



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Ricardo Almiro Parreira

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Novos agentes antimaláricos com estrutura esteróide” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Maria Filomena Cardoso de Oliveira e da Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019

Ricardo Almiro Parreira

Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Novos agentes antimaláricos com estrutura esteróide” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação, da Dra. Maria Filomena Cardoso de Oliveira e da Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Setembro 2019

Eu, Ricardo Almiro Parreira, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014195939, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatório de Estágio e Monografia intitulada “Novos agentes antimaláricos com estrutura esteróide” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer a informação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 5 de setembro de 2019.

Ricardo Almiro Parreira

(Ricardo Almiro Parreira)

Agradecimentos

Com a realização desta monografia aproxima-se o fim desta etapa académica, resta-me agradecer a todos os que fizeram parte da minha formação durante os últimos cinco anos.

À Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva, pela sua orientação, disponibilidade e total apoio durante a elaboração desta monografia.

À Dra. Maria Filomena Cardoso de Oliveira e a toda a equipa da farmácia S. Miguel por toda a sua ajuda, ensinamentos e companheirismo que me permitiu crescer e aprender.

Aos meus pais, ao meu irmão Bruno e aos meus avós pela presença, carinho, apoio constante e tudo o resto que é impossível explicar por palavras.

Ao Diogo, à Vanessa, à Rita e ao André, pela ajuda e presença, nos melhores e nos piores momentos e por toda a sua amizade.

E por último a todos amigos do Fundão e Coimbra que me acompanharam durante esta jornada.

Índice

Parte I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Abreviaturas.....	7
Introdução	8
1. Apresentação da farmácia	9
2. Análise SWOT	10
2.1. Pontos Fortes	10
2.1.1. Equipa técnica da farmácia	10
2.1.2. Localização e horários	11
2.1.3. Organização do estágio	11
2.1.4. Associação do princípio ativo com marca comercial.....	12
2.2. Pontos Fracos	13
2.2.1. Medicamentos homeopáticos	13
2.2.2. Dermocósmetica	13
2.3. Oportunidades.....	14
2.3.1. Sistema Sifarma 2000®	14
2.3.2. Formações.....	15
2.3.3. Grupo de Compras	15
2.3.4. Serviços farmacêuticos	15
2.4. Ameaças.....	16
2.4.1. Medicamentos esgotados e de disponibilidade reduzida	16
2.4.2. Receitas manuais	17
2.4.3. Alteração de PVP, estados comparticipação e da necessidade de receita médica nos medicamentos	17
3. Casos Práticos	18
3.1. Caso I.....	18
3.2. Caso II.....	18
4. Considerações Finais	19
Bibliografia.....	20

Parte II - Novos agentes antimaláricos com estrutura esteróide

Índice de Tabelas	22
Índice de Figuras	23
Índice de Esquemas	24
Abreviaturas.....	25
Resumo	26
Abstract	27
1. Introdução	28
1.1. <i>Plasmodium</i>	28
1.2. Ciclo de vida do <i>Plasmodium sp.</i>	28
1.3. Formação e caracterização da hemozoína	30

1.4. Fármacos utilizados no tratamento da malária	31
1.5. Resistência aos antimaláricos	33
2. Desenvolvimento e identificação de novas moléculas com estrutura esteróide	34
2.1. Introdução aos esteróides	34
2.2. Compostos naturais	35
2.2.1. Alcalóides da <i>Horrhena pubescens</i>	36
2.2.1.1. Atividade no <i>P. falciparum</i> e citotoxicidade	37
2.2.1.2. Relação estrutura-atividade	37
2.2.2. Esteróis da <i>Xestospongia sp.</i>	38
2.2.2.1. Atividade no <i>P. falciparum</i> e citotoxicidade	39
2.2.2.2. Relação estrutura-atividade	39
2.3. Esteróides 17-arilmetilamino	40
2.3.1. Síntese	40
2.3.2. Atividade no <i>Plasmodium sp.</i> e citotoxicidade	40
2.3.3. Propriedades farmacocinéticas	41
2.3.4. Relação estrutura-atividade	42
2.3.5. Mecanismo de ação	42
2.4. Derivados de ácido fusídico	43
2.4.1. Ácido fusídico	43
2.4.2. Ésteres do ácido fusídico	44
2.4.2.1. Síntese	44
2.4.2.2. Atividade no <i>P. falciparum</i> e citotoxicidade	45
2.4.2.3. Relação estrutura-atividade	47
2.4.3. Amidas do ácido fusídico	47
2.4.3.1. Síntese	48
2.4.3.2. Atividade no <i>P. falciparum</i> e citotoxicidade	48
2.5. Híbridos de artesunato	50
2.5.1. Híbrido artesunato-tumacona B	50
2.5.1.1. Síntese	50
2.5.1.2. Atividade no <i>P. falciparum</i> e citotoxicidade	51
2.5.2. Híbrido artesunato-estradiol	53
2.5.2.1. Síntese	53
2.5.2.1.1. Derivado do 3-metoxi-estradiol	53
2.5.2.1.2. Híbrido de artesunato-estradiol	54
2.5.2.2. Atividade no <i>P. falciparum</i> e citotoxicidade	54
3. Considerações finais	56
Bibliografia	57

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Orientado pela Dra. Maria Filomena Cardoso de Oliveira

Abreviaturas

ANF - Associação Nacional das Farmácias

DCI - Denominação comum Internacional

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM - Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

PA - Princípio ativo

PVP - Preço de venda ao público

SWOT - Forças, Fraquezas, Oportunidades e Ameaças

Introdução

O presente relatório está inserido na unidade curricular de estágio curricular, incluído no plano de estudos de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Este estágio tem como objetivo primordial proporcionar aos estudantes de farmácia um primeiro contacto com o mundo profissional, permitindo aumentar e melhorar os conhecimentos adquiridos durante todo o curso de MICF e transpondo-os para um nível mais prático.

O estágio foi realizado durante o seguinte período, 14 de janeiro a 4 de junho de 2019, na farmácia S. Miguel, sob a orientação da Dra. Maria Filomena Cardoso de Oliveira.

Durante o presente relatório irei realizar uma análise interna e externa, através da análise SWOT com base na experiência adquirida durante os 5 meses de duração do estágio curricular.

I. Apresentação da farmácia

A farmácia S. Miguel, localiza-se no Bairro de S. Miguel na Freguesia de Eiras, Coimbra. Situa-se no centro de vários bairros habitacionais, perto da zona Industrial de Coimbra, tendo um forte impacto como zona de passagem para a população que vive e trabalha em redor da mesma. A farmácia em si é espaçosa, com um bom aspeto e apresenta ótimas condições não só para os utentes, mas também para os colaboradores que ali trabalham. Encontra-se aberta das 9 até as 20.30h de segunda a sexta e das 9h-13h / 15-19h nos sábados estando encerrada nos feriados e domingos. A mesma participa no grupo de compras Elo Farma.

A farmácia é propriedade da Sra. Dra. Maria Filomena Cardoso de Oliveira e do Senhor Vítor Oliveira sendo que a Dra. Filomena desempenha a função de Diretora técnica.

A farmácia disponibiliza vários serviços aos utentes, sendo exemplo dos mesmos as consultas de nutrição, a administração de injetáveis e vacinas, a medição da tensão arterial, a realização e determinação de parâmetros bioquímicos, o serviço Valormed (que consiste na recolha de medicamentos que já não se encontram dentro do prazo de validade ou que se encontram deteriorados), e também a entrega de medicamentos ao domicílio.

A farmácia S. Miguel é associada da ANF e utiliza como sistema informático o Sifarma 2000®. É uma farmácia aderente ao programa das Farmácias Portuguesas, tendo todas as vantagens inerentes às mesmas como por exemplo a utilização do cartão SAUDA, que é um cartão de fidelização.

Tabela I - Equipa técnica da farmácia

Nome	Categoria
Vítor Oliveira	Gerente
Maria Filomena Cardoso de Oliveira	Diretora técnica
Alexandra Albuquerque	Farmacêutica substituta
Cátia Ferreira	Farmacêutica
Beatriz Martins	Farmacêutica
Sílvio Marques	Técnico de farmácia
Tiago Simões	Técnico de farmácia
Ricardo Oliveira	Técnico de farmácia
Paula Matos	Auxiliar de limpeza

2. Análise SWOT

Para avaliar a minha experiência e visão durante o estágio curricular irei recorrer a uma análise SWOT. O sistema SWOT está dividido em duas análises distintas, uma externa que avalia as Oportunidades e as ameaças. E uma análise interna onde os pontos fortes e os pontos fracos são também avaliados.

Tabela II - Análise SWOT

Análise Interna	Análise Externa
Pontos Fortes	Oportunidades
<ul style="list-style-type: none">❖ Equipa técnica da farmácia❖ Localização e horários❖ Organização do estágio❖ Associação do princípio ativo com a marca comercial	<ul style="list-style-type: none">❖ Sistema Sifarma 2000®❖ Formações❖ Grupo de compras❖ Serviços farmacêuticos
Pontos Fracos	Ameaças
<ul style="list-style-type: none">❖ Medicamentos homeopáticos❖ Dermocósmetica	<ul style="list-style-type: none">❖ Medicamentos esgotados e medicamentos de disponibilidade reduzida❖ Receitas manuais❖ Alteração de PVPs, estados comparticipação e necessidade de receita médica nos medicamentos

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Equipa técnica da farmácia

No primeiro dia de estágio fui apresentado e bem recebido por toda a equipa da farmácia S. Miguel que exercia no momento. Esta extraordinária equipa sempre demonstrou interesse para que eu, como estagiário, compreendesse e participasse nas várias funções da farmácia. A organização da equipa da farmácia S. Miguel é versátil e eficaz visto que os funcionários não estão distribuídos por função. Assim todos estão preparados para realizar a maior parte das

diversas tarefas, como a receção de encomendas, o atendimento ao público, gestão de *stocks*, devolução de produtos, gestão de reservas, monitorização de parâmetros bioquímicos, e a gestão de promoções entre outros.

Durante o estágio pude seguir individualmente cada membro da equipa, o que me permitiu observar a perspectiva de cada um. De uma forma geral, toda a equipa estava sempre pronta a auxiliar-me e ajudar-me no que precisasse, o que me motivou a dar o melhor de mim durante estes últimos 5 meses.

2.1.2. Localização e horários

Como já referi anteriormente a farmácia está localizada numa forte zona de passagem, visto que esta perto da zona industrial de Coimbra. Os horários em que a mesma está aberta, combinam perfeitamente com a sua localização. Como estagiário tive a oportunidade de realizar diferentes horários, o que me permitiu não só efetuar um maior número de tarefas dentro da farmácia como obter uma maior visão e perceção tanto na diversidade de pessoas como nas diferentes situações que podem acontecer no dia-a-dia.

2.1.3. Organização do estágio

O meu estágio na farmácia S. Miguel foi dividido em duas fases. Uma primeira fase onde me integrei nos cargos internos, cujas funções principais incluíam, a receção de encomendas, a arrumação e organização de medicamentos. Esta fase foi importantíssima, pois permitiu-me estar bastante tempo em contacto com o SiFarma 2000® e com as diversas marcas de medicamentos e de produtos de saúde. Durante este período tive ainda a oportunidade de observar alguns atendimentos feitos pela equipa da farmácia e algumas tarefas, entre as quais destaco:

- a reconstituição de preparações extemporâneas (formulações aquosas que apresentam uma estabilidade reduzida tendo de ser utilizadas pouco tempo depois de preparadas) nomeadamente antibióticos;

- revisão de receitas manuais, onde é necessário verificar alguns pontos: a validade da receita, a vinheta e a assinatura do médico, a medicação que foi prescrita e que foi cedida, o

carimbo da farmácia, a comparticipação efetuada e a rubrica do farmacêutico. Esta função é de extrema importância de forma a verificar e corrigir os erros no processo de dispensa.

Quando senti algum conforto em realizar as tarefas nesta 1ª fase, avancei para uma segunda fase do estágio, onde tive a oportunidade, de atender e aconselhar os utentes da farmácia S. Miguel enquanto supervisionado. No atendimento ao público tive a oportunidade de atender inúmeros utentes e vender diversos produtos de saúde. Uma das maiores dificuldades que tive durante esta etapa foi explicar aos utentes a diferença entre o designado “medicamento genérico” e o “medicamento de marca” e também os preços referenciados na receita eletrónica (ex: este medicamento custa-lhe no máximo ...). Esta dificuldade apresentada pelos utentes devia-se muitas vezes ao facto das receitas eletrónicas, na maioria das vezes, trazerem apenas prescrito o medicamento por DCI. Desta forma os utentes apresentavam-se muito confusos, ficando ainda mais indecisos quando lhes explicava que existiam várias “marcas” ou vários “genéricos”.

Durante o meu tempo de atendimento também verifiquei que há um grande número utentes que já estão familiarizados com os “genéricos” de forma negativa demonstrando bastantes dúvidas quanto à sua eficácia, devido sobretudo a opiniões que já traziam previamente do médico.

Com toda esta experiência fornecida pela equipa da farmácia S. Miguel tive a oportunidade de desenvolver a minha comunicação com o público e pôr em prática todos os conhecimentos aprendidos na fase anterior, nas formações que frequentei e durante a minha frequência no Curso de MICEF.

2.1.4. Associação do princípio ativo com marca comercial

Na farmácia S. Miguel as marcas comerciais e os medicamentos genéricos estão arrumados e organizados separadamente. Esta forma de organização obrigou-me, a aprender de forma rápida a associar cada marca ao(s) correspondente(s) princípio(s) ativo(s). Para além disso as próprias prescrições e o sistema informático permitem uma aprendizagem rápida pois é principalmente utilizada a DCI, que se refere essencialmente ao PA. No fim do estágio noto que consigo associar várias marcas a vários princípios ativos e em muitas delas consigo saber qual é a sua função farmacológica. Esta capacidade é importantíssima para quem trabalha numa farmácia, para facilitar e esclarecer rapidamente o utente durante o atendimento.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Medicamentos homeopáticos

Durante o meu estágio estive em contacto com alguns medicamentos homeopáticos tais como o “Stodal” e o “Oscillocoquinum”, tendo estes o seu espaço na farmácia e sendo requeridos por diversos utentes.

