis para estudos de estrutura ativa contra <i>Leishmania</i> . |
| Moringa oleifera Lam. (Moringaceae Lam.) | Doença de Chagas | O extrato de flor de <i>M. oleifera</i> e um inibidor de tripsina isolado dele mostraram <i>in vitro</i> atividade antiprotozoária contra <i>Trypanosoma cruzi</i> . |
| Citrus aurantium L. (Rutaceae A.Juss.) | Leishmaniose | O flavonóide 2'-hidroxiflavanona encontrado nas cascas de frutos cítricos, em especial a <i>C. aurantium</i> demonstrou atividade sobre o <i>L. amazonensis</i> resistente ao antimoníato <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> (murinos) por via oral. |
| Extrato de própolis | Leishmaniose | Os resultados identificaram diferenças significativas entre os extratos, variando de acordo com seu método de extração, bem como com o tipo e origem botânica das amostras. Os melhores resultados foram apresentados para os extratos (três tipos de própolis: vermelha, verde e marrom), obtidos pelo método de extração convencional (etanólico), indicando uma maior seletividade para a extração de compostos antioxidantes. A variedade vermelha apresentou o maior potencial biológico. |
| Zanthoxylum tingoassuiba A.St.-Hil (Rutaceae A.Juss.) | Doença de Chagas e leishmaniose | Todos os produtos testados apresentaram atividade antiparasitária semelhante à dos controles positivos (benznidazol e anfotericina B). |
| Ocimum canum Sims (Lamiaceae Martinov) | Leishmaniose | Os resultados evidenciaram a rica composição química do óleo essencial de <i>O. canum</i> , bem como sua atividade antileishmania e alto índice de seletividade para esses parasitas, embora não para células, revelando seu potencial para futuros estudos <i>in vivo</i> . |

| | | |
|---|---------------------------------|---|
| Tetradenia riparia (Hochst.) Codd (Lamiaceae) | Tuberculose | O óleo essencial de folhas de <i>T. riparia</i> e o isolado puro de 6,7-desidrooleanona apresentou boa atividade contra isolados clínicos de <i>M. tuberculosis</i> , incluindo isolados resistentes a múltiplos medicamentos, com baixa citotoxicidade para macrófagos murinos. |
| Morinda citrifolia Linn. (Rubiaceae Juss.) | Leishmaniose | O suco de frutas de <i>M. citrifolia</i> (apresenta antraquinonas, flavonóides, alcalóides, terpenóides, esteróides, saponinas, cumarinas, compostos fenólicos, taninos, antocianidinas e chalconas) exibiu atividade antileishmania. |
| Piper tuberculatum Jacq (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | Os resultados apresentados indicam que a piperlongumina (alcalóide amida) é um potencial candidato leishmanicida e apoia a abordagem biomimética para o desenvolvimento de novos derivados antileishmania. |
| Croton linearis Jacq (Euphorbiaceae) | Doença de Chagas e leishmaniose | O óleo essencial da folha de <i>C. linearis</i> apresentou notável atividade contra <i>L. amazonensis</i> , atividade moderada contra <i>T. cruzi</i> e atividade fraca contra <i>P. aureginosa</i> . |
| Inula chritmoides L. (Asteraceae) e Spargularia rubra (L.) J. Presl & C. Presl (Caryophyllaceae) e outras | Leishmaniose | Os extratos em acetona e diclorometano de <i>I. chritmoides</i> e <i>S. rubra</i> apresentaram atividade anti <i>L. infantum</i> in vitro e propriedades antiinflamatórias importantes. |
| Psidium guineense Sw. (Myrtaceae Juss.) | Tuberculose | O óleo essencial de <i>P. guineense</i> e o espatulenol (constituente majoritário) apresentaram atividade antimicobacteriana moderada. |
| Aloysia gratissima (Gillies & Hook.) Tronc. (Verbenaceae J.St.-Hil.) | Leishmaniose | O óleo essencial de <i>A. gratissima</i> (AgEO) e o guaiol, o principal sesquiterpeno constituinte do óleo, podem ser candidatos promissores para o desenvolvimento de drogas antileishmania. |
| Carapa guianensis Aubl. (Meliaceae A.Juss.) | Leishmaniose | O óleo da semente de <i>C. guianensis</i> não apresentou atividade antileishmania e três frações de óleo ricas em limonóides demonstraram atividade contra promastigotas e amastigotas intracelulares de <i>L. amazonensis</i> . A atividade anti-Leishmania das frações ricas em limonóides de <i>C. guianensis</i> pode ser atribuída aos limonóides 11 β -hidroxiedunina e 6 α , 11 β -diacetoxedunina detectados na análise química. |
| Excoecaria lucida Sw (Euphorbiaceae) | Doença de Chagas | Ácido elágico, estigmasterol-3-O- β -D-glucopiranosídeo e sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosídeo são relatados pela primeira vez em folhas de <i>E. lucida</i> Sw., bem como seus estudos de atividade biológica, apoiando novas investigações para o tratamento da doença de Chagas. |
| Orbignya phalerata Mart. (Arecaceae Schultz Sch.) | Leishmaniose | Micropartículas carregadas com extrato aquoso do mesocarpo de babaçu podem ser úteis para o direcionamento de drogas no tratamento da leishmaniose, devido ao efeito imunomodulador na polarização de macrófagos e ao aumento da eficácia como produto anti-Leishmania após a microencapsulação. |

| | | |
|---|---------------------------------------|---|
| <p>Manilkara subsericea (Mart.) Dubard (Sapotaceae Juss.), Neomitranthes obscura (DC.) N.Silveira (Myrtaceae Juss.) e Eugenia sulcata Spring ex Mart. (Myrtaceae Juss.)</p> | <p>Doença de chagas</p> | <p>Três (entre 6 extratos vegetais brutos) de M. subsericea e N. obscura inibiram a proliferação de T. cruzi. Três substâncias isoladas (quercetina, miricetina e ácido ursólico) desses 3 extratos brutos inibiram a proliferação de epimastigotas e causaram baixa toxicidade às células de mamíferos. A quercetina foi a substância isolada com melhor atividade antiprotozoária.</p> |
| <p>Libidibia ferrea (Mart. ex Tul.) L.P.Queiroz (Fabaceae Lindl.)</p> | <p>Leishmaniose</p> | <p>A análise química demonstrou que o extrato metanólico dos frutos contém altos níveis de compostos fenólicos. Os resultados apontam para uma possível terapia alternativa para leishmaniose cutânea utilizando fitoterápicos.</p> |
| <p>Norantea brasiliensis Choisy (Marcgraviaceae Bercht. & J.Presl)</p> | <p>Dengue</p> | <p>O extrato bruto de etanol das folhas apresentou o melhor efeito antiviral e uma fração derivada em diclorometano apresentou efeito imunomodulador nas citocinas inflamatórias e antiinflamatórias.</p> |
| <p>Eugenia pitanga (O.Berg) Nied. (Myrtaceae Juss.)</p> | <p>Leishmaniose</p> | <p>Apresentou dados preliminares sobre a atividade antileishmania in vitro do óleo essencial de folhas frescas de E. pitanga contra formas promastigotas de Leishmania amazonensis.</p> |
| <p>Extrato de própolis</p> | <p>Leishmaniose</p> | <p>Os extratos de própolis exibiram efeito leishmanicida contra os dois estágios de L. braziliensis. A baixa toxicidade celular e o eficiente efeito microbicida dos extratos alcoólicos ou glicólicos de própolis os tornam candidatos a um tratamento aditivo para a leishmaniose tegumentar.</p> |
| <p>Uncaria guianensis (Aubl.) J.F.Gmel. (Rubiaceae Juss.)</p> | <p>Dengue</p> | <p>Os extratos hidroalcoólicos de folhas e casca de U. guianensis apresentaram efeitos antivirais e imunomoduladores para dengue e possivelmente uma atividade protetora de hepatócitos, sendo potenciais candidatos para o desenvolvimento futuro de um tratamento da dengue.</p> |
| <p>Mentha hirsuta Huds. (Lamiaceae Martinov)</p> | <p>Esquistossomose</p> | <p>As análises demonstram a eficácia da Rotundifolona, como um composto candidato com efeitos in vitro significativos contra vermes adultos de S. mansoni.</p> |
| <p>Luehea ochrophylla Mart. (Malvaceae Juss.)</p> | <p>Doença de chagas</p> | <p>Constituintes das cascas do caule de L. ochrophylla (friedelina, β-friedelinol, lupeol, pseudotaraxasterol, β-sitosterol, ácido betulínico, taraxasterol, (-) - epicatequina, β-sitosterol-3-O-β-D-glucopiranosídeo e (+) - epicatequina- (4β \rightarrow 8) - epicatequina): As frações extrato hexânico (HE) e diclorometano (DF) e acetato de etila (AF) exibiram atividade antiparasitária contra Trypanosoma cruzi.</p> |
| <p>Piper diospyrifolium Kunth (Piperaceae Giseke) e Piper aduncum L. (Piperaceae Giseke)</p> | <p>Leishmaniose e tuberculose</p> | <p>Óleos essenciais de P. diospyrifolium e P. aduncum apresentaram atividade antileishmania. e de P. rivinoides, P. cernuum e P. diospyrifolium exibiu atividade moderada contra o Mycobacterium tuberculosis. Esses resultados são relevantes e sugerem seu potencial para fins terapêuticos.</p> |
| <p>Allophylus edulis (A. St.-Hil., A. Juss. & Cambess.) Radlk. (Sapindaceae)</p> | <p>Tuberculose (e outras doenças)</p> | <p>O óleo essencial de folhas frescas de A. edulis e o seu principal constituinte, viridiflorol, exibiram atividades biológicas, como antimicrobacteriana (Mycobacterium tuberculosis), antiinflamatória e antioxidante.</p> |

| | | |
|--|------------------|---|
| Juncus acutus L. (Juncaceae Juss.) | Doença de Chagas | O extrato de diclorometano da raiz de J. acutus mostrou atividade anti-Trypanosoma cruzi. Uma fração deste extrato, contendo apenas um composto puro (juncunol), apresentou atividade antiparasitária. |
| Aniba riparia (Ness) Mez (Lauraceae Juss.) | Leishmaniose | A riparina A, estruturalmente representada como o núcleo fundamental de todas as riparinas da Amazônia, revelou promissora atividade biológica e notável ação leishmanicida in vitro. |
| Piper rivinoides Kunth (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | Os resultados biológicos mostraram o conocarpan (compostos isolados puros das folhas) como o composto mais ativo e com menor citotoxicidade dentre todos os compostos testados. |
| Matricaria recutita L. (Asteraceae Bercht & J.Presl), entre outras | Leishmaniose | A apigenina, presente em várias fontes vegetais, incluindo a M. recutita demonstrou eficácia in vitro e in vivo (camundongos) contra Leishmania amazonensis, mostrando biodisponibilidade oral e reduzindo significativamente o tamanho das lesões e a carga parasitária sem alterar os marcadores de toxicidade sorológica. |
| Cissampelos sympodialis Eichler (Menispermaceae A.Juss.) | Dengue | O extrato hidroalcoólico da folha pode atenuar a infecção do vírus da dengue ao inibir o aumento de mediadores pró-inflamatórios e a produção de proteína 1 não estrutural induzida pelo vírus da dengue. |
| Morinda citrifolia Linn. (Rubiaceae Juss.) | Leishmaniose | O suco de fruta de M. citrifolia foi ativo contra L. infantum no modelo in vitro e tem um futuro potencial para o tratamento contra a leishmaniose. |
| Mentha hirsuta Huds. (Lamiaceae Martinov) | Esquistossomose | O óleo essencial M. hirsuta causou extenso dano ultraestrutural a vermes adultos de S. mansoni. |
| Combretum leprosum Mart. (Combretaceae R.Br.) | Leishmaniose | O composto 3 β, 6 β, 16 β - trihidroxilup-20 (29) - eno foi isolado e do extrato etanólico de flores de C. leprosum possui a atividade antiinflamatória e pode servir como uma ferramenta para o tratamento da leishmaniose no futuro. |
| Croton cajucara Benth (Euphorbiaceae Juss.) | Leishmaniose | Os diterpenos clerodano, trans-desidrocrotonina (DCTN), trans-crotonina (CTN) e ácido acetilaleurítico (AAA) obtidos da casca em pó de C. cajucara mostraram efeitos antileishmania in vitro promissores contra L. amazonensis, especialmente o DCTN sem toxicidade macrófaga até a concentração testada. Além disso, a ação sobre a enzima tripanotona redutase revelou um possível mecanismo de ação. |
| Physalis angulata L. (Solanaceae A.Juss.) | Doença de Chagas | O extrato etanólico concentrado de P. angulata apresenta composição rica em Fisalinas. Neste estudo, o extrato etanólico apresentou atividade antiparasitária contra o T. cruzi, causando morte celular por necrose e apresentando atividade sinérgica com o benznidazol. Esses achados foram reforçados pela eficácia observada do extrato etanólico concentrado de P. angulata na redução da carga parasitária em camundongos T. cruzi. Portanto, isso representa uma importante fonte de produtos naturais antiparasitários. |

| | | |
|---|----------------------------|---|
| Garcinia brasiliensis Mart. (Clusiaceae Lindl.) | Esquistossomose | O composto isolado 7-epiclusianona mostrou-se como um composto esquistossomicida promissor. |
| Croton lechleri Müll. Arg. (Euphorbiaceae Juss.) | Leishmaniose | O extrato do látex de <i>C. lechleri</i> (sangue de dragão) apresentou eficácia in vitro em todas as concentrações testadas para <i>L. amazonensis</i> e para <i>L. guyanensis</i> . |
| Aspidosperma ramiflorum Müll.Arg. (Apocynaceae Juss.) | Malária | Seis dos sete extratos vegetais de <i>A. ramiflorum</i> testados foram ativos em baixas doses in vitro contra o <i>Plasmodium falciparum</i> . Os extratos vegetais de <i>A. ramiflorum</i> e os compostos purificados apresentaram baixa toxicidade in vitro. É provável que esta espécie de planta seja útil no desenvolvimento de um medicamento antimalárico. |
| Annona vepretorum Mart. (Annonaceae Juss.) e <i>Annona squamosa</i> L. (Annonaceae Juss.) | Doença de Chagas e malária | Os óleos essenciais demonstraram potente atividade tripanocida e antimalárica. |
| Matricaria chamomilla L. (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Leishmaniose | O (-) α -bisabolol, oriundo de várias fontes vegetais, incluindo a <i>M. chamomilla</i> , possui propriedades antileishmania promissoras, pois pode atuar contra as formas promastigotas e penetrar na célula, sendo também ativo contra as formas amastigotas. |
| Baccharis platypoda DC. (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Leishmaniose | O extrato etanólico bruto das folhas de <i>B. platypoda</i> possui atividade leishmanicida. Os diterpenos do tipo clerodano são onipresentes no gênero <i>Baccharis</i> . |
| Arrabidaea brachypoda (DC.) Bureau (Bignoniaceae Juss.) | Doença de Chagas | O estudo revelou que dois flavonóides diméricos representam potenciais compostos líderes anti- <i>T. cruzi</i> para o desenvolvimento de drogas. |
| Lippia pedunculosa Hayek (Verbenaceae J.St.-Hil.) | Doença de Chagas | Os monoterpenos rotundifolona e (R) -limoneno compostos majoritários do óleo essencial das folhas de <i>L. pedunculosa</i> , e o constituinte menor piperitenona, apresentaram resultados significativos contra <i>T. cruzi</i> , sendo o Rotundifolona o composto mais ativo dentre todos. |
| Mangifera indica L. (Anacardiaceae R.Br.) | Leishmaniose | Os resultados demonstraram que os óleos essenciais de <i>M. indica</i> podem destruir <i>L. amazonensis</i> e inibir o crescimento de células tumorais. |
| Pilocarpus spicatus A.St.-Hil. (Rutaceae A.Juss.) | Doença de Chagas | Os extratos hexânico e metanólico de folhas e raízes apresentaram atividade tripanocida in vitro. |
| Myrcia rotundifolia (O.Berg) Kiaersk. (Myrtaceae Juss.) | Doença de Chagas | O triterpeno ácido arjunólico reduziu a proliferação in vitro do epimastigota do <i>T. cruzi</i> . Os derivados éster metílico e tri-acetilados tiveram atividade tripanocida potencializada indicando que produtos naturais modificados sinteticamente constituem ferramentas valiosas na quimioterapia antiparasitária. |
| Bocageopsis multiflora (Mart.) R.E.Fr. (Annonaceae Juss.) | Leishmaniose | O óleo essencial de <i>B. multiflora</i> apresentou atividade significativa contra formas promastigotas de <i>L. amazonensis</i> . |
| Mitracarpus frigidus (Willd. ex Roem. & Schult.) K.Schum. (Rubiaceae Juss.) | Esquistossomose | O extrato metanólico da parte aérea de <i>M. frigidus</i> mostrou atividade esquistossomicida in vitro. In vivo reduziu significativamente a contagem total de |