Segundo o Infarmed: “Um medicamento homeopático é um medicamento obtido a partir de substâncias denominadas *stocks* ou matérias-primas homeopáticas, de acordo com um processo de fabrico descrito na farmacopeia europeia, ou na sua falta, em farmacopeia utilizada de modo oficial num Estado Membro, e que pode ter vários princípios.”¹

Existem 3 reinos principais, a partir dos quais os medicamentos homeopáticos são preparados: reino Animal, Vegetal e Mineral. Provêm essencialmente de substâncias naturais. A partir da substância original são feitas diluições sucessivas necessárias à criação do medicamento homeopático. No processo de diluição, a substância perde gradualmente a sua toxicidade, mantendo, no entanto, o efeito terapêutico específico.²

Enquanto estagiário senti alguma dificuldade em aconselhar este tipo de medicamentos ao público em geral, isto deve-se ao facto de este tema não ter sido abordado com impacto durante a minha formação em MICF em Coimbra. Sei que existem diversos cursos de formação nesta área e tenho como objetivo frequentar um deles para colmatar esta lacuna e melhorar os meus conhecimentos neste assunto.

2.2.2. Dermocósmetica

Ao contrário dos medicamentos homeopáticos, a dermocosmética foi um dos temas abordados durante o MICF, mas dada a grande variabilidade de produtos existentes e disponíveis, senti alguma dificuldade em aconselhá-los. São muito diversificadas as gamas e as marcas de cosmética existentes no mercado para além de que existem produtos com variadíssimas funções, para diversos tipos de situações e adaptados a diferentes tipos de pele. Com a ajuda da equipa técnica da farmácia S. Miguel e com a frequência em algumas formações sobre o tema, consegui melhorar o meu conhecimento sobre este tipo de produtos de saúde. No entanto sinto ainda uma grande lacuna de conhecimento nesta área, que acho que poderia ser reforçada durante a frequência do MICF.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Sistema Sifarma 2000®

“Desenvolvido por e para Farmacêuticos. 90% das farmácias em Portugal usam o SIFARMA”³

O SiFarma 2000® é uma ferramenta de gestão e atendimento das farmácias comunitárias, permitindo o auxílio em inúmeras tarefas, consideradas hoje em dia, essenciais, tais como a receção de encomendas, gestão de *stocks*, atendimento ao público entre outras. É um sistema que permite desta forma minimizar os erros e detetá-los.

A farmácia S. Miguel utiliza o Sistema Sifarma 2000®. Desta forma tive a oportunidade de estar em contacto bastante tempo com o programa. O programa é bastante intuitivo e ao mesmo tempo bastante prático nas várias vertentes, como referi anteriormente. Pela minha experiência o sistema foi bastante útil durante os vários atendimentos que realizei sempre com a supervisão da minha orientadora e dos seus substitutos. Permitia-me obter mais informações sobre o utente, caso o mesmo tivesse ficha no sistema. Como por exemplo saber qual ou quais os produtos ou medicamentos que o utente adquiriu anteriormente na farmácia, caso fosse necessário esclarecer alguma dúvida. O programa também me permitia confirmar informação sobre certos produtos (tem informação científica bastante desenvolvida e facilmente acessível), podendo eu desta forma informar e aconselhar melhor o utente sobre um certo produto ou medicamento.

No entanto na minha opinião há ferramentas e aspetos dentro do Sifarma 2000® que poderiam ser melhorados, como por exemplo a Gestão de Reservas. Esta ferramenta é relativamente recente, mas ao mesmo tempo muito útil no Sifarma 2000®, porque permite fazer reservas de produtos e associá-lo à ficha de um utente. Mas o que a torna pouco prática de momento é o facto de poder induzir a erros nas encomendas, caso não seja perfeitamente executada. Estes erros já foram reportados à Glintt por diversas farmácias estando a ser objeto de desenvolvimento de forma a melhorar e corrigir o sistema.

Desta forma, todo o tempo que disponibilizei na aprendizagem deste sistema, permitiu-me ter um melhor conhecimento e prática do mesmo terminando no final por ficar mais confiante ao trabalhar com o Sifarma 2000®.

2.3.2. Formações

Cada vez mais com uma maior variabilidade e complexidade de produtos existentes na farmácia, é necessário que a equipa técnica se encontre atualizada, para que possa fazer um aconselhamento mais adequado ao utente. Enquanto estagiário tive a oportunidade de participar em várias ações de formação tanto internas como externas, de vários tipos de produtos, de diversos assuntos e de diferentes laboratórios, tais como: Bene, GSK, Edol, Cantabria, Marti Derme, Gameiros, Isdin e da Bausch.

Formações estas que me permitiram perceber melhor as diferenças entre vários produtos de saúde e ao mesmo tempo ficar mais confiante no aconselhamento deste tipo produtos ao público, possibilitando desta forma fornecer um aconselhamento mais completo e correto aos utentes da farmácia S. Miguel.

2.3.3. Grupo de Compras

Hoje em dia cerca de 1 em cada 2 farmácias estão inseridas num grupo de compras, o que permite trazer uma maior organização e negociação com os diferentes laboratórios. A integração em grupos permite que atualmente as farmácias se tornem mais competitivas e consigam fazer face às diversas adversidades que enfrentam. Como já referi anteriormente a farmácia S. Miguel pertence a um grupo de compras a ELO Farma. A possibilidade de realizar o estágio nesta farmácia permitiu-me, ter uma maior perceção de como funciona este grupo e os grupos em geral, conhecendo as vantagens que os mesmos proporcionam.

2.3.4. Serviços farmacêuticos

A farmácia S. Miguel disponibiliza uma grande variedade de serviços aos seus utentes, dentro dos quais se destacam a determinação de parâmetros Bioquímicos, a administração de injetáveis e vacinas e as consultas de nutrição. Durante o estágio tive a oportunidade de realizar alguns desses serviços aos utentes, como a medição da glicemia, do colesterol total, a avaliação da tensão arterial e de observar como é feita a administração de vacinas e de outros testes. Estas experiências juntamente com os conselhos dados pela equipa permitiram-me reforçar a confiança que tinha em realizar estes testes.

2.4. Ameaças

2.4.1. Medicamentos esgotados e de disponibilidade reduzida

Atualmente as farmácias em Portugal apresentam uma grande adversidade que afeta diretamente o exercício da sua função e o acesso dos medicamentos às populações em redor. Esse problema é causado pela falta de certos medicamentos na farmácia. Isto acontece por duas razões: o medicamento encontra-se esgotado e o medicamento está “sujeito a rateio” pelo laboratório e pelo grossista. Para tentar combater a falta de certos medicamentos na farmácia, o Infarmed criou um protocolo chamado “Via Verde”, que está associada a uma lista de medicamentos que o mesmo designou de “disponibilidade reduzida”. Através desta via as farmácias conseguem encomendar com mais facilidade os medicamentos presentes nessa lista, mas para a utilizarem é necessário associar ao pedido o número da receita médica, com o medicamento em questão, o que permite que este sistema seja utilizado para pedir medicamentos apenas e quando necessário ao utente.

Durante o tempo em que realizei o meu estágio pude observar como é que este problema afetava a farmácia. De entre os medicamentos de baixa disponibilidade (sujeito a rateio) que observei, os que possuíam um maior impacto eram: as insulinas como a Lantus[®] (insulina glargina) e a Trucility[®] (dulaglutido), alguns anticoagulantes como o Pradaxa[®] (etexilato de dabigatrano) a Lixiana[®] (endoxabano) e o Xarelto[®] (rivaroxabano) e numa fase final do meu estágio verifiquei que o Lasix[®] (furosemida) também passou a estar sujeito a rateio pelos grossistas. No entanto observei, que a farmácia S. Miguel na maior parte das vezes, tinha disponível este tipo de medicamentos conseguindo assegurar as necessidades dos seus utentes.

Mas o problema mais grave que pude verificar são os medicamentos esgotados. Estes medicamentos ao contrário dos de baixa disponibilidade, estão esgotados por um certo período, não sendo possível encomendar qualquer número de unidades. Pelo que observei a Aspirina GR[®], o Adalat[®] (incluindo os genéricos da nifedipina), genéricos do valsartan, e o Eutirox[®] 25mg foram o exemplo de medicamentos esgotados durante parte do tempo em que estagiei.

No aconselhamento ao público quando o medicamento de marca não estava disponível sugeria sempre as alternativas existentes de medicamentos genéricos, ou vice-versa, de forma a que o utente não interrompesse a sua terapêutica. Um dos casos mais graves foi a falta de “nifedipina”, pois quer o medicamento de marca quer o genérico encontravam-se esgotados, não havendo desta forma substituição possível. Neste caso aconselhava o utente a contactar o seu médico, de forma a que este pudesse rever e adaptar a sua medicação.

Ter uma maior perceção da falta de medicamentos em Portugal foi também uma noção importantíssima que aprendi como estagiário.

2.4.2. Receitas manuais

Nos dias de hoje a maior parte das receitas recebidas na farmácia está no formato eletrónico, mas alguns médicos ainda prescrevem receitas manuais. Estas receitas a meu ver podem induzir a alguns erros visto que a letra do médico nem sempre é perceptível e não permitem obter a confirmação com o Sifarma 2000[®] do medicamento que está a ser dispensado. Devido a estas especificidades, sempre que me apresentava perante este tipo de receitas, eu e a pessoa que me supervisionava tínhamos um cuidado acrescido, na verificação e dispensa dos respetivos medicamentos contidos na mesma. Tudo isto de forma a evitar erros que possam pôr em causa a saúde do utente.

2.4.3. Alteração de PVP, estados comparticipação e da necessidade de receita médica nos medicamentos

Durante o tempo que rececionei encomendas e fiz atendimentos ao público na farmácia S. Miguel passei por algumas experiências tais como a alteração dos preços de venda ao público e das comparticipações levadas a cabo pelo Estado Português e pelos laboratórios nos medicamentos sujeitos a receita médica. Muitas vezes estas alterações criavam dificuldades na comunicação e entendimento com o utente, pois estes estavam habituados a pagar um determinado valor por um medicamento e de um momento para o outro esse valor era alterado e teriam de pagar outro.

Também experienciei a passagem de alguns MSRM para MNSRM, dos quais destaco o Pulmicort Nasal Aqua[®] 32 e 64. Esta alteração causou como já disse anteriormente algumas dificuldades de comunicação com os utentes, que traziam receitas médicas as quais, nesta situação, já não seriam necessárias mas, para além disso, o medicamento deixou de ser comparticipado pelo estado, pelo que os utentes passaram a pagar um valor maior. Geralmente os medicamentos que deixam de ser sujeitos a receita médica, tornam-se mais caros pois sobem também o seu PVP, sendo a margem atribuída pela própria farmácia. Por outro lado, o Pulmicort[®] tem como princípio ativo budesonida que pertence ao grupo de medicamentos “corticoesteróides”⁵. A sua passagem a MNSRM pode levar a um consumo

abusivo desta substância por parte do público, pelo que o farmacêutico deve consequentemente reforçar a sua função de alertar o mesmo para as consequências nocivas do seu uso desmedido.

3. Casos Práticos

3.1. Caso I

Uma senhora, 29 anos, dirige-se à farmácia com o olho completamente vermelho e apresenta-se muito preocupada. Questionei a senhora para saber se tinha feito algum tipo de esforço no dia anterior e se sentia dor no olho em questão. Respondeu-me que tinha estado a transportar malas pesadas, mas não sentia nenhuma dor no olho. No entanto um dos colaboradores da farmácia aconselhou-me a avaliar a pressão arterial à utente. Feita a avaliação verifiquei que apresentava uma tensão arterial de 185/100 mmHg, muito acima do valor recomendado de 140/90 mmHg de acordo com a norma nº020/2011 de 28/09/2011 da DGS.⁴ Aconselhei então a senhora a dirigir-se a uma urgência hospitalar e a contactar brevemente o seu médico de família e também, nos próximos dias a verificar diariamente os seus valores de tensão arterial.

No dia seguinte a utente apresentou-se na farmácia com uma prescrição médica contendo um anti-hipertensor.

3.2. Caso II

Um homem, 35 anos, dirige-se à farmácia com dores de cabeça e com congestão nasal. Averigui há quanto tempo tinha começado a sentir a presença destes sintomas e se tinha algum problema de saúde. Respondeu-me que os sintomas teriam aparecido há cerca de 2 dias e que não tinha problemas de saúde. Questionei-o se sentia dor de garganta, ao qual me respondeu que sentia a “garganta arranhada”. Sugeri então:

- uma pastilha de Strepisils[®] a cada 3 horas, a qual na sua constituição tem substâncias ativas (álcool diclorobenzílico e almilmetacresol) com uma ação calmante e suavizante para a garganta irritada.⁶

- dois comprimidos até 3 vezes por dia de Sinutab II que se trata de uma associação entre paracetamol (analgésico e antipirético) com cloridrato de pseudoefedrina (descongestionante

nasal), que é indicado no tratamento a curto prazo da congestão nasal quando associado a dor de cabeça ou febre.⁷

- e um comprimido por dia para colocar em água de ADVANCIS Vitamina C + Equinácea com o objetivo de melhorar a função imunitária, visto que da sua composição fazem parte Vitamina C que reforça o sistema imunitário e tem uma ação antioxidante, equinácea que possui propriedades imunoestimulantes, zinco que é um mineral indispensável ao bom funcionamento do sistema imunitário e selénio que é importante para o organismo devido à sua ação antioxidante e imunoestimulante.⁸

4. Considerações Finais

No final destes 5 meses como estagiário, posso dizer que a experiência que vivi em farmácia comunitária foi essencial para me tornar num bom profissional de saúde e para compreender toda a envolvência de uma farmácia.

Tive o meu primeiro contacto com o trabalho prático no dia-a-dia da farmácia, o que me permitiu desta forma observar e aprender as diferentes realidades nela existentes e ao mesmo tempo comprovar também a importância da presença da farmácia comunitária na sociedade em que vivemos.

Durante o estágio tive a oportunidade de começar por participar nas atividades de *backoffice*, iniciando-me pela organização interna e avançado mais tarde até ao atendimento e aconselhamento ao público, ouvindo os problemas dos utentes e tentando que saíssem o mais satisfeito e esclarecidos possível da farmácia. Os objetivos principais era que compreendessem a sua terapêutica e a cumprissem integralmente.

Iniciei o estágio um pouco inseguro quanto à minha capacidade de realizar as tarefas presentes na farmácia, mas com a ajuda de toda a equipa que me acompanhou nestes últimos meses, saio agora muito confortável quanto minha experiência profissional, sabendo, no entanto, que isto é apenas o início de uma longa caminhada. Muitas mais experiências e vivências virão, pelo menos assim o desejo.

Portanto mais uma vez quero agradecer a toda a equipa da farmácia S. Miguel por me ter tratado e ajudado com muito carinho durante toda esta etapa.

Bibliografia

- 1- INFARMED, I.P. - **Medicamentos homeopáticos** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/autorizacao-de-introducao-no-mercado/medicamentos-homeopaticos>
- 2- FARMÁCIAS PORTUGUESAS - **Compreender os medicamentos homeopáticos** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.farmaciasportuguesas.pt/menu-principal/bem-estar/compreender-os-medicamentos-homeopaticos.html>
- 3- GLINTT - **Sifarma 2000** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/SoftwareSolutions/Paginas/Sifarma.aspx>
- 4- DGS - **Norma nº020/2011 de 28/09/2011** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0202011-de-28092011-atualizada-a-19032013.aspx>
- 5- INFARMED, I.P. - **Pulmicort Nasal Aqua 32/64 microgramas/dose suspensão para pulverização nasal: Resumo das características dos Medicamento** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=29583&tipo_doc=fi
- 6- INFARMED, I.P. - **Strepsills Menta Fresca 1,2 mg + 0.6 mg Pastilhas: Resumo das Características do Medicamento** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=49976&tipo_doc=fi
- 7- INFARMED, I.P. - **Sinutab II 500 mg + 30 mg comprimidos: Resumo das Características do Medicamento** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=7907&tipo_doc=fi
- 8- ADVANCIS - **Vitamina C + Equinácea** (Acedido a 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.advancispharma.com/pt/sistema-respiratorio-imunitario/advancis-vitamina-c-equinacea/>

Parte II

Novos agentes antimaláricos com estrutura esteróide

Orientada pela Professora Doutora Maria Manuel Cruz Silva

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Breve descrição de alguns fármacos (classe, estrutura e mecanismo atualmente proposto) utilizados no tratamento da malária.	32
Tabela 2 - Alguns dos genes envolvidos no aparecimento de resistência aos antimaláricos.	33
Tabela 3 - Atividade <i>in vitro</i> dos alcalóides extraídos da <i>H. pubescens</i> e de fármacos de referência no <i>P. falciparum</i> K1.....	37
Tabela 4 - Atividade <i>in vitro</i> do kaimanol e do saringosterol e do fármaco de referência no <i>P. falciparum</i>	39
Tabela 5 - Atividade <i>in vitro</i> do composto “Io” e dos fármacos de referência no <i>P. falciparum</i>	41
Tabela 6 - Atividade <i>in vitro</i> dos ésteres alifáticos formados por esterificação do ácido fusídico em R ₁ e dos compostos de referência no <i>P. falciparum</i>	46
Tabela 7 - Atividade <i>in vitro</i> das amidas derivadas do ácido fusídico e dos compostos de referência no <i>P. falciparum</i>	49
Tabela 8 - Atividade <i>in vitro</i> do híbrido e do éster formados e dos compostos de referência no <i>P. falciparum</i>	52
Tabela 9 - Atividade <i>in vitro</i> do híbrido de artesunato-estradiol formado e dos compostos de referência no <i>P. falciparum</i>	55

Índice de Figuras

Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Plasmodium sp</i>	28
Figura 2 - Estrutura da hemozoína.....	30
Figura 3 - Estrutura química de um núcleo esteróide “ciclopentanoperidrofenantreno”	34
Figura 4 - Estruturas químicas da quinina e da artemisinina	35
Figura 5 - Estrutura química da sarachina.....	35
Figura 6 - Estruturas químicas dos alcalóides da <i>H. pubescens</i>	36
Figura 7 - Estruturas do saringosterol e kaimanol.....	38
Figura 8 - Estrutura do composto 1o.....	40
Figura 9 - Estruturas geral de um α -aminocresol, da amodiaquina, e da cadeia 2-hidroxiarilmetilamino do composto 1o	42
Figura 10 - Estrutura do ácido fusídico.....	44
Figura 11 - Estrutura dos ésteres do ácido fusídico.	45
Figura 12 - Atividade <i>in vitro</i> dos compostos aromáticos formados por esterificação do ácido fusídico em R ₁ no <i>P. falciparum</i>	46
Figura 13 - Estruturas das amidas A e B do ácido fusídico.....	49
Figura 14 - Estrutura do artesunato e da tumacona B.	50
Figura 15 - Estrutura do híbrido artesunato-tumacona B.....	52
Figura 16 - Estrutura do éster formado entre o reagente de yamaguchi e o tumacona B...52	
Figura 17 - Estrutura do artesunato e do derivado do 3-metoxi-estradiol.....	53
Figura 18 - Estrutura do híbrido de artesunato	55

Índice de Esquemas

Esquema 1 - Síntese dos esteróides 17-arilmetilamino	40
Esquema 2 - Reação geral da formação de uma orto-quinona-metídeo.....	43
Esquema 3 - Reação de esterificação do ácido fusídico.....	45
Esquema 4 - Reação de amidização do ácido fusídico	48
Esquema 5 - Reação da síntese do intermediário entre o artesunato e o reagente yamaguchi	51
Esquema 6 - Reação da síntese do híbrido artesunato-tumacona B.....	51
Esquema 7 - Síntese do derivado do 3-metoxi-estradiol	54
Esquema 8 - Síntese do híbrido de artesunato-estradiol	54

Abreviaturas

3D-QSAR - Three-Dimensional Quantitative Structure-Activity Relationship

ABC - ATP-Binding Cassette

ACT - Artemisinin-based Combination Therapy

CHO - Chinese Hamster Ovarian

DCC - N,N'-Dicyclohexylcarbodiimide

DCM - Dichloromethane

dhfr - Dihydrofolate reductase gene

dhps - Dihydropteroate synthase gene

DMAP - 4-Dimethylaminopyridine

EDC - 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide

EF-G - Elongation Factor G

ET₃N - Triethylamine

IC₅₀ - Concentration corresponding to the 50% inhibition of parasite growth

LG - Leaving Group

NCIH187 - Small cell lung cancer

PAMPA - Parallel artificial membrane permeability assay

pfcr - *P. falciparum* chloroquine resistance transporter gene

PfCRT - *P. falciparum* chloroquine resistance transporter

Pfk13 - *P. falciparum* Kelch-13 gene

PfMDR - *P. falciparum* multidrug resistance transporter

pfmdr 1 - *P. falciparum* multidrug-resistance gene I

QSAR - Quantitative Structure-Activity Relationship

T3P - Propylphosphonic anhydride solution

Resumo

A malária ou paludismo é uma doença causada pelo parasita do género *Plasmodium*, que se transmite pelas picadas de mosquitos fêmeas *Anopheles* também designados de vetores da malária.

Apesar da grande evolução ocorrida na ciência nos últimos anos, a malária continua a causar milhões de casos e milhares de mortes todos os anos, transformando-se num grande problema de saúde, principalmente nas zonas tropicais e subtropicais.

A maioria dos casos de malária deve-se principalmente ao *Plasmodium falciparum*, o parasita mais virulento para o ser humano dentro do género *Plasmodium*.

Embora exista um conjunto de fármacos e diversas combinações dos mesmos disponíveis para combater o paludismo, o *P. falciparum* tem vindo a desenvolver resistência à maioria deles nos últimos anos.

Desta forma a descoberta de novos agentes antimaláricos é cada vez mais uma necessidade para combater esta ameaça futura.

Os esteróides têm ganho um grande interesse no âmbito da medicina, devido às suas propriedades farmacológicas diversificadas e têm sido identificadas e sintetizadas novas moléculas com uma ação antimalárica possuindo esta estrutura química.

Este trabalho tem como objetivo realizar uma análise sobre agentes com uma estrutura esteróide na qual recentemente foi identificada uma ação contra as diversas estirpes do *Plasmodium falciparum*.

PALAVRAS-CHAVE: Esteróide; Antimaláricos; *Plasmodium sp.*; Hibridização; Compostos naturais.

Abstract

Malaria or paludism is a disease caused by the parasite from the *Plasmodium* genre, the transmission mechanism revolves around the female mosquito *Anopheles* bite and due to this fact, this genre of mosquito received the designation of malaria vectors.

Despite the staggering scientific progress made in recent years, malaria still infects millions of individuals and is responsible for the deaths of thousands due to infection related complications, mainly in tropical and subtropical regions.

Most cases of malaria are due to infections by *Plasmodium falciparum*, the most virulent strain, for humans, of the *Plasmodium* genre.

Despite the existence of a wide range of drugs and combinations to treat paludism, *P. falciparum* has been gaining resistance to the majority of these in recent years.

As such, the effort to research new antimalarial agents must be viewed as priority in order to keep an effective response to this threat in the future.

The interest in steroids on the medical field has surged over the last decades, mainly due to the diversified range of pharmacological properties, in addition, new molecules have been identified and synthesized with a steroidal structure to act as antimalarial agent.

The present paper has, as its main goal to conduct a straightforward analysis of agents with a steroid structure which have been identified as effective against the diversified range of *Plasmodium falciparum* strains.

KEY-WORDS: Steroid; Antimalarial; *Plasmodium sp.*; Hybridization; Natural compounds.

I. Introdução

I.1. *Plasmodium*

O género *Plasmodium* é constituído por um conjunto de espécies parasitárias unicelulares eucariotas que pertencem ao reino protista ¹. Dentro deste existem cinco espécies de parasitas que causam malária no ser humano, o *Plasmodium falciparum*, o *Plasmodium vivax*, o *Plasmodium malariae*, o *Plasmodium ovale* e o *Plasmodium knowlesi* sendo a espécie *Plasmodium falciparum*, a mais virulenta entre o género *Plasmodium*. ²

I.2. Ciclo de vida do *Plasmodium sp.*

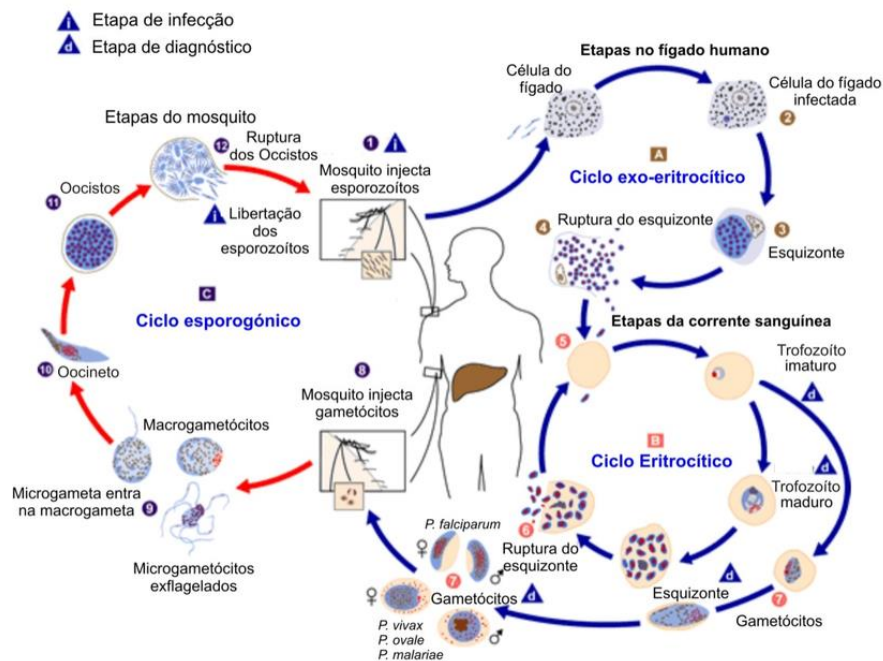


Figura I - Ciclo de vida do *Plasmodium sp.* (Adaptado da ref. 3)

O ciclo de vida do plasmodium (Figura I) inclui duas fases: uma esporogónica em que o parasita multiplica-se no mosquito *Anopheles* fêmea (vector) e uma fase esquizogónica em que o mesmo multiplica-se no hospedeiro humano. ³

O ciclo tem início quando o mosquito *Anopheles* fêmea infectado inocula esporozoítos no hospedeiro após uma refeição de sangue. Esta é a primeira etapa do ciclo de vida do *Plasmodium sp.*

Durante a fase esquizogónica dá-se a reprodução assexuada a partir de dois ciclos: o exo-eritrocítico e o eritrocítico.

O ciclo exo-eritrocítico tem início quando os esporozoítos atingem o fígado e penetram nas células hepáticas, após uma curta viagem pela corrente sanguínea.

Dentro dos hepatócitos, os esporozoítos vão sofrer inúmeras divisões e diferenciações, primeiro diferenciam-se em trofozoítos pré-eritrocíticos e em seguida em esquizontes hepáticos, através de um processo designado esquizogonia hepática. Os esquizontes por sua vez sofrem um processo de maturação que leva a sua rutura ocorrendo a libertação de merozoítos na corrente sanguínea.^{4,5} Em seguida ocorre uma segunda fase em que os merozoítos presentes na corrente sanguínea vão penetrar nos eritrócitos iniciando o ciclo eritrocítico. Durante este período, os merozoítos vão também sofrer uma maturação, através de um processo de esquizogonia eritrocitária, passando por vários estadios: - primeiro trofozoíto em anel, - segundo trofozoíto maduro formando por fim o esquizonte. Cada esquizonte após um novo processo de maturação sofre rutura e liberta entre 16-32 merozoítos.⁶

As espécies *P. vivax* e *P. ovale* têm uma forma diferente de atuar e podem não se desenvolver de imediato, os esporozoítos destas espécies podem permanecer num “estado adormecido”, durante semanas a vários anos, os quais são designados de hipnozoítos.^{3,5}

Durante este processo, alguns destes merozoítos podem sofrer uma diferenciação formando gametócitos masculinos ou femininos. O mosquito no momento da picada ingere os gametócitos o que provoca o início da fase esporogónica. Nesta fase os gametócitos masculino e feminino sofrem alterações no estômago do mosquito dando origem a micro e macrogâmetas, respectivamente. Seguidamente ocorre a sua fecundação, formando um zigoto, o qual, por sua vez, origina um oocineto, com a capacidade de se mover e invadir a parede do intestino médio do mosquito, fixando-se e iniciando a sua transformação em oocisto. Dentro do oocisto dá-se então um processo de esporogonia, que origina inúmeros esporozoítos. O oocisto acaba por romper libertando os esporozoítos que se deslocam para os ductos das glândulas salivares, onde permanecem até uma nova refeição sanguínea, iniciando-se um novo ciclo.^{3,4,5}

1.3. Formação e caracterização da hemozoína

Durante o ciclo intra-eritrocítico, quando o parasita se apresenta na forma de trofozoíto ou esquizonte, inicia-se a degradação da hemoglobina⁷.