| | | |
|--|--|---|
| | | vermes, mostrando uma diminuição no peso do fígado e do baço. Além disso, foi observada uma redução significativa na densidade do granuloma e não houve alterações na função hepática de camundongos. |
| Lippia alba (Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson (Verbenaceae J.St.-Hil.) | Criptococose (e Candida) | A fração butanol do extrato de L. alba apresentou atividade contra C. glabrata, mas não para outras espécies de Candida ou Cryptococcus. |
| Physalis angulata L. (Solanaceae A.Juss.) | Leishmaniose | O extrato etanólico concentrado de P. angulata permitiu isolar quatro tipos de fisalinas. Além disso, verificou que o extrato etanólico concentrado de P. angulata é não mutagênico e apresentou um efeito farmacológico promissor contra parasitas Leishmania. |
| Uncaria tomentosa (Willd. ex Roem. & Schult.) DC. (Rubiaceae Juss.) | Dengue | Uma fração alcalóide da casca de U. tomentosa apresentou atividades antiviral e imunomoduladora e pode ser potencialmente útil no tratamento preventivo da dengue grave. |
| Croton cajucara Benth. (Euphorbiaceae Juss.) | Leishmaniose | O óleo essencial de C. cajucara (sacaca vermelha), rico em seu constituinte principal 7-hidroxicalameneno é uma fonte promissora de compostos leishmanicidas. |
| Mentha hirsuta Huds. (Lamiaceae Martinov) | Esquistossomose | Os resultados sugerem que o óleo essencial de M.hirsuta apresenta eficácia esquistossomicida. |
| Vanillosmopsis arborea (Gardner) Baker (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Leishmaniose | O óleo essencial de V. arborea e seu principal composto α -bisabolol, mostraram atividade leishmanicida in vitro contra Leishmania amazonensis. Nenhum dos produtos mostrou qualquer citotoxicidade nos macrófagos tratados. |
| Copaifera spp. (Fabaceae Lindl.) | Leishmaniose | O estudo apontou o β -cariofileno como um composto antileishmania eficaz e também seu papel como potencial marcador químico em óleos de copaíba ou frações deles derivadas, visando maior desenvolvimento desta matéria-prima florestal para o tratamento da leishmaniose. |
| Cecropia pachystachya Trécul (Urticaceae Juss.) | Leishmaniose | O extrato etanólico de C. pachystachya contém compostos bioativos que reduzem o crescimento de promastigotas de L. amazonensis. |
| Xylopia frutescens Aubl. (Annonaceae Juss.) e Xylopia laevigata (Mart.) R.E.Fr. (Annonaceae Juss.) | Doença de Chagas | Óleos essenciais obtidos de folhas de X. frutescens e X. laevigata -apresentaram atividade tripanocida significativa contra diferentes formas de T. cruzi que podem ser atribuídas à alta concentração cariofileno e germacreno D, confirmando as espécies de Annonaceae como fonte natural de compostos biologicamente ativos com propriedades antiprotozoárias. |
| Mitracarpus frigidus (Willd. ex Roem. & Schult.) K.Schum. (Rubiaceae Juss.) | Leishmaniose e Criptococose (e outras doenças) | Óleo essencial de M. frigidus mostrou um forte efeito antifúngico contra Cryptococcus neoformans e Candida albicans e atividade expressiva contra as formas promastigotas de L. major e L. amazonensis. |

| | | |
|--|-----------------------|--|
| Eremanthus erythropappus (DC.) MacLeish (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Esquistossomose | Os resultados sugerem que os extratos de diclorometano e hexano de <i>E. erythropappus</i> apresentaram atividade esquistossomicida e podem ser úteis no desenvolvimento de novas drogas esquistossomicidas. |
| Baccharis dracunculifolia DC. (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Paracoccidioidomicose | Quatro compostos isolados (ácido ursólico, linolenato de metila, óxido de cariofileno e trans-nerolidol) mostraram as atividades biológicas, e esses compostos podem afetar a superfície celular e o crescimento de isolados de <i>P. brasiliensis</i>). |
| Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae J.St.-Hil.), Lippia organoides Kunth (Verbenaceae J.St.-Hil.), Chenopodium ambrosioides L. (Amaranthaceae A.Juss.), Ocimum gratissimum L. (Lamiaceae Martinov), Justicia pectorales Jacq (Acanthaceae) e Vitex agnus-castus L. (Lamiaceae Martinov) | Doença de Chagas | Todos os óleos essenciais testados demonstraram efeito inibitório no crescimento e sobrevivência do parasita. Os óleos essenciais de <i>L. sidoides</i> e <i>L. organoides</i> foram os mais eficazes contra as formas tripomastigota e amastigota, respectivamente. Nenhum efeito citotóxico significativo foi observado em macrófagos peritoneais de camundongos. |
| Aspidosperma ramiflorum Müll.Arg. (Apocynaceae Juss.) | Leishmaniose | Os compostos isolados das folhas, ramiflorinas A e B (são alcalóides diméricos corinantoides), apresentaram atividade anti-leishmania. Este estudo demonstrou a utilidade do extrato alcalóide das folhas como alternativa promissora ao uso da casca do caule de <i>A. ramiflorum</i> , para a obtenção dos compostos bioativos. |
| Piper duckei C.DC. (Piperaceae Giseke) e Piper demeraranum (Miq.) C.DC. (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | Os principais constituintes encontrados no óleo essencial de <i>P. demeraranum</i> foram limoneno e β -elemeno e no óleo de <i>P. duckei</i> os principais componentes encontrados foram germacreno D e trans- cariofileno. Os óleos de <i>P. demeraranum</i> e <i>P. duckei</i> exibiram atividade biológica contra duas espécies de <i>Leishmania</i> , sendo o óleo essencial de <i>P. duckei</i> o mais ativo. |
| Annona mucosa Jacq. (Annonaceae Juss.) | Leishmaniose | A investigação fitoquímica do extrato de diclorometano revelou a presença dos alcalóides oxoaporfínicos: arterospermidina e da liriodenina. O extrato de diclorometano das folhas foi o mais ativo contra <i>Leishmania</i> spp. |
| Kielmeyera variabilis Mart. & Zucc. (Calophyllaceae J.Agardh) | Leishmaniose | Foram isolados seis flavonóides e um triterpeno de tremoço. Destes, apenas a quercitrina foi capaz de inibir o crescimento da forma amastigota-like de <i>L. amazonensis</i> . |
| Unonopsis guatterioides (A.DC.) R.E.Fr. (Unonopsis guatterioides) e Unonopsis duckei R.E.Fr. (Annonaceae Juss.) | Leishmaniose | Tanto <i>U. duckei</i> como <i>U. guatterioides</i> têm uma atividade leishmanicida significativa. Todas as frações alcalóides de galhos, cascas e folhas de <i>U. guatterioides</i> foram classificadas como altamente ativas. O conhecimento prévio da química da espécie <i>U. guatterioides</i> reforça a ideia da potencialidade dos alcalóides aporfínicos no combate à leishmaniose. |
| Cissampelos sympodialis Eichler (Menispermaceae A.Juss.) | Leishmaniose | A warifteína, um alcalóide bisbenzilisquinolina, isolada de <i>C. sympodialis</i> . inibiu o crescimento de promastigotas de <i>L. chagasi</i> in vitro. |

| | | |
|--|---------------------------------------|---|
| Piper carniconnectivum C.DC. (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | O derivado da ciclopentenediona (2- [1-hidroxi-3-fenil- (Z , 2 E) -2-propenilideno] -4-metil-4-ciclopenteno-1,3-diona) isolado das raízes de P. carniconnectivum inibiu o crescimento de promastigotas de L. amazonensis e não afetou a viabilidade dos macrófagos. |
| Caesalpinia echinata Lam. (Fabaceae Lindl.) | Leishmaniose | A investigação levou ao isolamento de cinco novos diterpenos de cassana junto com o conhecido ácido lambertiânico. Três dos compostos isolados inibiram o crescimento de formas semelhantes a amastigotas de Leishmania amazonensis sem afetar as células mononucleares obtidas do sangue periférico humano. |
| Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae J.St.-Hil.) | Leishmaniose | O monoterpene timol oxigenado foi o principal constituinte encontrado no óleo essencial de L. sidoides. O óleo essencial bruto e timol mostraram atividades significativas contra as formas promastigotas de L. amazonensis. |
| Lippia lacunosa Mart. & Schauer (Verbenaceae J.St.-Hil.) | Tuberculose | Sete metoxiflavonas e um triterpene foram isolados do extrato de diclorometano das folhas de L. lacunosa e avaliados contra M. tuberculosis. O composto mais ativo foi 3'- O -metil-eupatorina seguido por cirsimarina, eupatilina e eupatorina. |
| 'Blepharocalyx salicifolius (Kunth) O.Berg (Myrtaceae Juss.) | Leishmaniose/ Paracoccidiodomicose | O extrato etanólico das folhas rendeu dezesseis frações. Cinco compostos foram isolados e ensaiados. As chalconas tiveram atividade para todos os ensaios biológicos. Quercitrina e a guaijaverina exibiram apenas atividade leishmanicida. |
| Ocotea duckei Vattimo-Gil (Lauraceae Juss.) | Leishmaniose | A yangambina (furofurano lignano) produz efeitos citotóxicos e citostáticos contra Leishmania in vitro, desencadeando o processo de morte celular programada característico de eventos apoptóticos e autofágicos. |
| Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae R.Br.) | Paracoccidiodomicose | As partes aéreas de S. terebinthifolius forneceram dois compostos antifúngicos ativos sobre P. brasiliensis: schinol e novo bifênil identificado como 4'-etil-4-metil-2,2', 6,6' -tetra-hidroxi [1,1'-bifenil] - 4,4'-dicarboxilato. |
| Inga spp. Mill. (Leguminosae Juss.), Schinus terebinthifolius Raddi (Anacardiaceae R.Br.), Punica granatum L. (Lythraceae J.St.-Hil.), Alternanthera brasiliana (L.) Kuntze (Amaranthaceae A.Juss.), Piper regnellii (Miq.) C.DC. (Piperaceae Giseke), Piper abutiloides Kunth (Piperaceae Giseke), Herissantia crispa (L.) Brizicky (Malvaceae Juss.), Rubus urticaefolius Poir (Rosaceae Juss.), Rumex acetosa L. (Polygonaceae A. Juss.) e Baccharis dracunculifolia DC. (Asteraceae Bercht. & J.Presl) | Paracoccidiodomicose | As frações de hexano de extratos hidroalcoólicos de P. regnellii foram os mais ativos contra o P. brasiliensis. Os principais componentes de B. dracunculifolia foram hidrocinamato de etila e espatulenol, enquanto os principais componentes da fração hexânica de P. regnellii foram 1-metoxi-4- (1-propenil) benzeno e apiol. |
| Piper tuberculatum Jacq. (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | O ácido 3,4,5-trimetoxi-dihidrocinâmico (TMPP) apresentou efeito leishmanicida dose dependente para as formas promastigotas de L. amazonensis. |

| | | |
|--|------------------|--|
| Piper claussonianum (Miq.) C.DC. (Piperaceae Giseke) | Leishmaniose | Os sesquiterpenos foram os principais constituintes da fração volátil das folhas secas. Porém, monoterpenos foram identificados em maior quantidade nas inflorescências secas. O óleo essencial das folhas frescas de <i>P. claussonianum</i> , rico em (E)-nerolidol, apresentou inibição efetiva do crescimento de <i>L. amazonensis</i> . |
| Blepharocalyx salicifolius (Kunth) O. Berg (Myrtaceae Juss.) | Leishmaniose | Observou-se que oito frações do extrato bruto foram ativas contra <i>L. amazonensis</i> . As frações F11 e F12 dos extratos etanólicos de <i>B. salicifolius</i> foram ativas contra células amastigotas de <i>L. amazonensis</i> . |
| Lantana trifolia L. (Verbenaceae J.St.-Hil.) e Lantana fucata Lindl. (Verbenaceae J.St.-Hil.) | Tuberculose | <i>L. trifolia</i> e <i>L. fucata</i> renderam óleos essenciais ricos em sesquiterpenos e exibiram atividade antimicobacteriana in vitro. |
| Cymbopogon citratus (DC) Stapf. (Poaceae Barnhart), Lippia sidoides Cham (Verbenaceae J.St.-Hil.) e Ocimum gratissimum L. (Lamiaceae Martinov) | Leishmaniose | O óleo essencial de <i>C. citratus</i> , <i>L. sidoides</i> e <i>O. gratissimum</i> inibiu o crescimento de <i>L. chagasi</i> (promastigotas), sendo o óleo do <i>C. citratus</i> mais eficaz entre os três óleos testados. O óleo de <i>C. citratus</i> contém geraniol e neral como constituintes principais. Eugenol e 1,8-cineol foram prevalentes no óleo de <i>O. gratissimum</i> . O óleo essencial obtido das folhas de <i>L. sidoides</i> apresentou timol como principal constituinte. |
| Anemia tomentosa var. anthriscifolia (Schrad.) Mickel (Anemiaceae) | Tuberculose | Foram identificados em grandes quantidades diferentes tipos de sesquiterpenos de triquinano. O óleo essencial de <i>A. tomentosa</i> var. <i>anthriscifolia</i> apresentou atividade contra <i>M. tuberculosis</i> . |
| Própolis brasileira | Doença de Chagas | O estudo reforça a relevância do ácido cumarínico e derivados, especialmente os prenilados e também dos ácidos cafeoilquínicos sobre a atividade biológica da própolis brasileira. |
| Uncaria tomentosa (Willd. ex Roem. & Schult.) DC. (Rubiaceae Juss.) | Dengue | Os efeitos antivirais e imunomoduladores in vitro dos alcalóides oxindol pentacíclicos de <i>U. tomentosa</i> exibiram novas propriedades em relação aos procedimentos terapêuticos na dengue e podem ser investigados como um candidato promissor para aplicação clínica. |
| Cabralea canjerana (Vell.) Mart. subsp. canjerana (Meliaceae A.Juss.) | Tuberculose | O extrato diclorometano de folhas de <i>C. canjerana</i> apresentou atividade contra <i>M. tuberculosis</i> . |
| Cymbopogon citratus (DC) Stapf (Poaceae Barnhart) | Doença de Chagas | O óleo essencial de capim-limão é eficaz contra <i>T. cruzi</i> (tripomastigotas e amastigotas), sendo que seu principal componente, o citral, é responsável pela atividade tripanocida. |
| Achillea millefolium L. (Anthemideae Cass.), Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L.M.Perry (Myrtaceae Juss.) e Ocimum basilicum L. (Lamiaceae Martinov) | Doença de Chagas | O tratamento com óleos e constituintes demonstrou inibir o crescimento do parasita, sendo o óleo essencial de cravo (seu principal constituinte é o eugenol) o mais eficaz. |
| Aspidosperma ramiflorum Müll.Arg. (Asclepiadaceae Turcz.) | Leishmaniose | A fração alcalóide básica apresentou boa atividade contra a forma extracelular (promastigotas) de <i>L. amazonensis</i> . A análise química o extrato alcalóide identificou os alcalóides ramifloro A e |

| | | |
|---|------------------|---|
| | | ramifloro B que também mostraram atividade significativa contra <i>L. amazonensis</i> . |
| Própolis brasileira e Própolis da Bulgária | Leishmaniose | Considerando as diferenças químicas entre os extratos de própolis e o comportamento dos parasitas, foram observadas diferenças significativas nas atividades leishmanicidas. Uma análise geral mostrou que, para todas as espécies avaliadas, os extratos búlgaros (predominância de flavonóides) foram mais ativos do que o extrato brasileiro em etanol. |
| <i>Annona foetida</i> Mart. (Annonaceae Juss.) | Leishmaniose | Foram isolados e identificados quatro alcalóides, a saber, dois alcalóides pirimidina- β -carbolina (1 e 2) e dois alcalóides oxoaporfina (3 e 4). Todos os compostos exibiram atividade antileishmania in vitro contra formas promastigotas de <i>L. braziliensis</i> . |
| <i>Aspidosperma ramiflorum</i> Müll.Arg. (Apocynaceae Juss.) | Leishmaniose | O extrato alcalóide de <i>A. ramiflorum</i> foi muito mais eficaz contra <i>L. (L.) amazonensis</i> (DL50 <47 $\mu\text{g} / \text{ml}$) do que <i>L. (V.) braziliensis</i> . |
| Própolis brasileira e Própolis da Bulgária | Doença de Chagas | Apesar da diferença na composição dos extratos etanólicos de própolis do Brasil, os principais compostos bioativos são ácidos fenólicos, terpenóides específicos e derivados prenilados e da Bulgária (rico em flavonoides e derivados do ácido caféico), os dois extratos foram ativos contra <i>T. cruzi</i> . |
| Própolis de Burgas (sudeste da Bulgária) e de Lovetch (oeste da Bulgária) | Doença de Chagas | Os extratos etanólicos do propólis coletados do sudeste e oeste da Bulgária apresentaram composição semelhante, com alto teor de flavonóides, e forte atividade inibitória contra os epimastigotas proliferativos do <i>T. cruzi</i> . |
| <i>Kielmeyera albopunctata</i> Saddi (Calophyllaceae J.Agardh) | Doença de Chagas | Tanto o extrato de CH_2Cl_2 da casca do caule de <i>K. albopunctata</i> , quanto dois compostos cumarínicos isolados (1 e 3) mostraram atividade tripanocida significativa quando testados a 500 $\mu\text{g} / \text{mL}$, matando 99, 100 e 98% dos parasitas, respectivamente. |
| Própolis | Doença de Chagas | Os compostos fenólicos isolados foram ativos contra <i>T. cruzi</i> , contra quatro espécies de bactérias e induziram efeito relaxante em traquéias isoladas de cobaias. Mais investigações são necessárias, incluindo estudos fitoquímicos e biológicos, a fim de esclarecer a origem da própolis brasileira (fontes vegetais) e suas atividades farmacológicas. |

Fonte: autores.