A hemoglobina é uma metaloproteína que tem como função o transporte de oxigénio para os tecidos. Esse transporte é mediado pelo grupo prostético heme sendo que cada molécula de hemoglobina contém quatro grupos heme unidos cada um deles a um átomo central de ferro, ao qual o oxigénio se liga⁸.

A hemoglobina é transportada até ao vacúolo digestivo do parasita onde a sua degradação se realiza a pH ácido, na presença das proteases aspárticas (plasmepsinas I, II, IV e protease histo aspártica), proteínases de cisteína (falcipaínas 2, 3)⁹ e a metaloprotease (falcilisina)¹⁰ dando origem a pequenos péptidos que se supõem serem degradados no citoplasma do parasita por aminopeptidases. Acredita-se também que a degradação da hemoglobina desempenha um papel vital como fonte de aminoácidos para o desenvolvimento do parasita⁷.

Durante todo este processo o heme (α -hematina ou ferro protoporfirina IX) também é libertado e o ferro da α -hematina é oxidado de Ferro (II) para Ferro (III), o que a torna bastante tóxica devido à sua capacidade de formação de espécies reativas de oxigénio¹³. Como o *Plasmodium* não tem a enzima heme oxigenase⁹, para contrariar este processo, o parasita utiliza a α -hematina e cristaliza-a numa molécula menos tóxica, a hemozoína. A hemozoína (Figura 2) é atualmente considerada um cristal inerte e insolúvel.^{7,9}

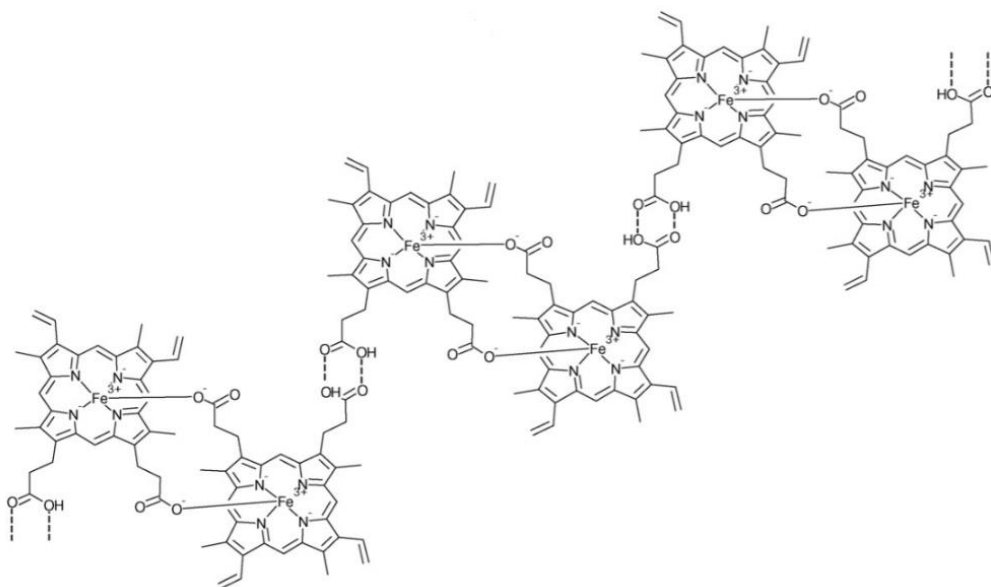


Figura 2 - Estrutura da hemozoína.⁹

A sua estrutura consiste num conjunto de moléculas de hematina ligadas por pontes de hidrogénio entre grupos carboxílicos e também através de ligações do ferro central com o oxigénio nas cadeias propiónicas laterais de cada porfirina com a formação de dímeros.¹³

Após a libertação pelo esquizonte a hemozoína entra na circulação sanguínea do hospedeiro. Apesar de ser considerada um composto inerte, nas últimas décadas têm surgido diversos estudos que demonstram que esta é reconhecida por recetores de monócitos, macrófagos, células dendríticas e endoteliais e parece apresentar um carácter imunomodulador.^{9,11} Recentemente verificou-se que a hemozoína pode causar apoptose nos neurónios e astrócitos, o que indica que a mesma pode também ser considerada uma toxina.¹²

Visto que a produção de hemozoína através da degradação da hemoglobina é um processo essencial à sobrevivência do parasita, esta molécula é um alvo muito atraente para novos fármacos. Os derivados de quinolina como a cloroquina, são exemplos de fármacos que conseguem inibir a formação de hemozoína, através da sua ligação à α -hematina impedindo a sua cristalização, o que resulta numa acumulação de ferro protoporfirina IX(III) que devido a sua toxicidade acaba por matar o parasita.^{9, 13}

Para além de alvo farmacológico, a hemozoína poderá vir a ser utilizada também como um meio de diagnóstico, visto que é um biomarcador para todas as espécies de *Plasmodium sp.*¹⁴

I.4. Fármacos utilizados no tratamento da malária

Os antimaláricos são atualmente utilizados não só para o tratamento, mas também para a prevenção da malária. A maioria dos fármacos antimaláricos tem como alvo a fase eritrocítica que é a fase responsável pelo aparecimento dos sintomas do paludismo.^{15,16}

De uma forma geral, o tratamento atual padrão para a malária não complicada recomendado pela OMS, consiste na terapia combinada à base de derivados de artemisinina (ACT) e a escolha dos fármacos deve ter como base as estirpes locais de *plasmodium sp.*, (exemplo de combinações artesunato + mefloquina e artesunato + sulfadoxina-pirimetamina), para os casos de malária severa deve ser utilizado o artesunato na forma de injetável (intramuscular ou intravenoso).¹⁷

Na Tabela I estão descritos alguns fármacos que são atualmente usados no tratamento da malária.

Tabela I - Breve descrição de alguns fármacos (classe, estrutura e mecanismo atualmente proposto) utilizados no tratamento da malária.

Classe	Estrutura Química	Princípio ativo	Mecanismo de ação
Derivados Quinolina ¹⁹	4-Aminoquinolinas ¹⁸	Cloroquina Amodiaquina	Acumulam-se no vacúolo do sistema digestivo e inibem a cristalização de hemazoina. ¹⁹
	Arilamino alcoóis ²⁰	Quinina Mefloquina Halofantrina Lumefantrina	
	8-Aminoquinolinas ²¹	Primaquina	O mecanismo de ação não está bem estabelecido. ²¹
Naftoquinona ²²	Hidroxi-naftoquinona ²²	Atovaquona	Atua no complexo citocromo bc I, o que vai afetar o transporte de elétrons na mitocôndria ²²
Antifolatos ^{23,24}	Sulfonamida ²⁵	Sulfadoxina	Inibição da enzima di-hidropteroato sintetase, interferindo com a síntese de ácido fólico. ²³
	Diaminopirimidina ²⁴	Pirimetamina	Inibição da enzima di-hidrofolato redutase, interferindo na síntese de ácido fólico. ^{23,24}
Artemisinina e derivados ²⁶	Lactonas sesquiterpênicas com um grupo endoperóxido ²⁶	Artesunato Artemisinina Artemeter	Assume-se que o mecanismo esteja relacionado com a clivagem da ponte peróxidona, com a liberação de radicais livres. ²⁷
Antibióticos ^{28, 30}	Tetraciclina ²⁸	Tetraciclina Doxiciclina	Atuam inibindo a síntese proteica. ²⁹
	Lincosamina ³⁰	Clindamicina	

1.5. Resistência aos antimaláricos

A resistência aos antimaláricos é um dos maiores obstáculos ao tratamento da malária e atualmente já se encontra comprovado o aparecimento de resistência em todas as classes de antimaláricos. Este fenómeno deve-se a vários fatores: “associados ao fármaco, ao parasita, ao hospedeiro, ao vetor e ao ambiente”.³¹ Mas uma das principais razões para o aparecimento de resistências é o uso inadequado dos medicamentos ou o seu uso extensivo em monoterapia.¹⁷

Os diversos mecanismos de resistência do *Plasmodium sp.* aos medicamentos antimaláricos ainda não estão bem esclarecidos. O aparecimento de resistência no *P. falciparum* aos principais antimaláricos como a cloroquina, sulfadoxina, pirimetamina, artemisinina e seus derivados está relacionada com mutações em cinco genes (Tabela 2).

Tabela 2 - Alguns dos genes envolvidos no aparecimento de resistência aos antimaláricos.

Genes	Mecanismo de resistência proposto
<i>pfcr</i>	O mecanismo de resistência associado a alterações neste gene, está normalmente relacionado com o aumento de resistência à cloroquina, devido à presença de mutações no transportador PfCRT, localizado na membrana do vacúolo. Estas alterações vão por sua vez aumentar o efluxo de fármaco para fora do vacúolo digestivo do parasita, diminuindo consequentemente a sua concentração e a sua ação. ³²
<i>pfmdr1</i>	O gene <i>pfmdr1</i> é responsável pela codificação de um transportador ABC (funciona como uma bomba de efluxo), o PfMDR, na membrana no vacúolo digestivo do parasita. O seu mecanismo permanece desconhecido, mas mutações neste gene demonstraram alterar a susceptibilidade para vários antimaláricos. ³³
<i>dhps dhfr</i>	Mutações pontuais nos genes <i>dhps</i> (codifica a di-hidropteroato sintetase) e <i>dhfr</i> (codifica a di-hidrofolato redutase), vão alterar a conformação do local de ligação nas enzimas, onde a pirimetamina e a sulfadoxina se iriam ligar para exercer a sua atividade. Esta diminuição de afinidade causa um aumento de resistência a estes fármacos. ³⁴
<i>PfKelch13</i>	A ação da artemisinina e dos seus derivados resulta na alquilação de proteínas do parasita. Estas, por sua vez, vão ser eliminadas por ubiquitinação mediada pela proteína Kelch13. De forma resumida as mutações no gene <i>PfKelch13</i> introduzem alterações conformacionais à proteína kelch13 impedindo que esta se ligue aos substratos (proteínas alquiladas) para mediar a ubiquitinação, aumentando desta forma a resistência à artemisinina e aos seus derivados. ³⁵

2. Desenvolvimento e identificação de novas moléculas com estrutura esteróide

2.1. Introdução aos esteróides

Os esteróides são um grupo de compostos orgânicos complexos que fazem parte da classe dos lípidos. São caracterizados por apresentar uma estrutura de quatro anéis (A, B, C e D) fundidos, o que os transforma em moléculas com uma estrutura rígida. O sistema de anéis inclui três ciclohexanos e um ciclopentano, que perfazem um total de dezassete átomos de carbono (Figura 3).^{36, 37}

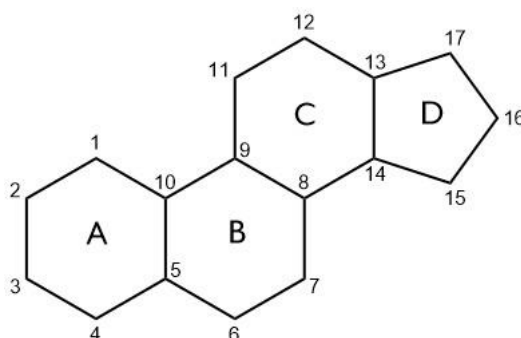


Figura 3 - Estrutura química de um núcleo esteróide “ciclopentanoperidrofenantreno”.³⁷

São moléculas que fazem parte da composição das membranas celulares, e por essa razão têm a capacidade de as atravessar facilmente, estando também envolvidas em inúmeros processos de sinalização celular.

A sua atividade pode ser modulada através de pequenas alterações na sua estrutura como: a alteração de grupos funcionais e sua posição no esqueleto esteróide, modificação do seu grau de insaturação e configuração do núcleo esteróide.³⁸ Dada a esta possibilidade, é possível utilizar o núcleo esteróide como base para o “design” de novos fármacos, alterando o esteróide com diversos grupos funcionais ou adicionando outras moléculas de modo a obter uma atividade biológica adequada. As propriedades obtidas têm despertado interesse por parte da comunidade científica na utilização de esteróides para a síntese de novos fármacos antimaláricos.³⁹

Seguidamente serão apresentados compostos naturais que demonstraram recentemente algum tipo de ação no *P. falciparum* e ainda três novos tipo de compostos com uma estrutura esteróide: os esteróides 17-arilmetilamino, os derivados de ácido fusídico e duas novas moléculas que resultam da síntese de híbridos de artesunato.

2.2. Compostos naturais

Atualmente alguns fármacos utilizados para tratamento da malária são de origem natural, a quinina e a artemisinina são bons exemplos práticos.

A quinina (Figura 4-A) foi o primeiro fármaco específico usado para o tratamento da malária. Trata-se de um alcalóide extraído da casca de *Chinchona L.*²⁰ No entanto o seu uso tem vindo a decrescer devido à sua baixa tolerabilidade, a regimes terapêuticos complexos e ao aparecimento de novos medicamentos mais eficazes⁴⁰.

A artemisinina (Figura 4-B) é uma lactona sesquiterpénica isolada pela primeira vez na década de 70, nas folhas da *Artemisia annua* na China. Juntamente com os seus derivados a artemisinina ainda representa até aos dias de hoje, um dos compostos mais importantes nos tratamentos da malária.²⁶

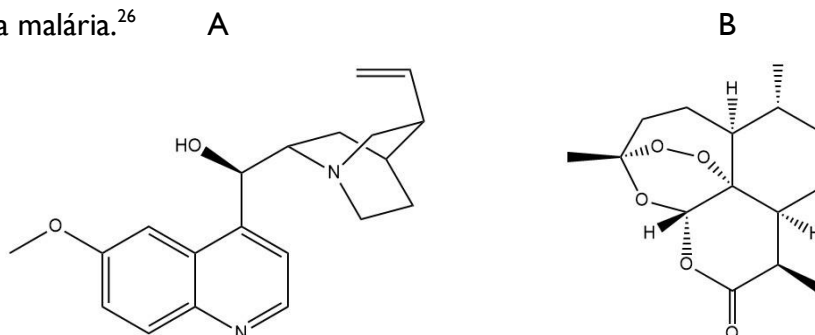


Figura 4 - Estruturas químicas da quinina²⁰ (A) e da artemisinina⁴¹ (B).

Tudo isto nos indica o quão importante são as plantas como fonte de potenciais moléculas com uma ação anti plasmodial, que podem vir a ser usadas como base para futuros fármacos. A identificação da sarachina é um bom exemplo para esta afirmação. A sarachina é um alcalóide com uma estrutura esteróide amino (Figura 5), isolado nas folhas da *Saraca punctate*, e em 1998 foi verificada atividade contra o *P. berghei* e *P. vickei*, em roedores. Esta descoberta abriu caminho para que os esteróides 17-arilmetilamino se tornassem um objeto de estudo, como se comprova mais à frente.⁴²

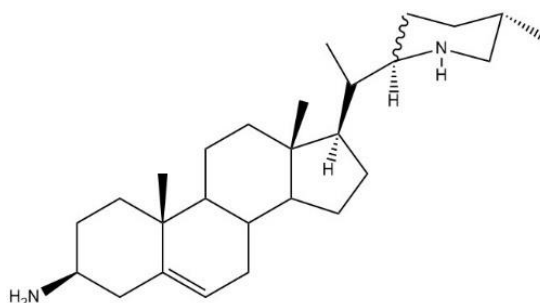


Figura 5 - Estrutura química da sarachina.⁴²

2.2.1. Alcalóides da *Horrhena pubescens*

Num estudo realizado recentemente, sete alcalóides previamente conhecidos com um núcleo esteróide foram isolados na *Holarrhena pubescens* e foram reportadas as suas atividades no *P. falciparum*.⁴³

Holarrhena pubescens é uma planta medicinal nativa da Índia, muito usada devido às suas propriedades tónicas, anti-helmínticas, adstringentes e antidiarreicas que a sua casca, também conhecida como kurchi, possui. Esta planta já foi alvo de inúmeros estudos e continua a ser um objeto de grande interesse, devido à sua composição química.⁴⁴

Os compostos foram obtidos a partir de uma série de várias purificações cromatográficas em coluna do extrato das raízes secas de *H. pubescens*. As estruturas dos compostos isolados foram obtidas por evidências espectroscópicas (Figura 6).⁴³

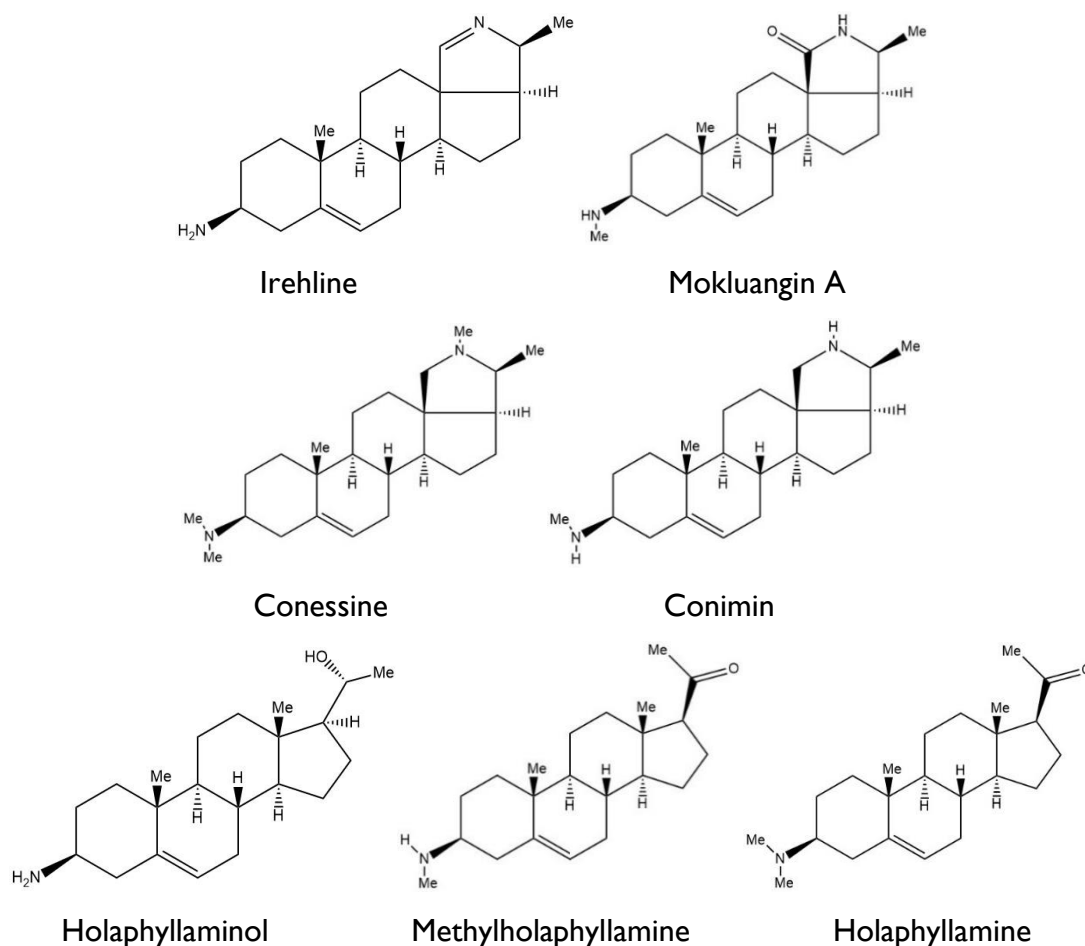


Figura 6 - Estruturas químicas dos alcalóides da *H. pubescens*.⁴³

2.2.1.1. Atividade no *P. falciparum* e citotoxicidade

Os vários compostos foram avaliados quanto ao seu valor de IC₅₀ no *P. falciparum* K1, estirpe multirresistente, sendo que a mefloquina e a dihidroartemisinina foram usadas como compostos de referência (Tabela 3). A sua citotoxicidade também foi avaliada em células pulmonares humanas cancerígenas pequenas (NCIH187), verificando-se, que dentro dos sete alcalóides identificados, apenas a conessine, conimin e methylholaphyllamine apresentaram alguma toxicidade.⁴³

Tabela 3 - Atividade *in vitro* dos alcalóides extraídos da *H. pubescens* e de fármacos de referência no *P. falciparum* K1. ⁴³

Composto	Atividade <i>in vitro</i>
	<i>P. falciparum</i> k1, IC ₅₀ , µM
Irehline	1,2
Mokluangin A	2,0
Conessine	5,9
Conimin	8,0
Holaphyllaminol	11,7
Holaphyllamine	4,1
Methylhophyllamine	10,6
Mefloquina	0,07
Di-hidroartemisinina	0,0037

A “Irehline” e a “Mokluangin A” foram os compostos que demonstraram uma melhor atividade antimalárica contra o *P. falciparum* K1 com valores IC₅₀ com uma baixa citotoxicidade, sendo que a “Holaphyllamine” e a “Holaphyllaminol” também apresentaram bons resultados. No entanto a atividade dos compostos de referência, mefloquina e di-hidroartemisinina são muito superiores.

2.2.1.2. Relação estrutura-atividade

Todos os alcalóides caracterizados têm uma estrutura muito semelhante entre si, isto permite que as estruturas dos compostos sejam comparadas. Após a observação dos resultados podem ser retiradas algumas conclusões. Verificou-se que tanto alterações no grupo amina localizado no carbono 3 (substituição de um hidrogênio por um grupo metilo)

como a presença e natureza de um anel E (Irehline, Mokluangin A, Conessine e Conimin) na sua estrutura tem impacto na sua atividade. No entanto para averiguar estes dados seria necessário fazer uma caracterização mais profunda nestes compostos.⁴³

Os alcalóides esteróides “Irehline” e “Mokluangin A” no futuro podem vir a ser otimizados quimicamente de forma a melhorar as suas atividades e deste modo serem desenvolvidos possíveis candidatos a medicamentos antimaláricos.

2.2.2. Esteróis da *Xestospongia sp.*

A *Xestospongia* é um género de esponja marinha que pertence à família *Petrosiidae*, e inclui mais de 50 espécies diferentes⁴⁵. Nos últimos anos, vários estudos fitoquímicos foram realizados nas espécies da *Xestospongia sp.* demonstrando a presença de vários compostos que possuem uma atividade antimalárica (como por exemplo alcalóides e quinonas).

Num estudo publicado em 2019 um novo esterol com propriedades antimaláricas, o kaimanol, juntamente com um esterol previamente conhecido, o saringosterol (Figura 7), foram isolados na *Xestospongia sp.* na Indonésia.

Os dois compostos foram obtidos após uma separação de um extrato de *Xestospongia sp* por cromatografia líquida no vácuo. A estrutura do kaimanol foi determinada com base nas evidências espectroscópicas, comparando-as com a estrutura do saringosterol.⁴⁶

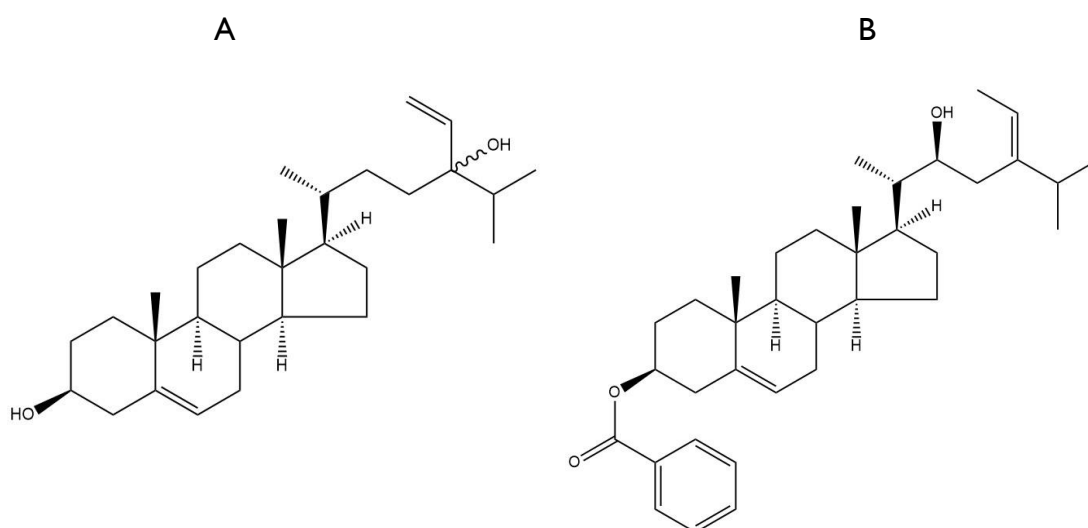


Figura 7 - Estruturas do saringosterol (A) e kaimanol (B).⁴⁶

O saringosterol é um composto já anteriormente isolado em espécies como *Lessonia nigrescens* e *Cystoseira foeniculaceae* e em estudos anteriores demonstrou uma potente atividade contra a tuberculose.⁴⁷

2.2.2.1. Atividade no *P. falciparum* e citotoxicidade

A sua atividade foi testada *in vitro* no *P. falciparum* 3D7, sensível à cloroquina, sendo que a artemisinina foi usada como controlo positivo (Tabela 4). Neste estudo a toxicidade não foi avaliada para ambos os compostos. Todavia, o saringosterol, noutros trabalhos, tem sido descrito como um composto com baixa toxicidade.^{46,48}

Tabela 4 - Atividade *in vitro* do kaimanol e do saringosterol e do fármaco de referência no *P. falciparum*.⁴³

Compostos	Atividade <i>in vitro</i>
	<i>P. falciparum</i> 3D7 IC ₅₀ , nM
Saringosterol	0,250
Kaimanol	359
Artemisinina	0,0052

Verifica-se que o saringosterol apresenta uma atividade bastante superior ao kaimanol no *P. falciparum* 3D7, no entanto a sua atividade é bastante inferior à da artemisinina.

2.2.2.2. Relação estrutura-atividade

Os esteróis são álcoois derivados do ciclopentanoperidrofenantreno.⁴⁹ Após a observação dos valores de IC₅₀ e visto que tanto o kaimanol como o saringosterol têm estruturas muito similares e têm uma atividade muito díspar, é necessário realizar mais testes. No entanto, segundo os autores do estudo, a grande diferença entre a atividade no *P. falciparum* parece estar associada à presença do grupo benzoílo no kaimanol. As cadeias olefínicas por sua vez não parecem ter muito impacto na atividade.⁴⁶

2.3. Esteróides 17-arilmetilamino

Em 2017 num estudo publicado por Krieg e colaboradores vários esteróides 17-arilmetilamino, juntamente com outros compostos com atividade antimalárica, foram sintetizados e caracterizados, de entre os quais destacou-se o composto designado pela equipa como “1o”, um composto com uma estrutura esteróide ligada a uma cadeia de 2-hidroxiarilmetilamino (Figura 8).³⁹

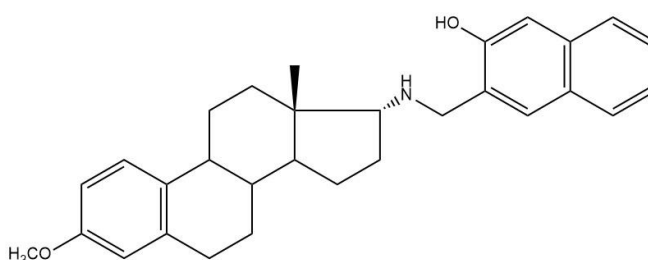
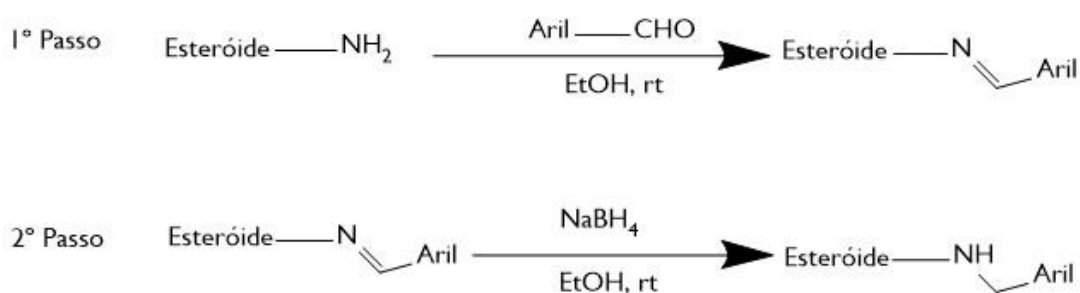


Figura 8 - Estrutura do composto 1o.³⁹

2.3.1. Síntese

O composto 1o juntamente com os outros esteróides 17-arilmetilamino caracterizados nestes estudos foram sintetizados por via da condensação de um esteróide amino com um aril-aldeído. Desta primeira reação foram obtidas bases de Schiff, que seguidamente foram reduzidas por boro hidreto de sódio, de modo a formar os compostos desejados (Esquema I).³⁹



Esquema I - Síntese dos esteróides 17-arilmetilamino.³⁹

2.3.2. Atividade no *Plasmodium sp.* e citotoxicidade

Para se ter uma melhor perceção da atividade, este composto foi avaliado *in vitro* nas estirpes 3D7, sensível à cloroquina e Dd2, resistente à cloroquina do *P. falciparum*. A artemisinina e a cloroquina foram usadas como controlo positivo (Tabela 5).