Apesar da estratégia de busca utilizada nesta pesquisa, estar limitada aos termos descritos no **QUADRO 1** da metodologia deste trabalho, os resultados encontrados apontam para crescimento da produção científica do tema. Todavia, vale destacar que ainda existem muitos desafios impostos as instituições brasileiras que atuam em P&D de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas. Nos últimos anos, convive-se no Brasil com um declínio do investimento público nacional em ciência e tecnologia^[25]. Em P&D voltadas para doenças negligenciadas, um estudo recente revelou a falta de correlação entre o número de publicações, o financiamento e a carga de doenças para doenças negligenciadas prioritárias no Brasil^[26].

E, especificamente, na área de desenvolvimento de medicamentos derivados da biodiversidade brasileira, há um reconhecido atraso tecnológico nacional^[5]. Questões relacionadas a regulamentação do acesso e da repartição de benefícios advindos dos recursos da biodiversidade têm sido apontadas como desencorajadoras para a P&D de novos produtos da biodiversidade brasileira^[6]

Conclusão

Nas últimas duas décadas houve um aumento na produção de conhecimento sobre desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas, com relevante participação de autores, instituições e financiamentos públicos brasileiros, incluindo a contribuição da Fiocruz.

Embora os resultados apontem para crescimento da produção científica do tema, é relevante observar que a despeito da concentração de esforços em P&D de novos medicamentos para doenças negligenciadas, a lacuna entre a carga dessas doenças no mundo e o desenvolvimento de novos medicamentos persiste, e poucos novos agentes terapêuticos tornaram-se de fato disponíveis nos últimos anos.

É imperativo a implementação de estratégias futuras de pesquisa e de financiamento que promovam maior produção científica e que propiciem a tradução da pesquisa básica para a prática clínica. Sugere-se, entre outras ações, a promoção das políticas de acesso aberto e compartilhamento irrestrito de informações em pesquisa, o fortalecimento do financiamento global da P&D para doenças negligenciadas e o fomento a parcerias entre instituições de pesquisa, universidades e empresas privadas como partes da construção de uma solução rumo ao desenvolvimento de novos medicamentos para doenças negligenciadas. Especificamente no Brasil, é urgente a reversão do declínio do investimento público nacional em ciência e tecnologia e a construção de um ambiente regulatório capaz de estimular P&D de derivados da biodiversidade.

Os novos derivados de plantas medicinais mostrados neste estudo possuem potencial para compor um novo arsenal terapêutico no combate as doenças negligenciadas e, embora exista a possibilidade de nenhuma delas de fato se tornar um medicamento, o investimento em P&D de derivados da biodiversidade pode impulsionar o desenvolvimento das capacidades tecnológicas e aumentar a possibilidade de se encontrar fármacos inovadores no futuro.

Sabemos que o desenvolvimento de novas ferramentas terapêuticas é apenas um dos desafios a serem enfrentados para eliminação de doenças negligenciadas no mundo, contudo a pesquisa de descoberta e desenvolvimento de novos medicamentos para doenças negligenciadas possibilita encontrar soluções que no futuro evitarão a dor de tantos brasileiros que sofrem e morrem devido a essas doenças.

Referências

1. World Health Organization (WHO). **Ending the neglect to attain the sustainable development goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030**. 177p. [Acesso em: 25 abr. 2021]. [\[Link\]](#).
2. Organização das Nações Unidas (ONU). **Transformando Nosso Mundo: a agenda 2030 para o desenvolvimento sustentável**. 2015. 42p. [Acesso em: 06 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
3. Weng H, Chen H, Wang M. Innovation in neglected tropical disease drug discovery and development. *Infect. Dis Poverty*. 2018; 7(1): 67. [Acesso em: 18 mai. 2021]. [\[CrossRef\]](#).

4. Hotez PJ, Pecoul B, Rijal S, Boehme C, Aksoy S, Malecela M *et al.* Eliminating the Neglected Tropical Diseases: Translational Science and New Technologies. **PLoS Negl Trop Dis**. 2016; 10(3): e0003895. [Acesso em: 2 mai. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
5. Bolzani VS. Biodiversidade, bioprospecção e inovação no Brasil. **Ciênc Cult**. 2016; 68(1): 4-5. [Acesso em: 3 mai. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
6. Hasenclever L, Paranhos J, Costa CR, Cunha G, Vieira D. A indústria de fitoterápicos brasileira: desafios e oportunidades. **Ciênc Saúde Colet**. 2017; 22(8): 2559-2569. [Acesso em: 2 jun. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
7. Brasil. Senado Federal. **Decreto Legislativo nº 2**, de 03 de fevereiro de 1994. Aprova o texto da Convenção sobre Diversidade Biológica, assinada durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, realizada na Cidade do Rio de Janeiro, no período de 5 a 14 de junho de 1992. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 04 fev. 1994; Seção 1, p.1693. [Acesso em: 4 fev. 2021]. [\[Link\]](#).
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. 60 p. [Acesso em: 26 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
9. Mattos AER. Sistema Nacional de Inovação em Saúde: um estudo dos movimentos governamentais recentes na área de fitoterápicos. **Rev Fitos**. 2017; 11(1): 99-104. [Acesso em: 24 mai. 2021]. [\[Link\]](#)
10. Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). **A fundação**. [Acesso em: 25 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
11. Teixeira PCC, Villas Boas GK. O território e o desenvolvimento de fitomedicamentos no Brasil. **Rev Fitos**. 2010; 5(1): 35-45. [Acesso em: 20 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
12. Villas Boas GK. A Rede de Inovação em medicamentos da Biodiversidade – RedesFito. **Rev Fitos**. 2018; (Ed. Esp.): 47-64.]. [Acesso em: 20 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
13. Vera-Polania F, Muñoz-Urbano M, Bañol-Giraldo AM, Jimenez-Rincón M, Granados-Álvarez S, Rodriguez-Morales AJ. Bibliometric assessment of scientific production of literature on chikungunya. **J Infect Public Health**. 2015; 8 (4): 386-388. [Acesso em: 23 mar. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
14. Jing B, Wei L, Yang-Mu H, Yan G. Bibliometric study of research and development for neglected diseases in the BRICS. **Infect Dis Poverty**. 2016; 5 (1): 89. [Acesso em: 23 mar. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
15. Elsevier (Holanda). Scopus. **Content Coverage Guide**. 24p. [Acesso em: 23 mar. 2021]. [\[Link\]](#).
16. Yamey G, Batson A, Kilmarx PH, Yotebieng M. Funding innovation in neglected diseases. **BMJ**. 2018; 360: k1182. [Acesso em: 25 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
17. G-FINDER (Austrália). **Neglected disease research and development: where to now?** 39p. [Acesso em: 23 abr. 2021]. [\[Link\]](#).
18. Ravi S, Bharadvaja N. Market Analysis of Medicinal Plants in India. **Curr Pharm Biotechnol**. 2019; 20 (14): 1172-1180. [Acesso em: 25 mai. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
19. Mukherjee PK, Harwansh RK, Bahadur S, Banerjee S, Kar A, Chanda J *et al.* Development of Ayurveda – Tradition to trend. **J Ethnopharmacol**. 2017; 197: 10-24. [Acesso em: 26 mai. 2021]. [\[CrossRef\]](#).
20. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). **Exemplo para o Brasil, reconhecimento mundial**. [Acesso em: 27 mai. 2021]. [\[Link\]](#).
21. Figueredo CA de, Gurgel IGD, Gurgel GD. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis**. 2014; 24 (2): 381-400. [Acesso em: 30 mai. 2021]. [\[CrossRef\]](#).

22. Mcmanus C, Neves AFB. Funding research in Brazil. **Scientometrics**. 2021; 126: 801-823. [Acesso em 23 abr. 2021]. [\[CrossRef\]](#).

23. Alryalat SA, Saleh M, Alaqraa M, Alfukaha A, Alkayed Y, Abaza M *et al*. The impact of the open-access status on journal indices: a review of medical journals. **F1000Res**. 2019; 8: 266. [Acesso em 23 abr. 2021]. [\[CrossRef\]](#).

24. Iyandemye J, Thomas MP. Low income countries have the highest percentages of open access publication: a systematic computational analysis of the biomedical literature. **PLoS One** 2019; 14 (7): e0220229. [Acesso em 23 mar. 2021]. [\[CrossRef\]](#).

25. Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada (IPEA). **O declínio do investimento público em ciência e tecnologia: uma análise do orçamento do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações até o primeiro semestre de 2019**. 16p. [Acesso em: 14 mai. 2021]. [\[Link\]](#).

26. Fonseca BP, Albuquerque PC, Zicker F. Neglected tropical diseases in Brazil: lack of correlation between disease burden, research funding and output. **Trop Med Int Health**. 2020; 25 (11): 1373-1384. [Acesso em: 28 abr. 2021]. [\[CrossRef\]](#).

Histórico do artigo | **Submissão:** 30/06/2021 | **Aceite:** 08/02/2022 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Ferreira Neto PTP, Santos TR, Tellis CJM. Desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica. **Rev Fitos**. Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 267-292. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1287>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.



O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas

The impact of bioprospecting for the discovery of new drugs

<https://doi.org/10.32712/2446-4775.2022.1313>

Marques, Lana Grasiela Alves¹; Vieira Neto, José de Brito¹; Sales, Sarah Leyenne Alves¹; Costa, Pedro Mikael da Silva¹; Guimarães, Celina de Jesus¹; Manso, Mariana Palmeira¹; Pereira, João Victor de Melo¹; Pessoa, Claudia do Ó^{*}.

¹Universidade Federal do Ceará (UFC), Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Fisiologia e Farmacologia. Rua Coronel Nunes de Melo, 1127, Rodolfo Teófilo, CEP 60430-275, Fortaleza, CE, Brasil.

*Correspondência: cpessoa@ufc.br.

Resumo

A utilização de produtos naturais no desenvolvimento de novos fármacos tem sido amplamente discutida nos últimos 50 anos. Nesse sentido, a biodiversidade de diversos países influencia de maneira significativa na descoberta de novas moléculas bioativas, como os quimioterápicos de origem natural vimblastina e taxol. A bioprospecção, que se refere à coleta de novas espécies vegetais para serem testadas em modelos de *screening* e, posteriormente, em técnicas analíticas, gera diversas moléculas cujas atividades podem configurar potenciais ações biológicas no tratamento de diferentes enfermidades, como o câncer. Sob essa perspectiva, o presente trabalho tem como objetivo relacionar os modelos de *screening*, como o *High Content Screening*, o *High Throughput Screening* e a Triagem Virtual, na descoberta de novas moléculas. Além de analisar comparativamente instituições, legislações e os investimentos financeiros de diferentes países, no estudo e no desenvolvimento de novos compostos de origem naturais. Desse modo, foi possível concluir que, apesar de existirem esforços consideráveis para o aproveitamento da biodiversidade no avanço da ciência, estes ainda apresentam diversas dificuldades, principalmente no Brasil, o qual nunca estabeleceu um programa expressivo, em nível nacional ou contrato para implantar uma rede nacional de bioprospecção no país, conforme ocorreu em outras nações citadas.

Palavras-chave: Anticâncer. *Screening*. Biodiversidade. Bioativos. Bioprospecção.

Abstract

The use of natural products in the development of new drugs has been widely discussed in the last 50 years. In this sense, the biodiversity of several countries significantly influences the discovery of new bioactive molecules, such as the chemotherapeutic agents of natural origin vinblastine and Taxol. Bioprospecting, which refers to the collection of new plant species to be tested in screening models and subsequently in analytical techniques, generates several molecules whose activities may configure potential biological actions in the treatment of different diseases, such as cancer. Under this perspective, the present work aims

to relate the screening models *High Content Screening*, *High Throughput Screening* and Virtual Screening, in the discovery of new molecules. In addition, comparatively analyzing institutions, legislations and financial investments in the study and development of natural's products according to their biodiversity. It was concluded that, although there are efforts for the use of biodiversity in the advancement of science, they still have several difficulties, especially Brazil, which has not presented an expressive program or contract in bioprospecting as the other nations mentioned.

Keywords: Anticancer. Screening. Biodiversity. Bioactive. Bioprospecting.

Introdução

Desde o início da civilização, os recursos naturais são usados como o objetivo de melhorar o nível de vida do ser humano. Porém, quando o propósito e o resultado são de natureza comercial, a expressão introduzida em 1989, atribuída pelo químico economista Thomas Eisner através do artigo *Prospecting for Nature's Chemical Riches*, a prospecção química foi redefinida em 1993 como prospecção da biodiversidade^[1], podendo ser considerada uma atividade recente.

Desta forma, o termo Bioprospecção é definido como a busca sistemática, classificação e investigação de novas fontes de compostos químicos, genes, proteínas e outros produtos que possam ter potencial e/ou valor econômico e levar ao desenvolvimento de um produto onde se encontram os componentes da biodiversidade^[2-4].

A importância dos recursos naturais como inspiração para o desenvolvimento de novas moléculas

De acordo com Newman e Cragg^[5], os produtos naturais continuam sendo grande fonte de inspiração para a descoberta de novas drogas. Na terapia anticâncer, 41% das drogas antitumorais aprovadas foram inspiradas na natureza. Assim, os produtos naturais continuam sendo importante fonte de origem de novas estruturas e poderão ser fonte de inspiração de novas moléculas ou de novos mecanismos de ação^[6]. É possível destacar quimioterápicos usados no tratamento do câncer oriundos da natureza como a vimblastina, vincristina, etoposide e o paclitaxel^[5].