Para se averiguar a sua citotoxicidade foram utilizadas células HeLa e os resultados mostraram que não se tratava de um composto citotóxico. Quando testado num modelo de toxicidade *in vivo* também não apresentou sintomas de toxicidade.³⁹

Tabela 5 - Atividade *in vitro* do composto “Io” e dos fármacos de referência no *P. falciparum*.³⁹

Compostos	Atividade <i>in vitro</i>	
	<i>P.Falciparum</i> 3D7 IC ₅₀ , nM	<i>P. Falciparum</i> Dd2 IC ₅₀ , nM
Io	4,1	1,0
Cloroquina	8,6	90,2
Artemisinina	17,3	20,4

Segundo os valores de IC₅₀ obtidos verifica-se que o composto Io apresentou uma atividade superior à artemisinina e cloroquina e a sua atividade foi superior na estirpe resistente.

O composto Io foi também testado *in vivo* em três murganhos contaminados com *P. berghei*, sendo que, quando administrado por via intraperitoneal, todas as três cobaias onde foi testado ficaram completamente curadas. Quando administrado por via intravenosa demonstrou conseguir bloquear a transmissão do parasita para os mosquitos *Anopheles gambiae*. Para se verificar se o mesmo efeito era obtido nos gametócitos do *P. falciparum*, o composto Io foi também usado, comprovando-se uma forte redução da viabilidade dos mesmos. No entanto a sua taxa de viabilidade era menor com doses mais baixas (1 µm) do que com doses mais altas (100 µm).³⁹

Todos estes resultados mostram o quão promissor é este novo composto.

2.3.3. Propriedades farmacocinéticas

As propriedades farmacocinéticas determinadas através de um ensaio de PAMPA demonstraram que o composto Io tem uma baixa solubilidade aquosa (<1µg/ml), sendo que tal facto se deve à sua estrutura esteróide. Apresenta uma estabilidade microssomal moderada (38% remanescente após 1h de incubação com microssomas hepáticos humanos e de murganho) e uma boa estabilidade plasmática (58-62% remanescente após 3h de incubação com plasma humano e do murganho).³⁹

2.3.4. Relação estrutura-atividade

É importante referir que durante este trabalho, outros compostos foram sintetizados, no entanto, os que possuem núcleo esteróide obtiveram uma atividade superior aos que não o possuíam. Visto que as atividades biológicas encontradas foram superiores nos compostos esteróides, os resultados parecem indicar que a presença de um núcleo esteróide parece direcionar o grupo funcional para o seu local de ação.

Como já foi referido anteriormente o composto I o é constituído por um esteróide ligado em C-17 a uma cadeia de 2-hidroxiarilmetilamino. Esta cadeia pertence a uma classe de compostos antimaláricos os aminocresóis (Figura 9), em que a “amodiaquina” faz também parte deste grupo.³⁹

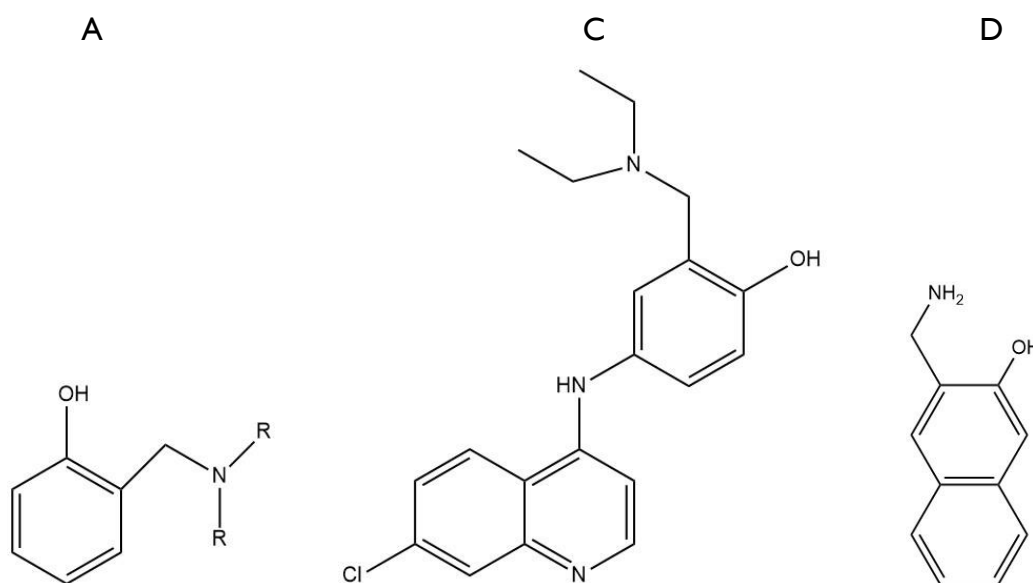


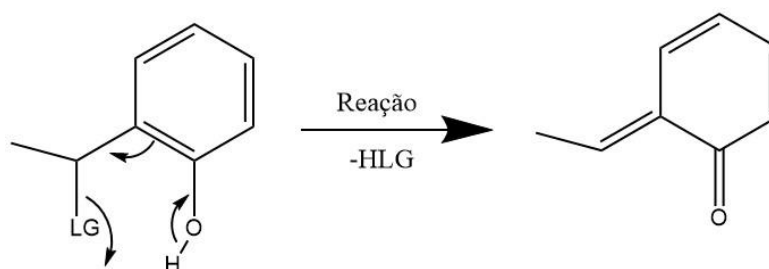
Figura 9 - Estruturas geral de um α -aminocresol (A), da amodiaquina (B), e da cadeia 2-hidroxiarilmetilamino do composto I o (D).^{39,50,51}

2.3.5. Mecanismo de ação

De forma a ter uma melhor perceção do mecanismo de ação deste composto, foi verificada a sua capacidade para formar complexos estequiométricos com o cobre (II) e o ferro (III), onde se verificou a formação de complexos estáveis.

Através de uma série de ensaios foi analisada a sua capacidade de interagir com o grupo heme, sendo que foram observadas fortes interações e a capacidade de inibir a formação de hemozoína. O composto I o apresentou melhores resultados quando comparado com a amodiaquina e cloroquina, agentes cuja atividade antimalárica está bem documentada por inibirem a formação de hemozoína.

Sabe-se ainda que a cadeia lateral, 2-hidroxiarilmetilamino, do composto I o faz parte de um conjunto de agentes que tem a capacidade de formar orto-quinonas-metídeo (Esquema 2).³⁹



Esquema 2 - Reação geral da formação de uma orto-quinona-metídeo.⁵²

As orto-quinonas-metídeo são compostos muito instáveis e reativos⁵³ e existem evidências que os seus intermediários conseguem inibir ou alterar a ação biológica de várias moléculas, através da formação de uma ligação covalente.

Sendo assim o mecanismo de ação mais provável para este composto envolve a formação de uma orto-quinona-metídeo e conseqüentemente a sua ligação à α -hematina, possivelmente interferindo com a cristalização da hemozoina.

No entanto este mecanismo de ação está sujeito a diversas preocupações durante o desenvolvimento de um possível medicamento, visto que as orto-quinonas-metídeo são altamente reativas e podem causar toxicidade, levando ao aparecimento de efeitos secundários.³⁹

2.4. Derivados de ácido fusídico

2.4.1. Ácido fusídico

O ácido fusídico (Figura 10) é um antibiótico fusidano (pequena classe de triterpenos tetracíclicos), sendo indicado para o tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina e foi isolado pela primeira vez no fungo *Fusidium coccineum*.⁵⁴

Tem como fórmula molecular $C_{31}H_{48}O_6$ e a sua estrutura esteróide inclui: - um sistema de três anéis ciclohexilo com uma conformação em cadeira-barco-cadeira, - um grupo acetato em C-16, - dois grupos hidroxilo em C-3 e C-11 e uma cadeia lateral lipofílica que contém um ácido carboxílico; sendo todas estas características importantes para a sua atividade como antibiótico. É encontrado sob a forma de pó branco ligeiramente higroscópico, sendo praticamente insolúvel em água.^{55,56,57}

O seu mecanismo de ação antibacteriano tem como base a inibição da síntese proteica. O ácido fusídico estabelece uma ligação com o complexo EF-G (GTPase fundamental à síntese de proteínas no ribossoma bacteriano) e impede que esta saia do ribossoma, afetando a síntese de proteínas.⁵⁸

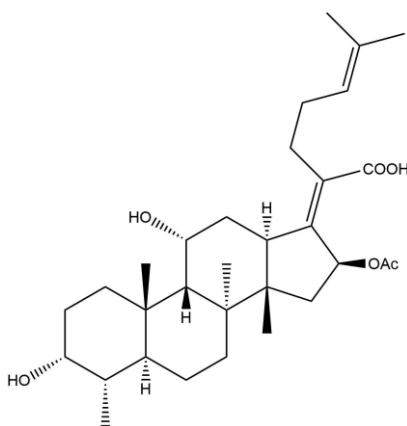


Figura 10 - Estrutura do ácido fusídico.⁵⁴

Mas para além da sua atividade bacteriana, o ácido fusídico demonstrou também ter uma atividade *in vitro* no *P. falciparum*, mas nunca foi considerado um antimalárico e pouco se conhece sobre o seu mecanismo de ação. Alguns dos valores de IC₅₀ nas estirpes de *P. falciparum* já foram documentadas: 19 µM (k1)⁵⁷ e 52,8 µM (D10)⁵⁸ e 59 µM (NF54)⁵⁹.

Num estudo realizado em 2011, duas proteínas EF-G foram identificadas como possíveis alvos do ácido fusídico no *Plasmodium sp.*, estando uma localizada na mitocôndria e outra no apicoplasto.⁵⁸

Devido ao possível potencial do ácido fusídico no combate à malária recentemente vários derivados têm sido sintetizados e caracterizados de forma a obter uma atividade antimalárica satisfatória, como é o caso de ésteres e amidas derivadas do mesmo.

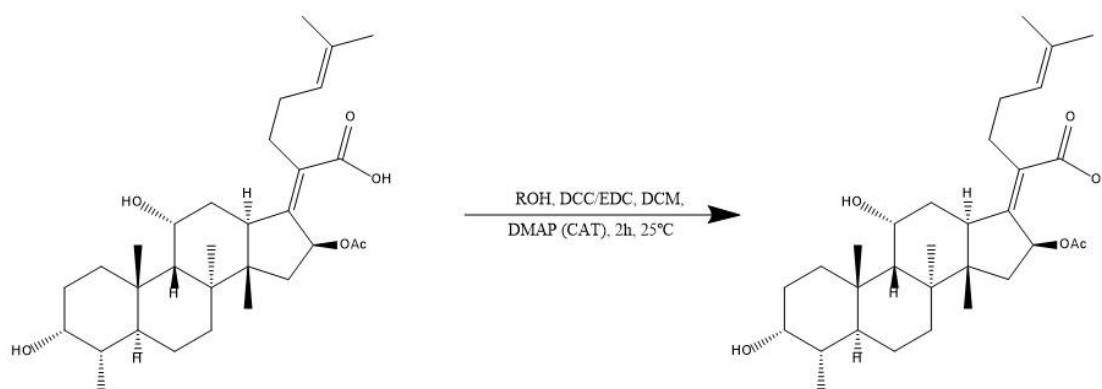
2.4.2. Ésteres do ácido fusídico

Num trabalho publicado recentemente vários ésteres foram sintetizados substituindo o grupo carboxílico do ácido fusídico por um grupo alifático ou um anel aromático.⁵⁷

2.4.2.1. Síntese

Os derivados ésteres que vão ser apresentados na Figura 11 e 12 e na Tabela 6 são resultantes da reação do ácido fusídico com um álcool (ROH), a N,N'-d ciclohexilcarbodiimida

é usada como reagente de acoplamento na formação de ésteres arílicos e a 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida na formação de ésteres alifáticos, nesta reação está presente também a 4-dimetilaminopiridina que vai atuar como um catalisador nucleofílico.⁵⁷



Esquema 3 - Reação de esterificação do ácido fusídico.⁵⁷

2.4.2.2. Atividade no *P. falciparum* e citotoxicidade

Todos os derivados sintetizados foram avaliados *in vitro* quanto à sua atividade nas estirpes de *P. falciparum* NF54, sensível à cloroquina e na *P. falciparum* KI, multirresistente.

A citotoxicidade do mesmo foi avaliada em células de ovário de hamster chinês (CHO), sendo que os compostos apresentaram uma citotoxicidade reduzida. Os valores de IC₅₀ e as estruturas dos derivados mais relevantes estão na Figura 12 e na Tabela 6. Como referência foi utilizada a cloroquina e o artesunato.⁵⁷

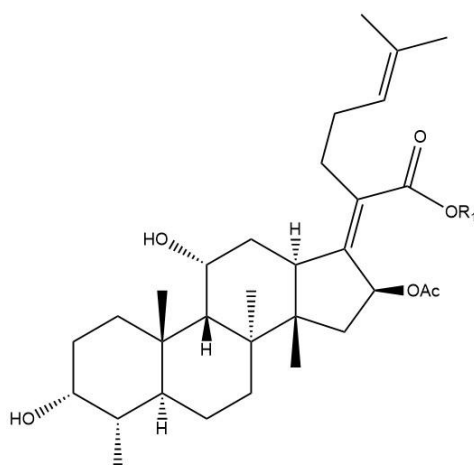


Figura 11 - Estrutura dos ésteres do ácido fusídico.⁵⁷

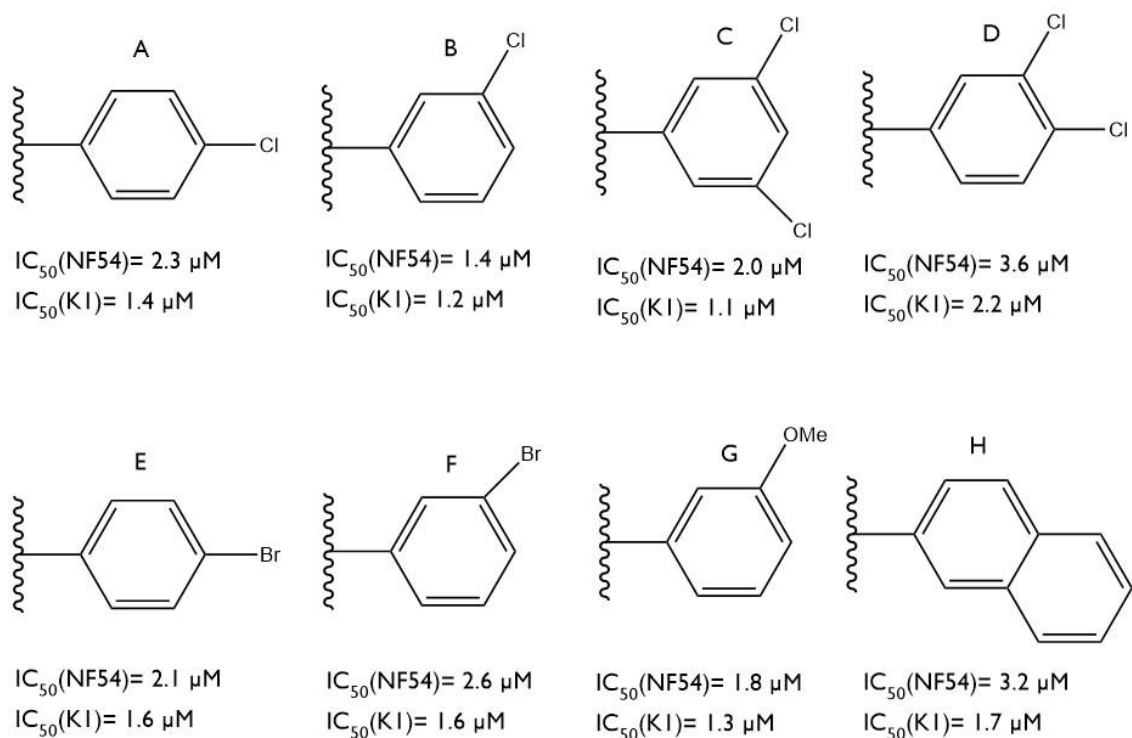


Figura 12 - Atividade *in vitro* dos compostos aromáticos formados por esterificação do ácido fusídico em R₁ no *P. falciparum*.⁵⁷

Tabela 6 - Atividade *in vitro* dos ésteres alifáticos formados por esterificação do ácido fusídico em R₁ e dos compostos de referência no *P. falciparum*.⁵⁷

Substituintes R I	Atividade <i>in vitro</i>	
	<i>P. falciparum</i> NF54 IC ₅₀ , μM	<i>P. falciparum</i> KI IC ₅₀ , μM
CH ₂ CH ₃	3,4	2,2
(CH ₂) ₃ CH ₃	2,9	1,5
(CH ₂) ₇ CH ₃	4,6	1,6
(CH ₂) ₁₁ CH ₃	>100	>14,6
(CH ₂) ₁₃ CH ₃	>100	>14,0
(CH ₂) ₁₅ CH ₃	>100	>13,5
Cloroquina	0,0256	0,0360
Artesunato	0,0093	0,0026

2.4.2.3. Relação estrutura-atividade

Dos vários compostos caracterizados neste estudo, destacam-se os representados na Figura 12 e na Tabela 6 por apresentarem valores de IC_{50} mais favoráveis nas duas estirpes do *P. falciparum*, e também porque permitem fazer uma comparação da sua estrutura.

Nos ésteres aromáticos sintetizados na Figura 12 verificou-se que os compostos com um cloro no anel aromático (B) foram os que apresentaram melhores valores de IC_{50} , mas comparando com os outros substituintes R_1 as diferenças apresentadas não foram significativas. O composto G apresenta um anel aromático, com um grupo O-metilo, doador de elétrons tendo sido o segundo melhor classificado.

Averiguou-se também que houve pequenas alterações no valor IC_{50} na presença de alterações do grupo substituinte de “para” para “meta”, como é o caso do cloro e do bromo (grupos substituintes A, B, E e F), mas sem grande relevância.

Os compostos di-substituídos com dois cloros (C e D) não apresentaram vantagem comparando com o composto B, mas a alteração da posição dos cloros, modifica ligeiramente a atividade. No “composto H” a alteração do anel aromático por um grupo naftil não acrescentou benefício ao resto dos compostos apresentados.

Nos compostos aqui apresentados pode-se concluir que nos ésteres arílicos os vários grupos substituintes avaliados e a sua posição não parecem ter um grande impacto na sua atividade, no entanto dentro dos ésteres alifáticos na Tabela 7, observa-se que quanto maior a cadeia alifática, menor é a sua atividade nas estirpes NF54 e KI.⁵⁷

Os ésteres formados têm uma atividade bastante inferior aos compostos de referência (cloroquina e artesunato), mas, no entanto, apresentam uma atividade muito superior ao ácido fusídico (cerca de 19-25 vezes superior), quando comparados os valores de IC_{50} nas mesmas estirpes do parasita.

2.4.3. Amidas do ácido fusídico

Recentemente para a identificação de duas amidas do ácido fusídico muito promissoras foi utilizada uma abordagem 3D-QSAR.⁵⁶

A QSAR em termos de “design” de moléculas é um método que elabora modelos matemáticos e tem como objetivo encontrar estatisticamente uma relação significativa entre a estrutura e as suas propriedades como: -a afinidade, - a atividade, - a toxicidade e outras

constantes. O 3D-QSAR tal como o nome indica é uma extensão do QSAR e avalia também as propriedades tridimensionais, para prever a atividade dos compostos.

De forma simplificada o modelo 3D-QSAR, compara num grupo de compostos, as propriedades dos grupos funcionais que são essenciais para a sua atividade biológica. Seguidamente o modelo é aprovado e é usado para identificar novas moléculas, com uma boa atividade, através da análise numa biblioteca de compostos.⁶⁰

Para se identificarem estes dois novos compostos aminados no carbono 21 do ácido fusídico, foram elaborados modelos 3D-QSAR onde foram usados vários derivados de ácido fusídico previamente sintetizados e tiveram como base a avaliação da atividade no *Plasmodium falciparum*.⁵⁶

2.4.3.1. Síntese

Após as estruturas terem sido obtidas por um modelo 3D-QSAR, as duas amidas (Figura 13) foram sintetizadas a partir de uma reação de ácido fusídico com uma amina (Esquema 4), a estrutura do derivado final está dependente da estrutura da amina. O reagente trietilamina foi usado como base para iniciar o processo de acoplamento do ácido fusídico com o anidrido do ácido propilfosfónico. No fim do processo de “coupling” o grupo carboxílico do ácido fusídico reage com a respetiva amina, dando origem aos derivados.^{56,61}



Esquema 4 - Reação de amidização do ácido fusídico.⁵⁶

2.4.3.2. Atividade no *P. falciparum* e citotoxicidade

As suas atividades foram avaliadas in vitro nas estirpes de *P. falciparum* NF54, sensível à cloroquina e na *P. falciparum* KI, multirresistente. O artesunato foi usado como referência (Tabela 7). A citotoxicidade dos derivados foi avaliada em células do ovário de hamster chinês

(CHO), os compostos não apresentaram sinais de citotoxicidade e foram considerados relativamente não citotóxicos.⁵⁶

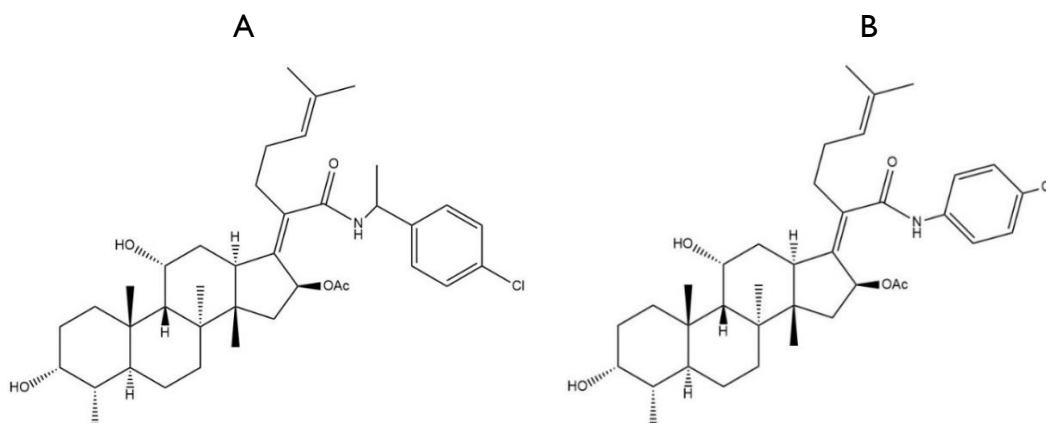


Figura 13 - Estruturas das amidas A e B do ácido fusídico.⁵⁶

Tabela 7 - Atividade *in vitro* das amidas derivadas do ácido fusídico e dos compostos de referência no *P. falciparum*.⁵⁶

Compostos	Atividade <i>in vitro</i>	
	<i>P. falciparum</i> NF54 IC ₅₀ , μM	<i>P. falciparum</i> KI IC ₅₀ , μM
Amida A	0,3	0,2
Amida B	0,7	0,2
Artesunato	0,004	0,002
Cloroquina	0,016	0,215

A amida A apresentou uma atividade ligeiramente melhor que a amida B, no entanto a sua estrutura é muito similar. Na amida A a molécula de ácido fusídico está ligada a um grupo N-1-(4-clorofenil) etilo e na amida B a um grupo N-(4-clorofenilo).⁵⁶

As duas amidas derivadas do ácido fusídico obtidas por 3D-QSAR, têm atividades bastante inferiores aos compostos de referência (apenas é comparável à atividade da cloroquina na estirpe multirresistente) quando avaliados nas mesmas condições. No entanto os seus valores de IC₅₀ são muito superiores ao do ácido fusídico (IC₅₀ 59 μM⁵⁹ (NF54) e 19 μM (KI)).⁵⁷

2.5. Híbridos de artesunato

Moléculas híbridas podem ser definidas como uma entidade química com dois ou mais domínios estruturais que possuem uma atividade biológica diferente, ou seja um composto em que dois farmacóforos estruturais ligados por uma ligação covalente podem atuar em alvos farmacológicos diferentes.

Alguns estudos têm demonstrado que compostos híbridos com dois domínios e que atuam em locais diferentes, têm sido uma boa alternativa para o tratamento de doenças nas quais ocorrem problemas de resistência.⁶²

2.5.1. Híbrido artesunato-tumacona B

Dito isto uma equipa de investigação na Colômbia recentemente sintetizou um híbrido unindo uma molécula de artesunato (Figura 14), um derivado semissintético da artemisinina, a uma molécula de tumacona B através de uma ligação covalente.⁶³

A tumacona B é um composto esteróide isolado da planta *S. nudum*, que está distribuída por toda a Colômbia, a qual já foi alvo de investigação⁶⁴ uma vez que apresentou eficácia em inibir as estirpes 7G8⁶³ e FCB-2⁶⁵, resistentes à cloroquina, do *P. falciparum*. A sua estrutura (Figura 14) possuiu uma cadeia lateral com um grupo hidroxilo o que a torna reativa, sendo necessária para a formação do híbrido e um grupo carbonilo α, β -insaturado presente no anel A do núcleo esteróide, que demonstrou noutros estudos estar relacionado com uma melhor atividade antimalárica^{63,66}.

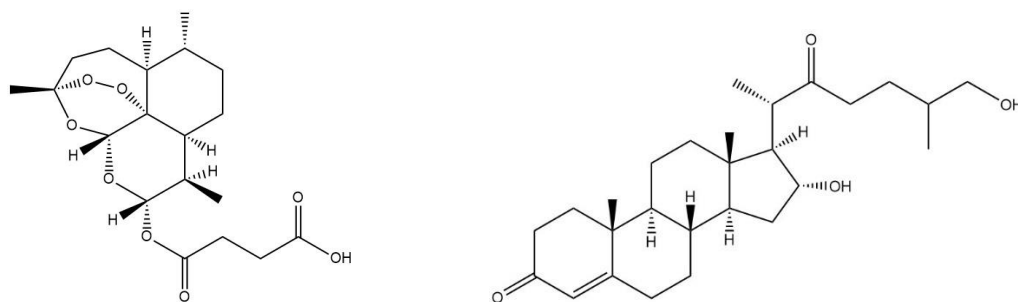


Figura 14 - Estrutura do artesunato (esquerda) e da tumacona B (direita).⁶³

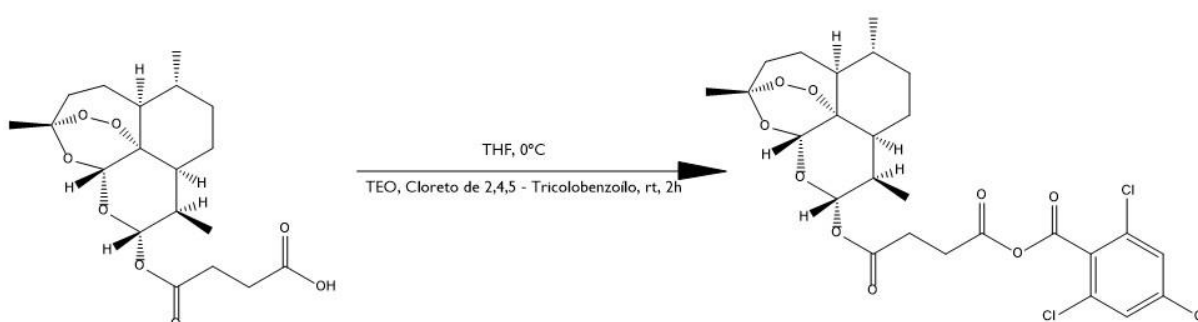
2.5.1.1. Síntese

A síntese do híbrido é feita a partir de uma esterificação entre o grupo carboxilo do artesunato e o grupo hidroxilo da cadeia lateral do tumacona B (Esquema 6-B e Figura 15).

Seguiu-se um procedimento de esterificação yamaguchi, em que o reagente yamaguchi (cloreto de 2,4,6- triclorobenzoílo) foi usado como “coupling agent” de forma a facilitar um ataque nucleofílico por parte do álcool da cadeia lateral do tumacona B (Esquema 5), resultando na formação de uma ligação éster entre os dois compostos.