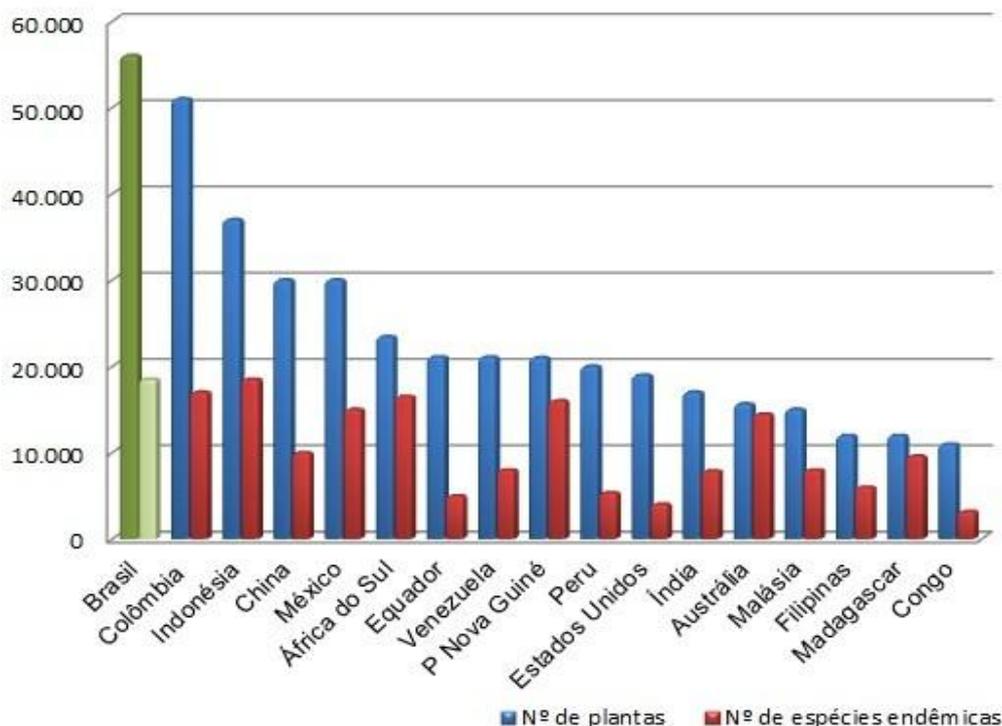
A partir desses, novos análogos, assim como drogas conjugadas com anticorpos, vêm sendo desenvolvidos para melhorar a solubilidade e a especificidade. Desse modo, a descoberta de novas moléculas bioativas permanece importante para identificar novos *templates* de moléculas candidatas a novas drogas terapêuticas^[7].

Nesse contexto, existem 17 países que concentram 70% da biodiversidade do planeta, sendo reconhecido pelo Centro Mundial de Conservação e Monitoramento como países megadiversos, os quais são: Austrália, Brasil, China, Colômbia, República Democrática do Congo (RDC) (ex-Zaire), Equador, Índia, Indonésia, Madagascar, Malásia, México, Papua Nova Guiné, Peru, Filipinas, África do Sul, Estados Unidos da América e Venezuela. Essa megabiodiversidade determina a diversidade e o endemismo de espécies de plantas superiores nos diferentes países (**FIGURA 1**).

A criação do conceito de países megadiversos teve como base quatro premissas, nas quais o critério foi o princípio do endemismo, primeiro no nível de espécie e depois em níveis taxonômicos superiores, tais como gênero e família. Em relação a isso, para se qualificar como país megadiverso um país deve ter ao menos 5.000 plantas endêmicas.

O Brasil é o principal dentre os países megabiodiversos que apresentam em seus territórios entre 15 e 20% da biodiversidade do planeta distribuídos em um enorme patrimônio natural. A maior diversidade de flora do mundo está no Brasil, com número superior a 55 mil espécies descritas (22% do total no mundo), assim como alguns dos mais ricos ecossistemas em número de espécies vegetais (Amazônia; Mata Atlântica e o Cerrado).

FIGURA 1: Diversidade e endemismo de espécies de plantas superiores.



Fonte: Elaboração própria a partir de dados MMA

De fato, muitas drogas em uso recorrente na terapia do câncer foram descobertas de forma racional, baseadas nos desenhos de suas estruturas, e muitas outras foram descobertas por processos empíricos, avaliando a atividade antineoplásica. Os primeiros programas de *screening* tiveram início a partir de uma mostarda nitrogenada em 1940, e hoje existem acima de 50 drogas anticâncer sendo utilizadas em clínicas, em diferentes tipos de tumores^[3]. Ainda, é importante ressaltar que a maioria (60%) dos fármacos anticâncer introduzidos na terapêutica nas últimas décadas tem sua origem nos produtos naturais. Dentre estes, destacam-se a vimblastina (Velban[®]), vincristina (Oncovin[®]); os análogos vindesina (Eldisine[®]) e vinorelbina (Navelbine[®]); o paclitaxel (Taxol[®]) e o análogo docetaxel (Taxotere[®]); a podofilotoxina e os análogos etoposídeo (Etopophos[®]) e teniposídeo (Vumon[®]); e a camptotecina e os análogos topotecano (Hycamtin[®]) e irinotecano (Camptosar[®]). O sucesso na terapêutica anticâncer é refletido pelo aumento na expectativa de vida e o movimento biocomercial de 60 bilhões de dólares anualmente^[4]. Além disso, centenas de compostos derivados de produtos naturais estão em fase de testes clínicos, principalmente para doenças como o câncer e doenças infecciosas. Durante o final do ano de 2020, existiam aproximadamente 127 ensaios clínicos sendo realizados, tendo como base moléculas derivadas de plantas, sendo possível citar l-selenomethionine (Fase II e III), napabuscasin (fase I/II, II e III), genistein (fases I, II e I/II), idronoxil (fases I, II e I/II) e gossypol (I/II e II) em diferentes tipos de câncer, de acordo com a pesquisa no Clarivate Analytics Integrity *database*. O sucesso terapêutico dessas substâncias estimula a procura de novos agentes quimioterápicos derivados de produtos naturais.

É importante ressaltar o Taxol, o mais emblemático exemplo de fármaco descoberto no início dos anos 70 e que levou mais de 25 anos para chegar ao mercado, tendo sido aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) apenas em 1992 para o tratamento de câncer metastático do ovário. Posteriormente, os ensaios clínicos também demonstraram resultados encorajadores para outros tipos de câncer, como o de cabeça, pescoço, pulmão e de mama. Este medicamento contra o câncer é produzido atualmente de maneira semissintética, e está listado dentre os 20 medicamentos mais vendidos com cifra de US\$ 1 bilhão anual no ano de 1999 e de US\$ 1,6 bilhão em 2000, antes de os medicamentos genéricos aparecerem no mercado^[9]. Em 2002, as vendas de Taxol e Camptotecina, um inibidor da topoisomerase I, atingiram US\$ 2,75 bilhões, o que corresponde a um terço do mercado de drogas anticâncer. Ainda, Docetaxel (Taxotere), análogo do Taxol, teve vendas de US\$ 3 bilhões em 2009^[10]. Nesse contexto, o sucesso do Taxol é encorajador para a descoberta de novas moléculas derivadas de substâncias vegetais com vistas ao mercado.

Vale destacar que a diversidade estrutural, no entanto, não é a única razão pela qual os produtos naturais são de interesse para o desenvolvimento de novas drogas. Outra característica importante é o fato deles, muitas vezes, possuírem seletiva atividade biológica específica, com base em mecanismos de ação. Dois exemplos excelentes são a inibição da HMG-CoA redutase (estatinas), como é o caso da lovastatina, e a promoção na atividade da estabilização da tubulina, presente no paclitaxel. Entretanto, nenhum dos exemplos citados foi descoberto sem o produto natural conduzir a investigação de seus mecanismos de ação.

Desse modo, a exploração dos metabólitos secundários de organismos vivos é, certamente, um aspecto de incontestável valor para a ciência pelas suas aplicações farmacológicas diretas, como protótipos de novos fármacos ou como instrumentação científica. A importância dos recursos naturais na medicina moderna tem sido discutida em 3 critérios bem definidos:^[11] a elevada introdução de novas entidades químicas, em decorrência da larga diversidade estrutural, servindo como composto líder para semi-síntese ou síntese total;^[2] o número de doenças tratadas ou prevenidas por estas substâncias e^[3]; a frequência dessas substâncias no tratamento de doenças^[11].

Visão geral dos modelos de *screening* para descoberta de novas moléculas

O processo de bioprospecção gera como produto muitas moléculas com possível ação biológica para diferentes doenças. Sendo assim, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos capazes de avaliar estes produtos da bioprospecção de forma rápida e precisa. Por isso, os primeiros programas de triagem de moléculas foram estabelecidos inicialmente no Sloan Kettering Institute, nos Estados Unidos, em seguida no Chester Beatty Institute, na Inglaterra, e na Universidade de Tóquio, no Japão. Posteriormente, estas análises seguiram para a United Kingdom's Cancer Research Campaign (CRC), European Organisation for Research on Treatment of Cancer (EORTC) e para a Japanese Foundation for Cancer Research (JFCR), as quais têm cooperado internacionalmente na pesquisa e no desenvolvimento de novas drogas^[8,11,12].

Desde os meados da década 50, o National Cancer Institute (NCI), localizado nos Estados Unidos, vem coordenando o maior programa de *screening* e financiando o desenvolvimento de novas drogas anticâncer, com suporte do Cancer Chemotherapy National Service Center (CCNSC), com o intuito de descobrir novas moléculas no tratamento do câncer. O principal modelo, usado nos anos iniciais deste programa do NCI, era baseado nas linhagens leucêmicas de camundongos L1210 *in vivo*, seguidas pela análise em outros tipos de tumores de roedores. A partir de 1975, o *screening* baseado nas células L1210 foi substituído por um painel de tumores sólidos, que eram implantados em camundongos geneticamente imunodeprimidos

(*nude mice*) para simular os tumores que eram desenvolvidos por seres humanos. Entre 1975 e 1984 já haviam sido testados mais de 250000 compostos, em testes de *pre-screening* com a linhagem P388 e em um painel de tumores humanos, porém o resultado foi desapontador, em virtude de as moléculas selecionadas não terem evoluído para os estudos clínicos^[13].

Em 1985, o programa de screening no NCI mudou, sendo então estabelecido o *drug-screening programme*, que se baseia nos testes *in vitro* ao invés de *in vivo*. Esse novo programa apresentou 4 pontos importantes:

- a) Abordagem em órgãos específicos;
- b) Uso de linhagens de tumores sólidos humano;
- c) Uso de uma reduzida quantidade da molécula;
- d) Foco na avaliação de atividade biológica de produtos naturais de diversas origens (plantas, organismos marinhos e micróbios).

Em 1990, no NCI, em virtude do avanço e do conhecimento da biologia do câncer, surgiram novas abordagens de *screening in vitro* e foi estabelecido um novo programa de triagem de moléculas. Este novo programa foi estruturado com um painel de 60 linhagens derivadas de 7 tipos de tumores malignos, como o de cólon retal, melanoma, cérebro, rim, pulmão, ovário e a leucemia^[14]. Como forma de avaliar as moléculas advindas de fontes naturais frente a este painel de linhagens tumorais, estabeleceu-se que as moléculas seriam diluídas de forma seriada em cinco diferentes concentrações, a fim de obter-se uma curva de concentração-resposta. O principal método utilizado, para avaliar a citotoxicidade das moléculas testadas, foi o SRB (Sulforodamina B), o qual realiza uma análise de proteínas. O método do SRB foi desenvolvido por Skehan e colaboradores^[15] para avaliar o potencial citotóxico de novas moléculas em *screening* de larga escala. Este método se baseia na capacidade da proteína Sulforodamina B de ligar-se de forma eletrostática a proteínas presentes nas células, assim podendo relacionar a intensidade de marcação à quantidade de células presentes^[16].

O resultado era baseado na determinação da concentração que inibe 50% do crescimento celular (IC₅₀), o qual era obtido *in vitro* utilizando diferentes linhagens celulares, cujo resultado era inserido no programa COMPARE. Desse modo, o resultado obtido com essas novas moléculas era comparado com as drogas padrões, relacionando a responsividade celular e a estrutura molecular, tornando possível a sugestão de um provável mecanismo de ação destas moléculas^[16].

A utilização de métodos de *Screening*, com o avanço das técnicas analíticas, impulsionou pesquisa em produtos naturais e sintéticos em busca de novas drogas com potencial terapêutico. Em conjunto com estes avanços, tinha-se um objetivo de acelerar o conhecimento biológico e químico, atrelado a uma visão bioeconômica e social. Desde os anos 90, o desenvolvimento tecnológico resultou no aumento do *throughput* (volume de dados processados em um determinado espaço de tempo) de 10 mil ensaios/ano para os níveis atuais, podendo chegar, em sistemas de UHTS (*Ultra-high Throughput Screening*), a mais de 100 mil ensaios/dia. A evolução de HTS (*High Throughput Screening*) expandiu-se, no sentido da identificação e da validação dos alvos e da conversão das moléculas *hits* dos ensaios em *leads* qualificados e validados, por meio de informações geradas por ensaios ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) e testes de toxicidade. Além disso, o conhecimento de alvos moleculares permitiu o

desenvolvimento de *screenings* direcionados para alvos específicos, como *checkpoints*, entre as fases G1-G2 do ciclo celular: MDR-1, K-RAS, BCL-2, SKC, P53, MDM2 e timidilato sintetase^[17]. Além disso, o aumento do número e da disponibilidade de linhagens celulares humanas e animais, que passaram a ser comercializadas pelo banco de células *American Type Culture Collection* (ATCC) (Rockville, MD, USA), permitiu uma maior abrangência nos *screenings* de novas moléculas^[18].

Entretanto, apesar dos sucessos alcançados com o emprego desta técnica, algumas limitações tornaram-se aparentes, como a elevada porcentagem de falso-positivos identificada na triagem de inibidores enzimáticos. O processo de HTS, invariavelmente, leva à identificação de um número muito grande de *hits*, sendo que apenas uma pequena fração corresponde a ligantes verdadeiros da enzima alvo. Neste caso, o resultado encontrado para uma porção expressiva de *hits* não corresponde à inibição da enzima por mecanismos específicos (e.g., inibição reversível do tipo competitiva), mas pode estar associado a fatores como agregação, inibição promíscua ou artefatos decorrentes do ensaio utilizado (e.g., alta fluorescência, absorvância dos compostos testados)^[11]. É importante ressaltar que a triagem inicial representa o primeiro passo de um processo de HTS. Após a identificação dos *hits*, faz-se necessária a realização de ensaios secundários para a confirmação e validação dos resultados, permitindo a priorização de compostos.

Neste processo de evolução e de desenvolvimento de novas tecnologias, o advento da tecnologia do *High Content Screening* (HCS) tem se expandido ao longo de todos os diferentes estágios de processo de desenvolvimento de droga, e este é atualmente considerado como a principal tecnologia da indústria farmacêutica. O HCS combina a eficiência da técnica *high-throughput* com a habilidade de conseguir uma imagem celular para a obtenção de dados quantitativos e qualitativos a partir do complexo sistema biológico. O HCS está integrado em todos os aspectos da descoberta de drogas no modelo contemporâneo em *drug discovery*, incluindo a triagem primária de compostos, seguida da triagem capaz de dar suporte na relação estrutura-atividade e a avaliação do ADME (absorção, distribuição, metabolismo e excreção) e das propriedades de toxicidade e do complexo multivariado do perfil da droga^[19].

A tecnologia HCS continua a desenvolver aplicações adicionais na pesquisa oncológica, como o estudo da angiogênese, que permite rotineiramente analisar células endoteliais na indução do processo angiogênico em micropilacas^[11]. O fenótipo de formação dos vasos é surpreendente na medida em que as várias células recebem sinais umas das outras, e unem-se criando uma estrutura multicelular específica, envolvida em várias implicações de diversas doenças, particularmente no câncer. Dessa forma, há a estimulação da neovascularização de órgão lesado, que poderá ser benéfica, enquanto a inibição da neovascularização do tumor sólido ou da retina (degenerescência da mácula) é um indicativo de ação terapêutica. Esse sistema é capaz de capturar com precisão, medir e informar sobre os fenótipos individualmente, avaliando vários parâmetros. Outra área de interesse na oncologia que utiliza o HCS é a avaliação de compostos anticâncer pela análise da quantificação do rearranjo do citoesqueleto, especificamente analisando a distribuição dos microtúbulos^[20].

A capacidade de analisar múltiplos parâmetros em única célula de interesse é uma das características mais notáveis do HCS. De fato, o nível de complexidade que compreende as alterações na morfologia celular e a localização subcelular torna o HCS notável entre as atuais abordagens utilizadas para o rastreamento de drogas^[21,22]. No processo de descoberta de drogas, a compreensão de como as cascatas dos processos biológicos ocorre é a chave para o controle terapêutico. A sinalização celular, por conseguinte, está na raiz da maior parte dos alvos específicos para o desenvolvimento de compostos anticâncer e a utilização de sistema HCS está ajudando a acelerar os estudos pré-clínicos.

Mesmo que o HCS não venha a substituir completamente estudos toxicológicos clássicos *in vivo*, este irá estreitar o grupo de candidatos terapêuticos e proporcionar orientações em relação à dose a ser utilizada^[11]. Diferentes modelos celulares *in vitro* vêm sendo desenvolvidos para avaliar os efeitos toxicológicos destes novos compostos, como células tronco embrionárias de camundongo e embriões de rato^[21]. Outro modelo bastante utilizado e que pode ser combinado ao HCS é o ensaio com embriões de *zebrafish*, no qual Lantz-McPeak desenvolveu um método de avaliar a toxicidade de alguns compostos por meio de modificações no comprimento dos embriões^[21]. É importante salientar que o método de HCS vem sendo associado para analisar, de forma específica, moléculas com efeitos genotóxicos, neurotóxicos, hepatotóxicos, nefrotóxicos e cardiotoxicos^[21-24].

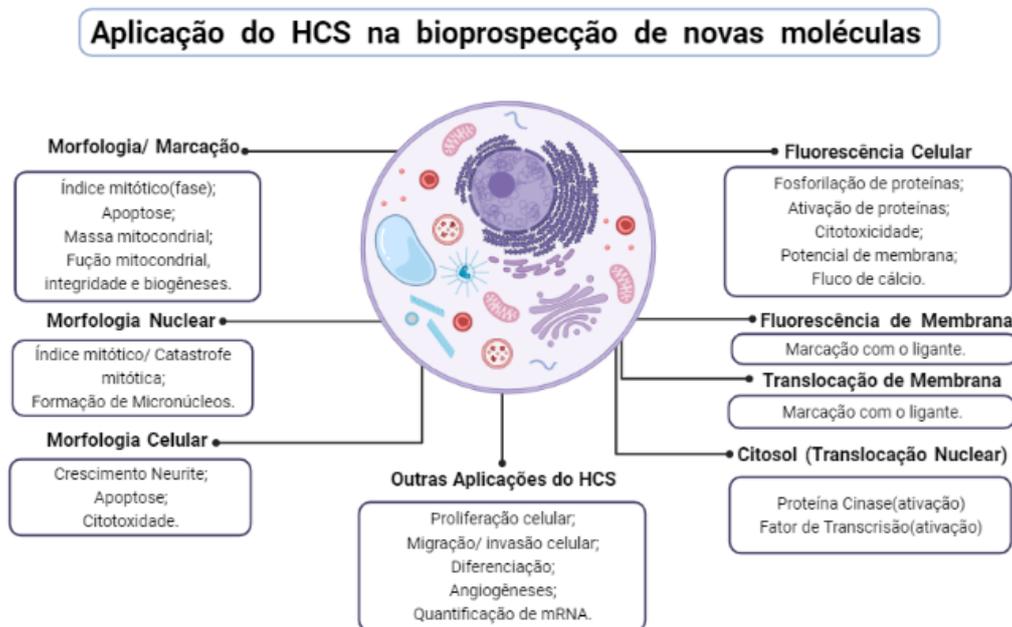
Desse modo, o número de *screenings* irá aumentar em 50% nos próximos anos, e a análise de sinais pode ser vista como uma das mais relevantes triagens, usando a aplicação do *High Content Screening* (HCS). O maior interesse no uso de HCS tem sido em grupos de pesquisa em Oncologia (67%), com grandes avanços de novas drogas, reagentes, probes e marcadores, embora haja também interesse em outras áreas como a neurologia (43%), toxicologia *in vitro* (35%), imunologia (35%) e biologia cardiovascular (23%)^[12]. Em um futuro próximo, com ajuda do HCS, haverá crescimento de pesquisas para um maior entendimento das doenças, bem como a elaboração de novas terapêuticas, as quais irão crescer acompanhadas do desenvolvimento tecnológico. A habilidade de eleger moléculas líderes usando HCS tem ocorrido no NIH, Molecular Library Screening Center (<http://mli.nih.gov/mlscn/description.php>), The National Cancer Institute (NCI), iniciativa na quimiogenética (www.Broad.Harvard.edu/chembio/icg/), e o Genomics Institute, da Fundação Novartis (www.gnf.org/collaborations/academic-screening-program)^[25].

O HCS pode ser associado a diferentes tecnologias visando um resultado mais robusto e fidedigno para os *screening* de *Drug Discovery*. A partir disso, é possível citar a cultura 3D, que permite mimetizar o microambiente tumoral, possibilitando, então, uma melhor predição dos resultados *in vivo*^[26]. Em estudo realizado por Wenzel e colaboradores^[27], foi realizada a associação entre HCS e cultura de células 3D (esferoide) para a descoberta de novas moléculas que atuassem especificamente em células tumorais dormentes (parte mais interna do esferoide) em um modelo de câncer de mama, as quais poderiam ser responsáveis pelo relapso do câncer em tratamentos que têm como base quimioterápicos citostáticos. No *screening*, foram testadas 1120 moléculas, das quais 9 moléculas (*hits*) foram capazes de induzir morte somente nas células que se encontravam em estado de dormência. Dessa forma, os 9 *hits* foram testados nas mesmas células, mas em uma cultura 2D, na qual nenhuma foi capaz de induzir morte celular. Este estudo reforça a importância do modelo de cultura 3D e do sistema HCS como ferramentas para um melhor programa de *Drug Discovery*. Outra técnica associada ao HCS é o CRISPR/Cas9, que permite a edição de genes, promovendo modificações gênicas em linhagens celulares para estudar uma determinada via relevante para a doença em estudo^[21]. As aplicações das análises do HCS podem abranger caracterizações em nível de membrana, citoplasma ou núcleo, como destacado na **FIGURA 2**.

Neste paralelo dos modelos *Throughput*, o HCS apresenta maiores vantagens, pois, como já discutido, permite uma maior obtenção de dados, como também o desenvolvimento de ensaios alvos dirigidos através da associação com diferentes tecnologias. Para ilustrar essa transição do HTS para o HCS, um estudo realizado em 2013 mostrou que, em 2012, 61% dos laboratórios que utilizavam somente o sistema HTS adotaram o uso de HCS em suas operações. Além disso, naquele período do estudo, 81% dos laboratórios que estavam sendo avaliados usavam o HCS como um método secundário de *screens* ou validação de *hits*, enquanto 41% destes laboratórios já usavam o HCS como um método primário de *screens*^[28].

Além disso, considerando o expressivo número de alvos biológicos (proteínas alvo) promissores para o planejamento de fármacos, as técnicas de triagem biológica automatizada em alta escala (HTS e HCS) e de triagem virtual (VS - *virtual screening*) têm ocupado papel de destaque entre as estratégias modernas exploradas na identificação de novas substâncias bioativas.

FIGURA 2: Aplicação do HCS na bioprospecção de novas moléculas.



Fonte: elaborado pelos autores.

Triagem virtual

A triagem virtual (TV) é um dos métodos mais utilizados no processo de descobrimento de drogas e tem como base a busca em bancos de dados de estruturas químicas, além de avaliar a possível interação entre droga e o receptor^[29]. A TV vem sendo bastante utilizada na ciência para avaliar a bioprospecção de moléculas com atividade antitumoral e antimicrobiana, por exemplo. Essa utilidade é aplicada na Descoberta de Drogas Auxiliadas por Computador (DDAC), que consegue exercer a Triagem virtual (TV)^[30]. A TV é um processo de análise de interação computadorizada que avalia a interação da molécula com o seu alvo e que surgiu em 1980, quando o programa ALDDIN foi utilizado com banco de dados do laboratório ABBOTT^[29]. Desde 1994, vem se utilizando dessas ferramentas^[29] e obtendo sucesso na bioprospecção de novas moléculas em diferentes doenças, além de facilitar o processo de busca por novas patentes^[30].

O processo de desenhar uma nova molécula demanda muito tempo e requer um alto investimento monetário, podendo custar bilhões de dólares em um intervalo de 10 anos para os testes pré-clínicos e clínicos. Com o surgimento do DDAC, as simulações virtuais estão sendo utilizadas para reduzir o tempo e o dinheiro gastos no processo de desenvolvimento de novas moléculas. O uso de bancos de dados facilita a triagem de demasiadas moléculas que poderão ser sintetizadas e analisadas com o alvo farmacológico que foi selecionado^[31].

A técnica de TV é classificada em duas categorias: Baseada na estrutura (BETV) ou Baseada no ligante (BLTV). O BETV é utilizado para procurar alvos moleculares para as substâncias utilizadas em um método

3D, no qual o alvo proteico é caracterizado experimentalmente e utilizado em buscas de impressão digital e mineração de estruturas. Em casos em que o alvo molecular é escolhido, é utilizada a predição BLTV e a busca é feita por ancoragem molecular^[31]. Na BLTV, usa-se uma aproximação por similaridades e estruturas, podendo assim analisar as relações quantitativas de estrutura-atividade e no grupo farmacofórico^[29].

A ancoragem molecular é uma das técnicas de TV que surgiram na metade de 1970 com a finalidade de entender como os compostos químicos interagem com os seus alvos, visando descobrir e desenvolver novas moléculas. A sua aplicabilidade ocorre na identificação de estruturas necessárias para a eficiência da interação ligante-receptor e no desenvolvimento de novos compostos. A ancoragem molecular pode ser utilizada de forma bem diversificada, como na predição de alvos para compostos, predição de reações adversas, triagem virtual, polifarmacologia, grupos farmacofóricos e no estudo de resposta à droga^[32]. Além disso, por meio desta técnica é possível identificar a melhor conformação explorando a gama de conformações espaciais pela variação de ligação entre os dois compostos e a interação energética, que é resultado das ligações químicas entre eles. Logo, o modelo selecionado será aquele que contém a menor energia de ligação possível entre ligante-receptor^[33].

Em um estudo desenvolvido por Miles e Ross^[34], os pesquisadores realizaram uma revisão bibliográfica analisando artigos de 2015 a 2020 que utilizaram a triagem virtual para descobrir novos inibidores de colinesterase na aplicação em pessoas com Alzheimer. Dessa forma, foram analisados estudos que estudaram as atividades *in silico* por atividades de BETV e BLTV das drogas referenciadas. Foram incluídas e analisadas 20 substâncias para a inibição da enzima acetilcolinesterase, o que resultou em 2 amostras com alta afinidade em seu suposto alvo molecular e na melhoria da qualidade de pessoas com essa doença. Portanto, os estudos de Triagens Virtuais são formas que permitem a redução de custo e de tempo no processo de desenvolvimento de novos compostos, visando a produção de fármacos em escala industrial.

Programas de bioprospecção estabelecidos no mundo

Os produtos naturais, com suas notáveis diversidades químicas, são considerados ricos reservatórios de compostos bioativos com potenciais terapêuticos, seja de origem microbiana, vegetal ou de outros organismos vivos. Eles têm sido investigados pelos seus potenciais farmacológicos por mais de meio século, e o desenvolvimento de drogas a partir de bioativos naturais continua sendo um desafio, parte devido à dificuldade de isolamento em grande escala, manufatura e desenvolvimento farmacêutico^[35].

Em consequência aos desafios a serem superados, as principais empresas farmacêuticas em todo o mundo têm reduzido, ou até mesmo eliminado, seus objetivos para essa área e passaram a se basear em grandes bibliotecas de compostos químicos ou biologicamente sintetizados^[36]. Por essa razão, os esforços científicos para os avanços tecnológicos devem ser incentivados a trazer os produtos naturais para uso clínico e fomentados a descobrir novas oportunidades terapêuticas, sejam novos compostos, sejam propostas de novas estruturas moleculares para serem utilizadas como modelos para novos fármacos^[35,36].

Considerando esses aspectos, é importante revisar as etapas de pesquisa e compreender como os produtos da natureza podem ser explorados para obter a confirmação de sua utilidade medicinal, com o objetivo de gerar de um bioproduto^[35].

Em geral, a cadeia de desenvolvimento de bioproduto, que envolve as etapas de pesquisa da biodiversidade, ou seja, a bioprospecção de um composto bioativo, percorre um longo e dispendioso caminho que envolve a

descoberta do princípio ativo (composto líder), a otimização do composto líder, fase de testes pré-clínicos seguida de testes clínicos (fases I, II e III), e por fim, o registro e o lançamento do produto^[37].

O advento das ferramentas de análise espectroscópica, em conjunto com métodos estatísticos e/ou computacionais, favoreceu o isolamento e a identificação de compostos bioativos oriundos dos organismos vivos (microbiano, vegetal ou animal), e facilitou o processo de descobertas de séries de substâncias ativas que podem ser otimizadas, derivando os compostos líderes. Além disso, o surgimento das ferramentas de biologia molecular entre o fim dos anos 1980 e início dos anos 1990 permitiu elucidar o processo de regulação genética e o maquinário enzimático envolvidos na biossíntese e na expressão do metabolismo secundário^[36].

Outros pontos importantes a serem destacados na evolução dos processos de descobertas de novas drogas são os avanços recentes das tecnologias e os protocolos de análises baseados em design auxiliados por computadores, bibliotecas *in silico* e software de *docking* molecular, combinados com o aumento de plataformas baseadas em células, que evoluíram em resposta à necessidade de melhorar a eficiência de triagem com maior previsibilidade e aplicabilidade clínica^[38]. As técnicas que favorecem esses dados são classificadas como sistemas eficientes de triagem de alto rendimento (*High-Throughput Screening* - HTS), que podem favorecer a investigação de centenas de milhares de compostos por dia e facilitar o progresso para as etapas seguintes de obtenção de um bioproduto^[38].

Quanto à fase pré-clínica, que consiste na obtenção de dados extensos sobre eficácia preliminar, toxicidade, farmacocinética e segurança em animais, é uma etapa que ajuda a decidir se uma molécula deve ser levada aos ensaios clínicos, nos quais são avaliadas: a segurança, a tolerabilidade, a biodisponibilidade e a não toxicidade em humanos ao longo de três fases e, geralmente, ao final da fase clínica III, é solicitado o licenciamento junto ao órgão competente^[39].

Estruturas Internacionais de Modelos de Bioprospecção: Estudos de Casos

Apesar de não existir uma referência internacional para o ranqueamento dos países com maior biodiversidade, sites que reúnem informações oriundas de organizações não governamentais (ONGs) apontam o Brasil como o país com maior biodiversidade do mundo. De acordo com o site rainforests.mongabay.com, os países com maiores diversidades biológicas são o Brasil, em primeiro lugar; seguido de África do Sul, Madagascar, Equador, México, Estados Unidos, China, Filipinas, e a Austrália, em nono lugar. Quanto aos continentes, América é o continente com mais países ricos em biodiversidade: Brasil, Colômbia, Equador, México, Peru, Venezuela e Estados Unidos; seguido por Ásia, África, e finalmente, a Oceania, representado pela Austrália e Papua Nova Guiné. É importante destacar que os países desses continentes abrigam mais de 70% da biodiversidade do planeta, com território de apenas 10% da superfície da terra^[40].

Considerando a importância do desenvolvimento tecnológico, sendo possível apenas por intermédio de recursos, muitas vezes esgotáveis, surge a necessidade da busca por formas sustentáveis de desenvolvimento e de aprimoramento da biodiversidade ainda existente. Dessa forma, na bioprospecção a natureza é vista como fonte para geração de novos produtos ou processos com alto valor econômico e social.

O conhecimento da biodiversidade é reconhecido como uma área de grande importância para a pesquisa científica nos países desenvolvidos e em desenvolvimento, principalmente no Brasil, que abriga cerca de 20% das espécies mundiais. Portanto, é imprescindível o estabelecimento de modelos de bioprospecção

coordenados a fim de promover o desenvolvimento científico e tecnológico, a formação de profissionais qualificados e a transferência de conhecimento para instituições públicas para o aprimoramento de políticas de conservação, manejo e uso sustentável da biodiversidade de forma socialmente justa^[41].

Antes de descrever programas de bioprospecção no Brasil, é útil descrever experiências de outros países nos quais muitas das estruturas bioprospectivas foram desenvolvidas em resposta às suas biodiversidades.

1) Austrália

A Austrália é um dos 17 países megadiversos do mundo e, a proporção significativa de sua grande biodiversidade está no ecossistema marinho, onde muitas espécies ainda estão por serem identificadas. A Austrália também é rica em recursos genéticos para potencial uso em pesquisa e desenvolvimento de novos produtos. O país enxerga grandes oportunidades e busca a liderança em bioprospecção em colaboração com povos indígenas, empresas de biotecnologia, cientistas, pesquisadores e gerentes da biodiversidade^[42].

As principais instituições na Austrália que estão conduzindo as ações envolvendo bioprospecção são: o Departamento de Meio Ambiente, o Departamento de Agricultura e a Autoridade de Propriedade Intelectual no nível Federal (Commonwealth). Em nível estadual, os envolvidos são do governo de Queensland e do setor acadêmico e de pesquisa da Griffith University (Eskitis Institute), do Australian Institute of Marine Science (AIMS), o Tropical Herbarium of Cairns, o James Cook University e a Universidade das Nações Unidas^[42].

A Austrália tem uma legislação que visa regular a biodescoberta (bioprospecção) e atividades de atores externos dentro de suas fronteiras, o que significa que a sua legislação é de um país provedor, e ainda não há medidas para regular as atividades australianas no exterior. O sistema federal baseia-se no pressuposto de que a pesquisa e o desenvolvimento de recursos genéticos são um serviço ecossistêmico significativo para produzir resultados econômicos que valorizem a biodiversidade e contribuam para sua conservação. A base para regular o acesso em nível federal ao sistema biológico da Austrália é a Lei de 1999 de Proteção do Meio Ambiente e Conservação da Biodiversidade.

Quando o acesso a recursos biológicos é aplicado em terras de povos indígenas, exige-se um consentimento prévio informado do proprietário da terra indígena ou do titular nativo da terra de acordo com suas leis e costumes tradicionais, como ocorre nos casos para acesso a recursos biológicos nos parques nacionais Kakadu e Uluru-Kata Tjuta. Ambos os parques estão localizados em terras indígenas no *Northern Territory* (NT) e são co-administrados pelos proprietários indígenas e pela Autoridade de Parques Nacionais da Comunidade Britânica. No país, existe o Banco de Dados de Informações de Recursos Genéticos (GRID), além de legislações específicas para cada estado.

No âmbito estadual, há a deliberação exclusiva sobre definições de acesso e a exploração da biodiversidade, respeitando sempre a lei federal. Queensland em 2004, por exemplo, promulgou o *Biodiscovery Act*, como uma resposta à extensa parceria para descoberta de produtos naturais estabelecida no final dos anos 90 entre a *Griffith University* sediada em *Queensland* e a empresa farmacêutica AstraZeneca. Já no NT, o acesso aos recursos biológicos e à repartição de benefícios é regulado pela Lei de Recursos Biológicos de 2006. A diferença é que tanto a Lei do NT quanto a Lei de *Queensland* não classificam as licenças como: 1 - uso não comercial e 2 - comercial / potencialmente comercial. Outra diferença notável da Lei de Queensland é que a Lei do NT cobre terras controladas por aborígenes

classificadas em três tipos de terras: terras indígenas, área de convivência da comunidade aborígene e; terra sujeita a título nativo^[42].

A demanda por biodescoberta persiste, pois, colaborações de pesquisa entre indústria e instituições acadêmicas, como o *Eskitis Institute da Griffith University* e o *Australian Institute of Marine Science (AIMS)*, se mantêm. Contudo, apesar de as leis serem bastante avançadas, ainda existem impasses quanto aos acordos de repartição de benefícios obrigatórios para biodescoberta com intenção comercial.

2) África do Sul

A estratégia de desenvolvimento nacional da África do Sul, em utilizar sua biodiversidade única para o desenvolvimento de produtos naturais e biofarmacêuticos, foi antecipada pelo governo para ajudar a superar os principais desafios do país, tais como: o desemprego, a pobreza e a desigualdade.

A política de bioeconomia da África do Sul descreve a utilização econômica de sua biodiversidade como uma estratégia de desenvolvimento nacional, a Economia da Biodiversidade^[43]. Como um dos poucos megadiversos países com grupos tradicionais de conhecimento etnobotânico relacionado à medicina de plantas, a biodiversidade da África do Sul é uma promessa econômica considerável^[43,44]. A economia da biodiversidade da África do Sul tem dois componentes principais: a Economia *Wildlife*, a qual relaciona-se com a criação e a venda de animais; e a Economia de Bioprospecção, que diz respeito à exploração econômica de recursos biológicos e não animais, incluindo recursos genéticos no cultivo, coleta, processamento, fabricação e na exportação de produtos naturais em setores de mercado e varejo, como cremes, pomadas e suplementos nutricionais, por exemplo, o que demonstra que a Economia de Bioprospecção da África do Sul pode ser considerada parte dos setores relacionados à saúde e ao comércio do país.

A regulamentação setorial foi fortalecida por meio da Gestão Ambiental Nacional e Lei de Biodiversidade (NEMBA) e por meio dos regulamentos de Acesso à Bioprospecção e Repartição de Benefícios (BABS), que norteiam os projetos de bioprospecção e de biocomércio com uma fase de descoberta e uma fase de comercialização. Empresas ativas na fase de descoberta de identificação de espécies de plantas adequadas e de conhecimento relacionado têm que notificar o DEA (Departamento de Assuntos Ambientais) utilizando o formulário oficial. Após a identificação de um recurso biológico ou genético descoberto nesta etapa, um consentimento prévio informado (PIC) de todos os proprietários de terras e de recursos biológicos e detentores de conhecimentos tradicionais relacionados (TK), devem ser obtidos pelas empresas (ou qualquer ator). Os acordos de repartição de benefícios (BSAs) devem ser assinados com as comunidades relevantes antes de quaisquer atividades relacionadas à fase de comercialização de um projeto. Esses documentos devem ser anexados a pedido de licença de bioprospecção e enviados ao Ministro da DEA, acompanhados de uma taxa não reembolsável. As receitas potenciais geradas e compartilhadas entre empresas ou provedores de recursos biológicos e titulares de TK devem ser pagas em uma Bioprospecção Fundo fiduciária administrada pela DEA nacional^[43].

O governo estabeleceu o Conselho de Pesquisa Científica e Industrial (CSIR) para ajudar indivíduos, incluindo grupos indígenas, a obter patentes, contribuindo, assim, para o desenvolvimento do ingrediente ativo do *Hoodia cactus*. No entanto, o CSIR vendeu as informações da patente para um farmacêutico britânico (empresa), deixando as pessoas envolvidas com o projeto incapazes de receberem lucros de benefícios compartilhados^[45].

Todo esse processo condicionado à autorização dos proprietários das terras, que muitas vezes já não moram na mesma área, expõe a limitada capacidade organizacional-operacional, o que prejudica as práticas do empreendedorismo em relação à operação de bionegócios, tornando o processo burocrático e com vieses para ações judiciais de posse e reivindicação de benefícios.

3) Estados Unidos da América (EUA)

A bioprospecção tem muitas definições e a Convenção sobre Diversidade Biológica (CBD), em 1993 a definiu como “a exploração da biodiversidade para fins comerciais, recursos genéticos e bioquímicos”. A participação dos EUA relacionou-se principalmente aos Aspectos Relacionados ao Comércio dos Direitos de Propriedade Intelectual (TRIPS) e não abordou as preocupações com a diversidade biológica para não interferir nos direitos dos proprietários de terras, especificamente fazendeiros. Considerando que não há necessidade de autorização prévia dos proprietários, as empresas podem envolver-se em biopirataria e patentear qualquer invenção. Assim, os bioprospectores individuais podem agir independentemente do contrato, sem a permissão do proprietário e sem explicar totalmente o que o bioprospector fará na terra. Isso permite legalmente que as empresas extraiam materiais da natureza sem permissão de áreas, exceto em parques nacionais, como em Utah e em certas partes de Havaí^[45].

Os EUA tomaram algumas medidas em relação à legislação de bioprospecção. A ação mais antiga nos EUA foi o caso do Instituto Edmonds v. Babbit, no qual o Parque Nacional de Yellowstone inicialmente tentou implementar o primeiro acordo de bioprospecção no local, em 1999. Havaí e Utah também promulgaram ou tentaram promulgar legislação para ajudar a regular a bioprospecção em áreas públicas, entretanto foram experiências com pouco sucesso^[45].

Os EUA teriam muito a ganhar com a legislação de bioprospecção, pois, é uma das maiores nações do mundo, com climas diversos, variando das condições árticas no Alasca a temperaturas tropicais no Havaí e na Flórida, além de possuir altos investimentos comerciais, porém a falta de regulamentação só prejudica a biodiversidade e as pessoas em longo prazo.

4) Brasil

O Brasil é o país do mundo que detém maior biodiversidade, distribuída nos biomas da Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Caatinga, Pampa e Pantanal, e representa um terço da América Latina em território nacional. Contudo, apesar dessa diversidade, nenhum programa expressivo ou contrato em bioprospecção comparável com os anteriores foi realizado.

As primeiras iniciativas brasileiras para regulamentar a bioprospecção ocorreram em 1995, com o PL n. 306/1995, substituído em 1998 pelo PL no 4.842/1998, quando outros dois PLs (n. 4.579/1998 e 4.751/1998) foram apresentados sobre o assunto^[46].

Na época, um contrato entre a Organização Social Bioamazônia e a empresa farmacêutica Novartis foi duramente criticado pela imprensa, devido à inexistência de legislação que protegesse adequadamente os recursos genéticos existentes em território nacional. Essa crítica acelerou a edição da Medida Provisória (MP) n° 2.052, de 29 de junho de 2000, a qual determinou que o acesso ao conhecimento tradicional associado e ao patrimônio genético existente no país, bem como sua remessa para o exterior, somente fossem efetivados mediante autorização da União, por meio do Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN)^[4.46].

Na prática, muitos interessados permaneceram com processos de autorizações pendentes no CGEN e passaram a entrar com pedido de patente no Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI), sem autorização do CGEN, por medo de perderem a prioridade sobre a invenção. Para solucionar o problema, o Instituto publicou as Resoluções nº 207 e 208/2009, desobrigando o solicitante de informar, no ato do depósito, a data e o número da autorização fornecido pelo CGEN^[4]. Além disso, pesquisadores, indignados com a demora, criaram, em 2007, o SisBio (Sistema de Autorização e de Informação em Biodiversidade), elaborado por representantes da comunidade científica, IBAMA e pelo Conselho Nacional de Meio Ambiente (Conama), com o objetivo de agilizar a tramitação dos projetos. No sistema, a emissão de licença para coleta de material biológico possui o prazo máximo de 45 dias^[47].

A pesquisa em bioprospecção, relacionada à descoberta de novas moléculas, tem avançado muito em razão das atividades de pesquisa realizadas por diversos grupos de “Química de Produtos Naturais” ligados à pós-graduação e à iniciação científica nos diversos estados. Um exemplo de bioprospecção em forma de colaboração ICT & Empresa na Amazônia refere-se à colaboração iniciada em 1999 entre a Universidade Federal do Pará e a empresa Extracta Moléculas Naturais SA (Bio Rio - Rio de Janeiro/RJ). Na Central de Extração da UFPA, foi montada uma estrutura similar à da Extracta no Rio de Janeiro e, partir de coleta randômica, foram feitos 5.000 extratos que foram submetidos a bioensaios contra *Staphylococcus aureus*, *Trypanosoma cruzi* e diabetes tipo II, por exemplo, mostrando vários resultados positivos^[37].

Outro programa de biodescoberta bem estabelecido é o BIOprospecTA, integrante do programa BIOTA-FAPESP. O BIOprospecTA permitiu certa organização dos grupos de pesquisa em química de produtos naturais no estado de São Paulo, e estabeleceu-se com inúmeros grupos de pesquisa, além de parcerias com a iniciativa privada para o desenvolvimento de bioprodutos^[36].

Uma iniciativa importante foi a criação da primeira base de dados de produtos naturais do Brasil em Núcleos de Bioensaios, o Banco de Dados de Ecofisiologia e Biossíntese de Produtos Naturais (<http://nubbe.iq.unesp.br/portal/nubbedb.html>), o qual possui informações detalhadas de muitos compostos já isolados. Trata-se de um sistema atualizado com informações sobre dados biológicos, químicos e farmacológicos da biodiversidade brasileira, construído com a finalidade de contribuir com políticas públicas e atrair interesse de parceiros industriais^[41].

A empresa farmacêutica Aché, com objetivo de descobrir e de desenvolver medicamentos inovadores a partir de fontes naturais, em especial da biodiversidade brasileira, criou a plataforma Bioprospéra[®], que se baseia em duas abordagens para descobrir moléculas e extratos naturais ativos: Etnofarmacologia e Bioprospecção. Um exemplo é o medicamento anti-inflamatório, Acheflan[®], que contém o óleo essencial de *Cordia verbenacea*, conhecida como erva baleeira, nativa da Mata Atlântica. Trata-se de um medicamento 100% brasileiro, e o primeiro medicamento à base de material extraído de plantas, obtido a partir da biodiversidade brasileira^[48,49]. Além dessa iniciativa, é possível encontrar, em estudos clínicos em humanos na Europa, uma terapia experimental oral, que contém um extrato vegetal para o tratamento de vitiligo, com previsão de lançamento para 2023^[49].

Outra iniciativa de bioprospecção que teve como base principal a cidade de Manaus, no Amazonas, vincula a Superintendência da Zona Franca de Manaus (SUFRAMA) com a instalação do Centro de Biotecnologia da Amazônia. Com uma estrutura física de 12 mil metros quadrados de área construída, a iniciativa possui 25 laboratórios, entre eles de biologia molecular e microbiologia, ressonância magnética nuclear, segurança

farmacológica e toxicológica, cultura de tecidos e produtos naturais. Além dos laboratórios, dispõe de uma Planta Piloto de Processos Industriais, uma Incubadora de Empresas de Base Tecnológica, um Biotério e uma Central de Produção de Extratos. O centro foi fundado dentro do Programa Brasileiro de Ecologia Molecular para Uso Sustentável da Amazônia (Probem), em 2002, vinculado a três ministérios: Meio Ambiente, Ciência e Tecnologia, e Indústria e Comércio. O CBA foi criado para estimular a pesquisa e o desenvolvimento de novas tecnologias a partir do aproveitamento sustentável da biodiversidade amazônica. Atualmente, há 23 projetos em execução, a um custo autorizado de cerca de R\$ 1,4 bilhão. No centro, pesquisas sobre as vantagens do uso de fibras naturais, o desenvolvimento de novos produtos com matéria-prima da Amazônia e o uso de micro-organismos para biorremediação e tratamento de resíduos são muito estudados. O centro se destaca como uma das instituições promissoras para a bioeconomia da região norte do país^[50].

Atualmente, o conceito de rede de pesquisa está amplamente difundido e constitui uma plataforma relevante para a elaboração de políticas públicas, programas e demais ações de fomento à ciência e à tecnologia. No entanto, para a sua implantação, torna-se necessária a definição de áreas de competência, identificação e mapeamento de grupos de excelência, viabilizando o estabelecimento de interações multidisciplinares entre as instituições participantes e a cooperação de ações.

Cenário tecnológico dos produtos naturais para novas moléculas bioativas

Nas últimas décadas foi observado o crescimento do número de patentes referente às atividades em bioprospecção, no qual foi dando valor a diversidade biológica como insumo para as pesquisas nos diversos setores, principalmente, o farmacêutico. Diante do exposto, o panorama global de pesquisa, desenvolvimento e inovação (PD&I) para as novas moléculas bioativas, provindas da biodiversidade, surge como uma oportunidade de parcerias e cooperações visando a consolidação das pesquisa e desenvolvimento em áreas estratégicas em nível mundial não se restringindo, portanto, aos países megadiversos^[51].

Este tópico tem como objetivo avaliar as patentes que resultaram das pesquisas por meio da bioprospecção, e fornecer uma atualização sobre o panorama mundial das moléculas bioativas resultantes dos produtos naturais. Portanto, na revisão de patentes foram utilizados, no banco de dados do European Patent Office (EPO), os descritores "bioactiv* molecul*" and "natural products" dos quais foram identificadas 15.744 patentes. Quando a busca foi refinada além do título / resumo e sendo adicionadas as palavras-chave no campo reivindicatório o total de documentos foi para 1.042 patentes.

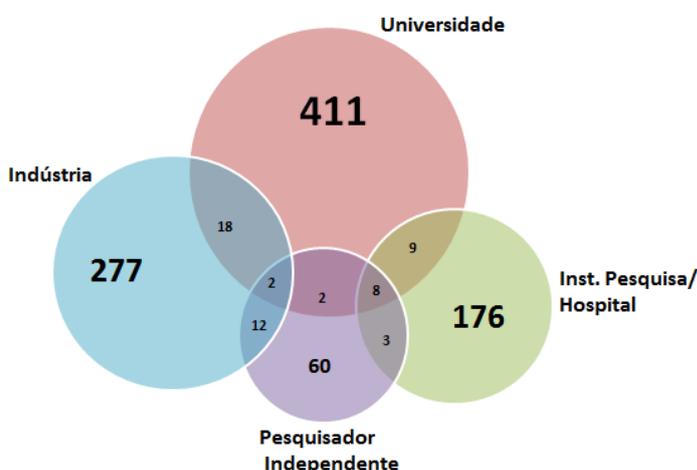
Os Estados Unidos (US) depositaram a maioria das patentes, com 503, em seguida pela China (CN) com 189 patentes e Austrália (AU) com 162 patentes, República da Coreia (61), Canadá (56), França (54) Índia (42), Dinamarca (40), Espanha (35), Alemanha (29), Singapura (15), Brasil (3) (Figura 3). Esses países costumam estar bem representados no cenário inovativo e tecnológico por meio do depósito de patentes conferindo a exclusividade na exploração comercial das pesquisas desenvolvidas. Neste contexto, as patentes são usadas para mostrar a produção de tecnologias e atividades inovadoras capazes de influenciar de forma significativa uma indústria, a economia e a sociedade como um todo. As patentes são avaliadas como um índice tanto de desenvolvimento industrial como de pesquisa dos países, composta por indicadores relevantes que avaliam a capacidade do país em transformar o conhecimento científico em inovações tecnológicas^[52].

FIGURA 3: Número de pedidos de patentes nos principais países.

Fonte: base de dados EPO (2021).

As patentes analisadas mostraram que diferentes entidades de pesquisas científicas, como as indústrias, os institutos de pesquisas, as universidades e os pesquisadores independentes pediram direitos de patentes para seus inventos. Os achados demonstram que as indústrias solicitaram 309 pedidos de patentes. Dentre as indústrias incluem: a Diversa Corp., Martek Bioscience Corp., Genentech Inc., Aventis Pharma. Inc., Basilea Pharmaceutica China Ltd., Bharat Biotech Int. Ltd., Korea Res. Inst. of Bioscience, Samchully Pharm. Co. Ltd., Imperial Cancer Research Tech. Ltd., Wuhan Geruite Tech. Co. Ltd., Bactevo Ltd., Dana Farber Cancer Inst. Inc., Glaxo Group Ltd., Pfizer.

As universidades lideram o ranking em pedidos de patentes (450 patentes), nas quais surgem em cooperação com mais outras universidades, institutos de pesquisas e/ou com indústrias farmacêuticas, como por exemplo: Univ. Barcelona Autônoma (Espanha), Univ. McGill (Canadá) e a Univ. Ohio State (USA); Asociación Inst. Nac. de Biodiversidad (Costa Rica) e a Univ Michigan (USA); Basf Beauty Care Solutions (FR) e a Université D'Avignon (FR); Univ. Singapore e a Davos Life Science Pte Ltd; Univ Taiyuan Technology e a Hebei Green Sci & Tech Co Ltd. Os Institutos de Pesquisa depositaram 178 patentes e os hospitais e centros de saúde em menor número com um total de 18 patentes. Os Pesquisadores independentes obtiveram 87 patentes em parceria com as demais entidades (**FIGURA 4**).

FIGURA 4: Tipos de Titulares de patentes.

Fonte: base de dados EPO (2021).

O alto número de patentes por parte das universidades é esperado para este tipo de desenvolvimento de tecnologia advindo das pesquisas científicas. Esse crescimento pode estar relacionado às atividades de bioprospecção que vêm ganhando destaque nos últimos anos e as universidades apresentam um elevado número de grupos de pesquisas e redes de cooperação em bioprospecção^[51]. Neste contexto, as cooperações em bioprospecção se apresentam como um campo do conhecimento, pesquisa e inovação que avançam por meio da pesquisa básica, desenvolvimento tecnológico e produção de novos produtos^[52,53].

A **TABELA 1** apresenta algumas das invenções patenteadas que aborda o desafio no desenvolvimento de novos bioativos de produtos naturais e da necessidade de rastrear e identificar de acordo com a atividade desejada os produtos providos da biodiversidade. É certo que mais de 60% dos agentes quimioterápicos aprovados e suas fontes, são derivados de compostos naturais, ainda, mais de 25% dos medicamentos usados nas últimas duas décadas são derivados diretamente de plantas, enquanto os outros 25% são produtos naturais alterados quimicamente. De aproximadamente 250.000 plantas superiores, apenas 5-15% já foram investigados para compostos bioativos^[54-56].

As plantas medicinais são conhecidas por serem a fonte mais exclusiva de medicamentos que salvam vidas para uma grande população em todo o mundo. Eles têm sido amplamente utilizados para o tratamento de doenças de forma tradicional por várias gerações. Uma interação entre a medicina tradicional e as ferramentas biotecnológicas modernas deve ser estabelecida para o desenvolvimento de novos medicamentos. As fortes evidências de estudos epidemiológicos e experimentais destacam a importância de compostos derivados de plantas "fitoquímicos" para reduzir o risco de câncer e também inibir o desenvolvimento e disseminação de tumores em animais de experimentação. Cerca de 60% dos medicamentos anticâncer atualmente conhecidos são derivados diretamente de uma fonte natural ou são produtos naturais alterados quimicamente. A vantagem de usar tais compostos para o tratamento do câncer é sua natureza relativamente não tóxica e menos efeitos colaterais^[55,57].

TABELA 1: Patentes que descrevem inovações com Produtos Naturais e as técnicas *High Content Screening* e o *High Throughput Screening*.

| Título | Nº Publicação | País | Titular | Inovação | Técnica Analítica |
|---|---------------|----------------|--|---|-------------------|
| Extracts of saudi arabian herbal plants, anti-cancer method using such extracts, and cytological profiling using automated high-content imaging technique | WO2018055492 | Arabia Saudita | King Abdullah Univ of Science & Technology | Composição farmacêutica para tratamento câncer; Método para testar a eficácia potencial de composições medicinais no tratamento contra câncer. Planta: Anastatica hierochuntica (Kaff Maryam), Juniperus phoenicea (Arar) e CitruUus colocynthis (Hanzal) | HCS |
| Construction and application of anti-hepatic fibrosis drug high-throughput screening cell model | CN104232588A | China | Institute of Medicinal Biotechnology Chinese Academy of Medical Sciences | Sistema de triagem para modelos de células de fármacos antifibrose. | HCS HTS |
| Screening for novel bioactivities | US6555315B1 | Estados Unidos | Diversa Corp | Descoberta de novas moléculas bioativas, tais | HCS HTS |

| | | | | | |
|---|-----------------|----------------|------------------------------|---|------------|
| | | | | como antibióticos, antivirais, agentes antitumorais e proteínas reguladoras e outros métodos. | |
| Novel Compositions And Methods In Cancer | US 88387804 | Estados Unidos | Sagres Discovery Inc. | Métodos de utilização de polinucleotídeos associados ao câncer, seus produtos gênicos e anticorpos específicos para os produtos gênicos, diagnóstico, prevenção e / ou tratamento de cânceres. Kit para detectar células cancerosas | HTS |
| Screening for novel bioactivities | US20070111947 | Estados Unidos | Fibrin Targeted Therapeutics | Fornecer moléculas híbridas que incluem uma fração bioativa terapêutica, específica para o tratamento de tromboembolismo, infecção e câncer. | HTS |
| Highcontent screening for drugs against cancer and age-related diseases | WO2006076470 | Estados Unidos | Senex Biotechnology Inc | Métodos triagem de alto rendimento para compostos que afetam o crescimento celular ou modulam atividade promotora. | HCS HTS |
| Method for screening for bioactive natural products | WO2016092304 A1 | Reino Unido | Bactevo Ltd | Métodos para triagem de células procarióticas mutantes para identificar produtores de agentes citotóxicos e processos para a produção de um agente citotóxico. | HTS |

Fonte: base de dados EPO (2021).

Conclusão

A Bioprospecção tem sido uma atividade que permite reconhecer o valor econômico da biodiversidade e colaborou para que indústrias e centros de pesquisas tivessem proveito desta riqueza, neste caso, a riqueza dos países megadiversos. As atividades de bioprospecção se fundamentam em três eixos ou elementos (pesquisar, transformar em produtos e comercializar) onde estão inseridos: as políticas macro; os levantamentos da diversidade biológica e os sistemas de gestão de informação; a transferência de tecnologia e o desenvolvimento da propriedade industrial; e o desenvolvimento de negócios. Todos esses temas são normalmente desenvolvidos por meio de um plano nacional estratégico.

Tendo como referência estes três elementos, pode-se dizer que a bioprospecção é uma atividade complexa, multidisciplinar, com um elevado grau de incerteza e que envolve grande quantidade de agentes. Portanto, é uma atividade que demanda condições muito especiais para prosperar, como infraestrutura científica, tecnológica e um ambiente institucional que tenha por objetivo a redução das incertezas e dos custos de transação entre os agentes, onde está pode configurar por meio das redes de pesquisa interagindo com o setor produtivo.

Com isso, a bioprospecção pode ser aplicada em diversas atividades e, portanto, pode causar impactos em diversos setores da economia no país. Dentre estes, destacam-se os setores farmacêuticos, cosméticos, alimentícios, bebidas, insumos agrícolas e biotecnológicos.

Referências

1. Soejarto D, Fong H, Tan G, Zhang H, Ma C, Franzblau S *et al.* Ethnobotany/ethnopharmacology and mass bioprospecting: Issues on intellectual property and benefit-sharing. **J ethnopharmacol.** 2005; 100(1-2): 15-22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
2. Artuso A. Bioprospecting, benefit sharing, and biotechnological capacity building. **World Develop.** 2002; 30(8): 1355-68. [[CrossRef](#)].
3. Feinsilver JM. Prospección de la biodiversidad: potencialidades para los países en desarrollo. **Rev la CEPAL.** 60: 1996. [[Link](#)].
4. Saccaro Jr NL. A regulamentação de acesso a recursos genéticos e repartição de benefícios: disputas dentro e fora do Brasil. **Amb Soc.** 2011; 14(1): 229-44. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].
5. Newman DJ, Cragg GM. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **J Nat Prod.** 2020; 83(3): 770-803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
6. McCloud TG. High throughput extraction of plant, marine and fungal specimens for preservation of biologically active molecules. **Molecules.** 2010; 15(7): 4526-63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
7. Thornburg CC, Britt JR, Evans JR, Akee RK, Whitt JA, Trinh SK *et al.* NCI program for natural product discovery: a publicly-accessible library of natural product fractions for high-throughput screening. **ACS Chem Biol.** 2018; 13(9): 2484-97. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
8. Zanella F, Lorens JB, Link W. High content screening: seeing is believing. **Trends Biotechnol.** 2010; 28(5): 237-45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
9. Gallego-Jara J, Lozano-Terol G, Sola-Martínez RA, Cánovas-Díaz M, de Diego Puente T. A compressive review about taxol[®]: History and future challenges. **Molecules.** 2020; 25(24): 5986. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
10. Demain AL, Vaishnav P. Natural products for cancer chemotherapy. **Microb Biotechnol.** 2011; 4(6): 687-99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
11. Starkuviene V, Pepperkok R. The potential of high-content high-throughput microscopy in drug discovery. **British J Pharmacol.** 2007; 152(1): 62-71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
12. Zock JM. Applications of high content screening in life science research. **Comb Chem High Throughput Screen.** 2009; 12(9): 870-6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
13. Lucas DM, Still PC, Perez LB, Grever MR, Kinghorn AD. Potential of plant-derived natural products in the treatment of leukemia and lymphoma. **Curr Drug Targets.** 2010; 11(7): 812-22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
14. Newman D. Screening and identification of novel biologically active natural compounds. **F1000Research.** 2017; 6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
15. Voigt W. Sulforhodamine B assay and chemosensitivity. In: Blumenthal RD (eds) **Chemosensitivity: Methods in Molecular Medicine™**, Humana Press. 2005; 110: 39-48. ISBN: 978-1-58829-345-9. [[CrossRef](#)] [[Link](#)].

16. Paull K, Shoemaker R, Hodes L, Monks A, Scudiero D, Rubinstein L *et al.* Display and analysis of patterns of differential activity of drugs against human tumor cell lines: development of mean graph and COMPARE algorithm. *JNCI: J Nat Cancer Inst.* 1989; 81(14): 1088-92. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
17. Otto T, Sicinski P. Cell cycle proteins as promising targets in cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2017; 17(2): 93-115. [[Link](#)].
18. Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, *et al.* Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.* 1988; 48(3): 589-601. [[Link](#)].
19. Shou WZ. Current status and future directions of high-throughput ADME screening in drug discovery. *J Pharmac Analysis.* 2020; 10(3): 201-8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
20. Aseervatham J. Cytoskeletal remodeling in cancer. *Biology.* 2020; 9(11): 385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
21. Li S, Xia M. Review of high-content screening applications in toxicology. *Arch Toxicol.* 2019; 93(12): 3387-96. [[Link](#)].
22. Singh S, Carpenter AE, Genovesio A. Increasing the content of high-content screening: an overview. *J Biomol Screening.* 2014; 19(5): 640-50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
23. Radio NM, Mundy WR. Developmental neurotoxicity testing *in vitro*: models for assessing chemical effects on neurite outgrowth. *Neurotoxicol.* 2008; 29(3): 361-76. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
24. Ma Z, Cao X, Guo X, Wang M, Ren X, Dong R *et al.* Establishment and validation of an *in vitro* screening method for traditional Chinese medicine-induced nephrotoxicity. *Evidence-Based Compl Alter Med.* 2018; 2018. [[CrossRef](#)].
25. Carpenter AE. Image-based chemical screening. *Nat Chem Biol.* 2007; 3(8): 461-5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
26. Justice BA, Badr NA, Felder RA. 3D cell culture opens new dimensions in cell-based assays. *Drug Discov Today.* 2009; 14(1-2): 102-7. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
27. Wenzel C, Riefke B, Gründemann S, Krebs A, Christian S, Prinz F *et al.* 3D high-content screening for the identification of compounds that target cells in dormant tumor spheroid regions. *Experim Cell Res.* 2014; 323(1): 131-43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
28. William Downey JH. Adoption of high content screening at High Throughput Screening Laboratories â€”“Drug Discovery World (DDW)”. *Drug Discov World Spr.* 2013. [[Link](#)].
29. Xu Y, Cai C, Wang S, Lai L, Pei J. Efficient molecular encoders for virtual screening. *Drug Discov Today: Technol.* 2020. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
30. Kumar V, Krishna S, Siddiqi MI. Virtual screening strategies: Recent advances in the identification and design of anti-cancer agents. *Methods.* 2015; 71: 64-70. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
31. Banegas-Luna A-J, Cerón-Carrasco JP, Pérez-Sánchez H. A review of ligand-based virtual screening web tools and screening algorithms in large molecular databases in the age of big data. *Fut Med Chem.* 2018; 10(22): 2641-58. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
32. Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *Inter J Mol Sci.* 2019; 20(18): 4331. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
33. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules.* 2015; 20(7): 13384-421. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].

34. Miles JA, Ross BP. Recent Advances in Virtual Screening for Cholinesterase Inhibitors. **ACS Chem Neurosci**. 2020; 12(1): 30-41. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
35. Huang M, Lu J-J, Ding J. Natural products in cancer therapy: Past, present and future. **Nat Prod Bioprospec**. 2021: 1-9. [[Link](#)].
36. Berlinck RG, Borges WdS, Scotti MT, Vieira PC. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. **Quím Nova**. 2017; 40: 706-10. [[CrossRef](#)].
37. Astolfi Filho S, Silva CGNd, Bigi MdFMA. Bioprospecção e biotecnologia. **Parc Estrat**. 2015; 19(38): 45-80. [[Link](#)].
38. Aldewachi H, Al-Zidan RN, Conner MT, Salman MM. High-throughput screening platforms in the discovery of novel drugs for neurodegenerative diseases. **Bioengineering**. 2021; 8(2): 30. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
39. Choudhari AS, Mandave PC, Deshpande M, Ranjekar P, Prakash O. Phytochemicals in cancer treatment: From preclinical studies to clinical practice. **Front Pharmacol**. 2020; 10: 1614. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
40. Mesquita JL. **Biodiversidade, saiba quais são os países campeões 2019**. Acesso em: 8/05/2021. Available from: [[Link](#)].
41. Garraffoni ARS, Amaral ACZ, Marques AC, Camargo AFM, Joly CA *et al.* **Brazilian Biodiversity Research: A Promising Future**. Biota-Fapesp Program. São Paulo Research Foundation (FAPESP). 2017. [[Link](#)].
42. Prip C, Rosendal GK, Andresen S, Walløe M. The Australian ABS Framework: A Model Case for Bioprospecting? **Environment**. 2014; 15(8A): 42. [[Link](#)].
43. Förster JJ, Downsborough L, Biber-Freudenberger L, Mensuro GK, Börner J. Exploring criteria for transformative policy capacity in the context of South Africa's biodiversity economy. **Policy Sci**. 2021; 54(1): 209-37. [[Link](#)].
44. Abdalla MA, McGaw LJ. Bioprospecting of South African plants as a unique resource for bioactive endophytic microbes. **Fron Pharmacol**. 2018; 9: 456. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
45. Stolfer EJ. Bioprospecting legislation in the united states: what we are doing, what we are not doing, and what should we do next. **Clev State Law Rev**. 2017; 65(1): 101. [[Link](#)].
46. da Rocha MCA, de Araújo LEB. Biodiversidade brasileira: biopirataria e a proteção dos conhecimentos tradicionais. **Rev Direito UFMS**. 2018; 4(1). [[CrossRef](#)].
47. Pereira AM, Silveira JMFJ, Lima DALL (editors). Regulamentação Nacional e Internacional para Acordos de Bioprospecção e Conhecimento Tradicional. **VIII Encontro da Sociedade Brasileira de Economia Ecológica**; 2009; Cuiabá, Mato Grosso. [[CrossRef](#)].
48. de França E, Vasconcellos AG. Patentes de fitoterápicos no Brasil: uma análise do andamento dos pedidos no período de 1995-2017. **Cad Ciên Tecnol**. 2019; 35(3): 329-59. [[CrossRef](#)].
49. Machado VNA. Participação do Aché na Internacionalização da Indústria Farmacêutica. **Facto**. 2019; 13(61): 28-9. [[Link](#)].
50. Rodrigues A. **Centro Biotecnológico da Amazônia será transformado em fundação**. 2019 09 mai. 2021. Available from: [[Link](#)].

51. Marques LG, Santos MR, Raffo J, Pessoa C. Redes de Bioprospecção no Brasil: cooperação para o desenvolvimento tecnológico. **RDE - Rev Desenv Econ.** 2014; 15(28). [[CrossRef](#)].
52. Ryan MP. Patent incentives, technology markets, and public–private bio-medical innovation networks in Brazil. **World Development.** 2010; 38(8): 1082-93. [[CrossRef](#)].
53. Ragavan S. New paradigms for protection of biodiversity. **J Intellect Prop Rights.** 2008; 13(13): 514. [[Link](#)].
54. Buenz EJ, Schnepfle DJ, Bauer BA, Elkin PL, Riddle JM, Motley TJ. Techniques: bioprospecting historical herbal texts by hunting for new leads in old tomes. **Trends Pharmacol Sci.** 2004; 25(9): 494-8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)].
55. Calixto J. Biopirataria: a diversidade biológica na mira da industria farmaceutica A antiga pirataria-o saque de navios mercantes em alto-mar-foi substituida, nos tempos atuais, em que a biodiversidade tornou-se uma grande riqueza, por outro tipo de saque. **Ciên Hoje.** 2000; 36. [[Link](#)].
56. Christie M, Hanley N, Warren J, Murphy K, Wright R, Hyde T. Valuing the diversity of biodiversity. **Ecol Econ.** 2006; 58(2): 304-17. [[CrossRef](#)].
57. Arunachalam V, John J, Kari V. Dendrimers, Conjugates and Methods Thereof. **Centre For Biosep Technol.** 2014. [[Link](#)].

Histórico do artigo | **Submissão:** 11/08/2021 | **Aceite:** 05/10/2021 | **Publicação:** 04/03/2022

Conflito de interesses: O presente artigo não apresenta conflitos de interesse.

Como citar este artigo: Pessoa CÔ, Marques LGA, Vieira Neto JB, Sales SLA et al. O impacto da bioprospecção para o descobrimento de novas moléculas terapêuticas. **Rev Fitos.** Rio de Janeiro. 2022; Supl.(2): 293-314. e-ISSN 2446.4775. Disponível em: <<http://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/1313>>. Acesso em: dd/mm/aaaa.

Licença CC BY 4.0: Você está livre para copiar e redistribuir o material em qualquer meio; adaptar, transformar e construir sobre este material para qualquer finalidade, mesmo comercialmente, desde que respeitado o seguinte termo: dar crédito apropriado e indicar se alterações foram feitas. Você não pode atribuir termos legais ou medidas tecnológicas que restrinjam outros autores de realizar aquilo que esta licença permite.

Revista Fitos

e-ISSN: 2446-4775 e ISSN: 1808-9569

Endereço: Av. Comandante Guarany, 447, Jacarepaguá, CEP 22775-903, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Telefone: 21- 3348.5598

E-mail: revistafitos@far.fiocruz.br.

[Visualizar versão vigente online](#)

Última atualização: 31/03/2021

A Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) é um periódico interdisciplinar de publicação trimestral que tem por objetivo publicar artigos científicos originais sobre Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação em Biodiversidade e Saúde.

1. A Revista Fitos aceita artigos para as seguintes seções

1.1. Perspectiva: Análises de temas conjunturais, de interesse imediato e sobre a importância do tema, em geral a convite dos Editores, com o máximo de 2.200 palavras e até seis (6) referências.

1.2. Debate: Análise de temas relevantes do campo da Inovação, Biodiversidade e Saúde. A publicação é acompanhada por comentários críticos assinados por pesquisadores conceituados, convidados a critério da editoria, seguida de resposta do autor do artigo principal, com o máximo de 6.000 palavras e 5 ilustrações.

1.3. Artigo de pesquisa: Inclui estudos descritivos, de abordagens qualitativas e/ou quantitativas, incluindo os de pesquisa básica com animais de laboratório, estudos controlados e randomizados, caso-controle e transversais, outros. Texto com, no máximo, 6.000 palavras (excluindo tabelas/ figuras e referências) e, no máximo, trinta (30) referências. Artigos que relatam ensaios clínicos (clinical trials) deverão informar adesão ao CONSORT (<http://www.consort-statement.org/>) e ter cadastro em um dos Registros de Ensaios Clínicos listados pela Organização Mundial da Saúde ou no *National Institute of Health* (NIH) (www.clinicaltrials.gov). Em casos de submissão de estudos observacionais, solicita-se adesão aos guias do STROBE (<https://www.strobe-statement.org/index.php?id=strobe-home>) para a reparação do manuscrito.

1.4. Revisão: Avaliações críticas e ordenadas da literatura sobre temas pertinentes ao escopo da Revista Fitos, incluindo os tipos de revisões–narrativas, integrativas, sistemáticas e meta-análises. Os autores destes últimos, devem incluir no corpo do manuscrito o número do registro do protocolo da revisão no PROSPERO (<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>). Para a elaboração do manuscrito os autores devem seguir as normas propostas pelo PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/>). Autores podem também submeter à Equipe Editorial Científica uma proposta de artigo de revisão, com um roteiro. Se aprovado, o autor pode desenvolver o roteiro e submetê-lo para publicação. Artigos de revisão devem limitar-se a 8.000 palavras (excluindo tabelas/ figuras e referências) e, no máximo, quarenta (40) referências atuais.

1.5. Relato de Experiência: Descrição de experiência que contribua de forma relevante para a área de atuação, contextualizado, com objetividade e aporte teórico, incluindo resumo, introdução com marco teórico e objetivo(s), metodologia, descrição da experiência, discussão, agradecimento (quando houver). Texto contendo até 6.000 palavras e, no máximo, vinte (20) referências e, até quatro (4) figuras. As figuras podem ser organizadas sob a forma de prancha. Cada prancha será considerada como uma figura.

1.6. Comunicação Breve: Relato de resultados preliminares de pesquisa, ou ainda, de estudos originais que possam ser apresentados como revisão ou na estrutura de artigo, mas de forma sucinta, com o máximo de 1.700 palavras e até cinco (5) referências.

1.7. Monografia de Planta(s) Medicinal(is): Visam agrupar, padronizar e sistematizar o conhecimento das características e propriedades das plantas medicinais para orientar o registro em órgãos de regulamentação. Texto contendo até 3.500 palavras e, no máximo, vinte (20) referências.

1.8. Resenha: resenha crítica de livro, dissertações, teses e outros, publicado nos últimos dois anos com, no máximo, 1.200 palavras.

1.9. Carta ao Editor: Comentários com conteúdo crítico construtivo acerca de material previamente publicado na Revista Fitos. Deve ser diretamente submetida aos Editores Associados. Texto com até 700 palavras e, no máximo, seis (6) referências bibliográficas. Sempre que possível, uma resposta dos autores será publicada junto a carta. Editoriais e comentários são encomendados a autoridades em áreas específicas. O Conselho Editorial também analisa propostas de comentários submetidas espontaneamente.

2. Processo de Avaliação/Revisão por pares (“peer review”)

2.1. O conteúdo integral publicado na Revista Fitos (Farmanguinhos/Fiocruz) passa pelo processo de revisão por pares (*Peer review*). Inicialmente os manuscritos submetidos são direcionados aos editores científicos, para avaliação inicial quanto ao atendimento das normas requeridas para envio dos originais e o mérito do trabalho, decidindo assim, sobre a aprovação de sua submissão, com ou sem alterações. Na sequência, o artigo é enviado para um processo de avaliação por pares, duplo-cega, selecionados de um cadastro de revisores de instituições nacionais e internacionais. Após receber os pareceres dos avaliadores, os Editores Científicos/Associados decidirão pela aceitação do manuscrito sem modificações, pela devolução aos autores com sugestões de modificações ou pela rejeição. Os Editores Científicos/Associados têm a responsabilidade de reencaminhar o artigo aos autores para esclarecimentos, tantas vezes quanto necessário, e, a qualquer momento, por decisão dos Editores o documento pode ter sua recusa determinada. Cada nova versão é analisada pelos Editores Científicos, que detém o poder da decisão final.

3. Normas para submissão e apresentação do manuscrito

3.1. A Revista Fitos publica artigos científicos inéditos e originais, que não estejam em avaliação simultânea em nenhum outro periódico, cuja identificação fará com que o manuscrito seja desconsiderado para publicação.

3.2. Não há cobrança de taxas para submissão, avaliação e publicação dos artigos.

3.3. São aceitos manuscritos em português, inglês e espanhol.

3.4. Todos os artigos são publicados em formato PDF e HTML.

3.5. O conteúdo integral da Revista Fitos de livre acesso, está disponibilizado no site <http://www.revistafitos.far.fiocruz.br/>, com licença de publicação CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

3.6. Os manuscritos deverão ser acompanhados pelo Termo de Cessão de Direitos Autorais preenchido e assinado individualmente, por todos os autores, e inserido no sistema no momento da sua submissão. [Baixe aqui o Termo](#).

4. Formatação do Manuscrito

4.1. O manuscrito deve ser redigido com fonte Arial tamanho 12, em folha configurada em tamanho A4, com espaço 1,5 e margem de 3 cm de cada um dos lados, incluindo as referências bibliográficas e títulos/legendas de tabelas e ilustrações.

4.2. O arquivo deverá apresentar-se em formato digital, extensão “doc” ou “docx”. Arquivos em Adobe® PDF format (.pdf files) não serão aceitos.

4.3. No cabeçalho, antes do Título deve ser informado a seção: perspectiva, debate, artigo de pesquisa, revisão, relato de experiência, comunicação breve, monografia de planta(s) medicinal(is), resenha, carta ao editor.

4.4. A organização do manuscrito deve seguir a ordem: título, resumo em português, resumo em inglês, texto, agradecimentos, referências bibliográficas, tabelas (cada tabela completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto), figuras (cada figura completa, com título e legendas, inseridas no corpo do texto). Para mais informações, [consultar Seções dos manuscritos](#).

4.5. O Título e os Subtítulos, em negrito, deverá ter a primeira palavra escrita com a primeira letra maiúscula.

4.6. Não serão aceitas notas de rodapé.

4.7. Siglas devem ser escritas por extenso, quando aparecem a primeira vez no texto, incluindo Resumo e Abstract.

5. Fontes de Financiamento

5.1. Os autores devem declarar todas as fontes de financiamento ou suporte, institucional ou privado de auxílio à pesquisa.

6. Conflito de Interesses

6.1. Caso haja conflito de interesse, que envolva o manuscrito, este deverá ser informado no formulário de submissão.

7. Colaboradores e ORCID

7.1. Especificar as contribuições individuais de cada autor na elaboração do artigo. Os critérios de autoria devem basear-se nas deliberações do ICMJE, que estabelece o seguinte: o reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos seguintes aspectos: 1. Concepção e projeto ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual; 3. Aprovação final da versão a ser publicada; 4. Ser responsável por todos os aspectos do trabalho na garantia da exatidão e integridade de qualquer parte da obra. Essas quatro condições devem ser integralmente atendidas. ([Tutorial](#))

Todos os autores deverão informar o número de registro do ORCID no cadastro de autoria do artigo. Não serão aceitos autores sem registro.

7.2. Os autores mantêm o direito autoral da obra, concedendo à Revista Fitos o direito de primeira publicação.

8. Agradecimentos

8.1. Opcionais.

8.2. Devem ser breves e objetivos. Somente devem ser mencionadas as pessoas ou instituições que contribuíram significativamente para o estudo, mas que não tenham preenchido os critérios de autoria.

9. Referências

9.1. As referências devem ser numeradas e ordenadas na sequência das citações no texto. As citações no texto devem ser identificadas por algarismos arábicos, entre chaves e sobrescritos. Seguir a sequência da numeração das citações, também, nas tabelas, caso haja.

9.2. Devem ser formatadas no estilo Vancouver, também conhecido como o estilo *Uniform Requirements*.

9.3. Artigos aceitos para publicação, mas ainda não publicados podem ser citados desde que seja feita a indicação da revista e que o respectivo artigo está na pré-publicação em "Ahead of Print".

9.4. Os títulos dos periódicos devem ser abreviados conforme recomenda o Index Medicus; uma lista com suas respectivas abreviaturas pode ser obtidas através da publicação da NLM "List of Serials Indexed for Online Users", disponível no endereço www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lsiou.html. Para visualizar alguns exemplos do modelo adotado pela Revista Fitos. Para mais informações, [consulte o documento "Exemplos de Referências"](#).

10. Nomenclatura Científica

Para os nomes científicos devem ser seguidas as regras de nomenclatura botânica e zoológica, bem como as abreviaturas e convenções específicas.

10.1. Nomenclatura Botânica

Os nomes científicos de plantas devem ser escritos de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, sem abreviaturas no resumo/abstract e no corpo do texto, para cada espécie citada pela primeira vez, mas quando várias espécies pertencerem ao mesmo gênero basta citar apenas para a primeira (por exemplo, *Mentha piperita* e *M. acuta*). A autoria da espécie (por exemplo, L., Opiz) é necessária apenas na seção de Metodologia, de acordo com o The International Plant Names Index (www.ipni.org) e com a Flora do Brasil 2020 (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>). Cultivares ou variedades devem ser correlacionados ao nome científico (por exemplo, *Ximenia americana* var. *inermis*). Os autores devem informar na Metodologia/Material e Métodos o espécime e número do *voucher* de referência das plantas utilizadas ou outro material examinado.

11. Ética e Integridade em Pesquisa

12.1. Os manuscritos de pesquisas envolvendo animais e/ou seres humanos deverão ser acompanhados do Certificado de Aprovação de um Comitê de Ética em Pesquisa, emitidos pela instituição de origem do(s) autor(es), cujo número do protocolo deverá ser citado no texto.

12.2. As autorizações para acesso ao patrimônio genético e ao conhecimento tradicional associado devem ser apresentadas e citadas no corpo do texto quando pertinente.

Antes de submeter o manuscrito é importante que o(a)s autore(a)s observem/verifiquem:

a) **estilo científico**: deve ser informativo, racional, baseado em dados concretos, onde podem ser aceitos argumentos de ordem subjetiva, desde que explanados sob um ponto de vista científico;

b) **vocabulário técnico**: a comunicação científica deve ser feita com termos comuns, que garantam a objetividade da comunicação. Porém, deve ser observado que cada área científica possui seu vocabulário técnico próprio;

c) **correção gramatical**: a observação da correção do texto deve ser feita com cuidado, evitando-se o uso excessivo de orações subordinadas em único parágrafo, o excesso de parágrafos, lembrando que cada parágrafo encerra uma pequena ideia defendida no texto, logo, encerrada a ideia, muda-se o parágrafo.

d) **testar todos os hiperlinks das referências**; passando o mouse por cima dos hiperlinks verifique se os endereços informados estão corretos ([Tutorial](#));

e) **realizar o checklist** para fazer a verificação final. [Baixe aqui o checklist](#).

Finalizamos, lembrando que a submissão do manuscrito só será aceita se o mesmo atender plenamente à Instrução aos Autores.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz