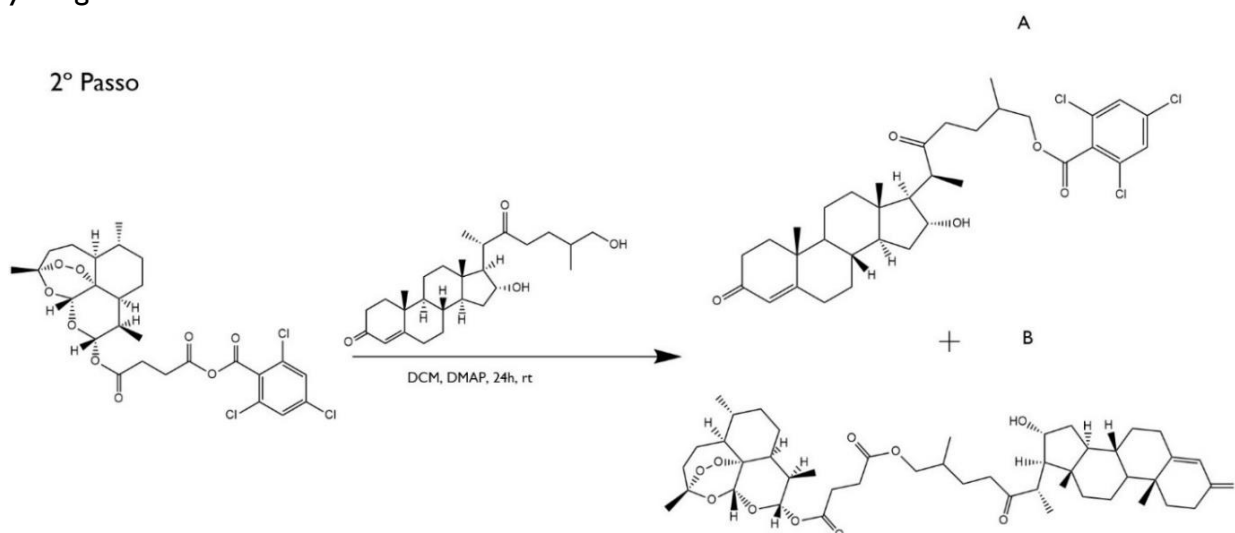
No entanto um outro éster de estrutura esteróide foi também formado (Esquema 6-A e Figura 16), do ataque nucleofílico do hidroxilo da cadeia lateral do tumacona B com o reagente de yamaguchi que se encontrava em excesso na reação.⁶³

1º Passo



Esquema 5 - Reação da síntese do intermediário entre o artesunato e o reagente yamaguchi.⁶³

2º Passo



Esquema 6 - Reação da síntese do híbrido artesunato-tumacona B.⁶³

2.5.1.2. Atividade no *P. falciparum* e citotoxicidade

A ligação éster entre os dois compostos é hidrolisável o que torna este híbrido (Figura 15) num pro-fármaco, em que a sua atividade é maior após sofrer metabolização.⁶³

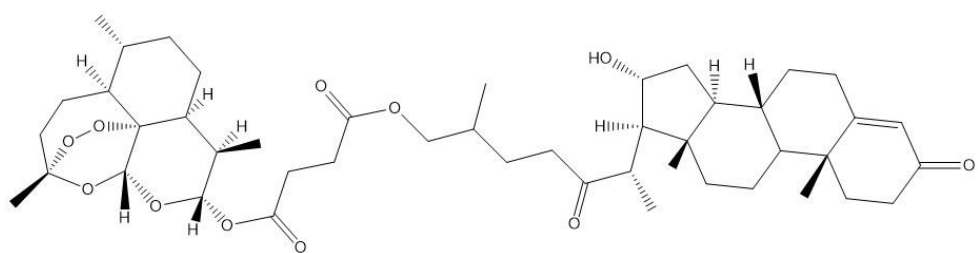


Figura 15 - Estrutura do híbrido artesunato-tumacona B.⁶

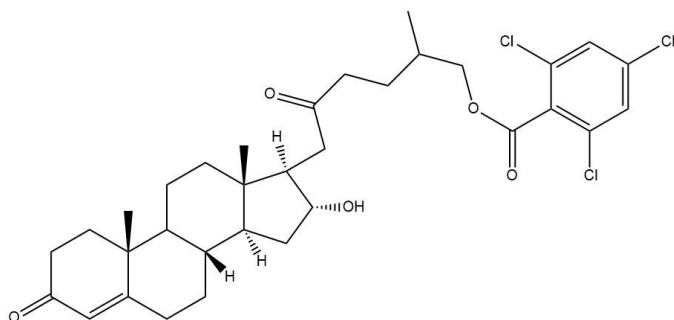


Figura 16 - Estrutura do éster formado entre o reagente de yamaguchi e o tumacona B.⁶³

A atividade de ambos o composto formado foi avaliada *in vitro* nas estirpes FCR3, resistentes à cloroquina, e 3D7, sensíveis à cloroquina, do *P. falciparum* (Tabela 8). A sua citotoxicidade foi também avaliada na linhagem celular HepG2. Ambos os compostos formados foram considerados não citotóxicos, o híbrido artesunato-tumacona B apresentou uma citotoxicidade inferior à do artesunato.⁶³

Tabela 8 - Atividade *in vitro* do híbrido e do éster formados e dos compostos de referência no *P. falciparum*.⁶³

Composto	Atividade <i>in vitro</i>	
	<i>P. falciparum</i> FCR3 IC ₅₀ , μM	<i>P. falciparum</i> 3D7 IC ₅₀ , μM
Híbrido Artesunato-Tumacona B	0,0059	0,0044
Éster Tumacona B-Yamaguchi	0,0445	0,0410
Tumacona B	60,6	53,9
Cloroquina	0,1380	0,0111
Artesunato	0,0025	0,0020

Após analisar os resultados obtidos dos ensaios *in vitro* podemos verificar que o composto formado inesperadamente entre o tumacona B e o reagente de Yamaguchi, apresentou uma atividade bastante superior ao tumacona B e à cloroquina na estirpe FCR3.

O híbrido de artesunato-tumacona B demonstrou uma atividade na mesma ordem que o artesunato e uma atividade muito superior ao tumacona B. É importante referir também que este apresentou uma atividade vinte e três vezes superior quando comparado com a cloroquina em estirpes resistentes como o FCR3. No entanto a sua atividade deverá ser investigada mais profundamente em estudos com estirpes de *P. falciparum* resistentes à artemisinina e seus derivados, visto este híbrido poder ser uma boa alternativa aos derivados de artemisinina que são usados nos tratamentos atualmente.⁶³

2.5.2. Híbrido artesunato-estradiol

Num trabalho realizado por Fröhlich e colaboradores em 2018, foram desenvolvidos vários híbridos a partir de derivados de estrogénios e de artemisinina, com o objetivo de obter compostos eficazes no tratamento do cancro da mama, com uma ação no *P. falciparum* e no citomegalovírus. Dos vários híbridos sintetizados neste trabalho, destaca-se um composto que apresentou uma atividade muito promissora no *P. falciparum*.

Este composto foi obtido através da formação de uma ligação covalente entre o artesunato e uma amina do 3-metoxi-estradiol (Figura 17). A presença do grupo carboxílico no artesunato facilita a ligação ao estradiol, permitindo a hibridização.⁶⁷

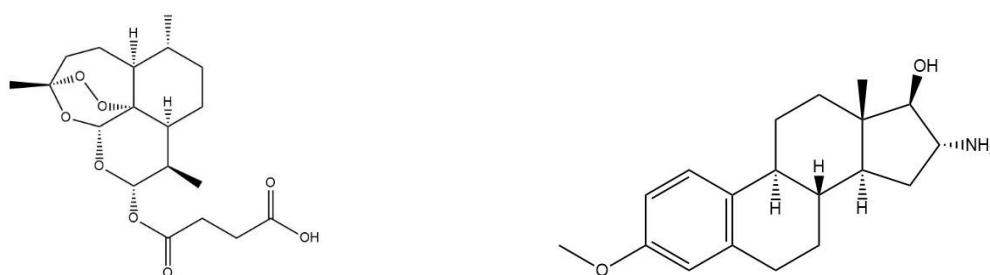


Figura 17 - Estrutura do artesunato (esquerda) e do derivado do 3-metoxi-estradiol (direita).⁶⁷

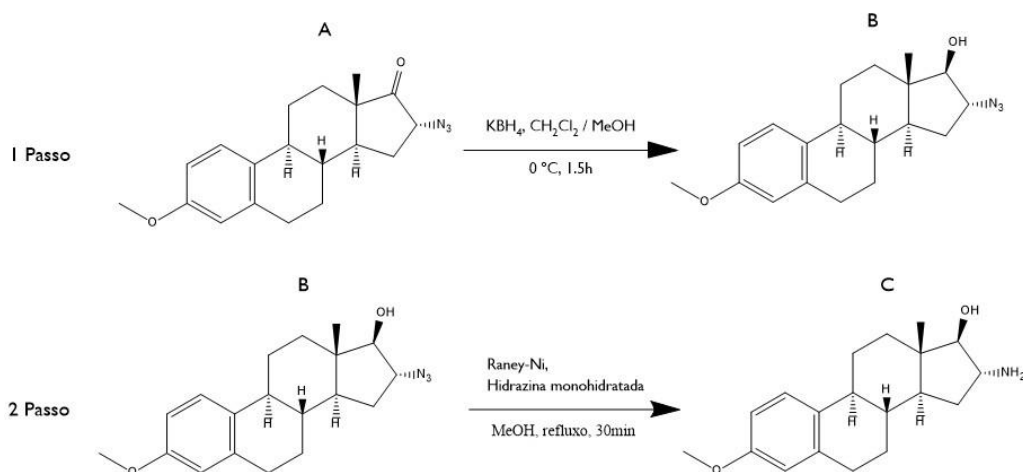
2.5.2.1. Síntese

2.5.2.1.1. Derivado do 3-metoxi-estradiol

Para a síntese da amina que é necessária para a formação do híbrido recorre-se a uma reação de dois passos (Esquema 7). No primeiro passo com o objetivo de sintetizar com maior

abundância o isômero 16 α -Azido 17 β -estradiol 3-metil éter (B), usa-se o boridreto de potássio para reduzir o 16 α -azido estrona 3-metil éter (A).

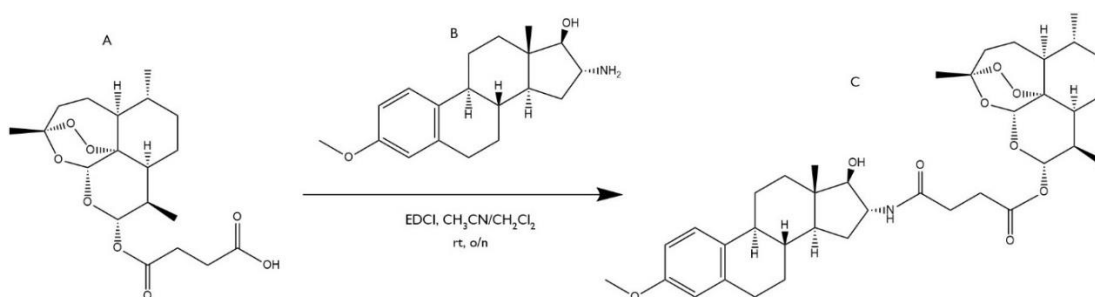
No segundo passo, o isômero formado anteriormente (B) é convertido no derivado do 3-metoxi-estradiol (C), através de uma redução com hidrazina mono-hidratada e catalisada com o níquel Raney.⁶⁷



Esquema 7 - Síntese do derivado do 3-metoxi-estradiol.⁶⁷

2.5.2.1.2. Híbrido de artesunato-estradiol

O híbrido de artesunato (Figura 18) foi preparado a partir de uma reação de amidização (Esquema 8) entre o derivado obtido (B) e artesunato (A). A reação foi conduzida à temperatura ambiente, a 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida foi usada como agente de acoplamento e obteve-se o híbrido de artesunato-estradiol (C).⁶⁷



Esquema 8 - Síntese do híbrido de artesunato-estradiol.⁶⁷

2.5.2.2. Atividade no *P. falciparum* e citotoxicidade

O grupo metoxi presente no C-3 do derivado de 3-metoxi-estradiol, tem como função diminuir a afinidade deste composto para os recetores de estrogénios, reduzindo desta forma os efeitos secundários.

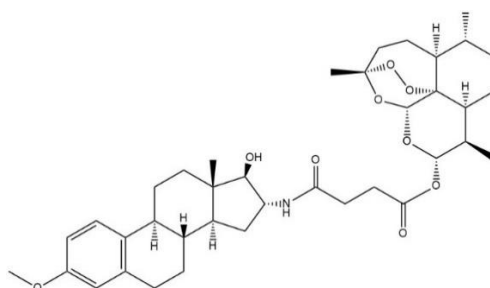


Figura 18 - Estrutura do híbrido de artesunato.⁶⁷

Para ser avaliado quanto à sua eficácia como antimalárico, este composto foi investigado *in vitro* no *P. falciparum* 3D7, sensível à cloroquina. Como meio de comparação foram usados os fármacos: cloroquina, di-hidroartemisina e artesunato (Tabela 9). A citotoxicidade também foi avaliada, através de monitorização microscópica, mas não foram encontrados sinais da mesma.⁶⁷

Tabela 9 - Atividade *in vitro* do híbrido de artesunato-estradiol formado e dos compostos de referência no *P. falciparum*.⁶⁷

Composto	Atividade <i>in vitro</i>
	<i>P. falciparum</i> 3D7 IC ₅₀ , nM
Híbrido de artesunato-estradiol	3,8
Artesunato	8,9
Cloroquina	9,8
Di-hidroartemisina	2,4

Pode verificar-se que este híbrido formado tem uma atividade duas vezes superior ao do artesunato e à da cloroquina e tem uma atividade comparável à di-hidroartemisina, o que o torna num composto muito promissor.

Quando comparado com os outros compostos sintetizados neste trabalho com um grupo benziloxi em C-3 verificou-se que a presença do grupo metoxi em C-3 permite obter uma melhor atividade. Segundo os autores este resultado pode ser explicado pelo facto do grupo benziloxi tornar a molécula muito mais lipofílica e conseqüentemente diminuir a sua entrada para dentro do vacúolo do parasita.⁶⁷

3. Considerações Finais

Durante este trabalho foram analisados diversos compostos esteróides com atividade no *P. falciparum*: compostos naturais, esteróides 17-arilmetilamino, derivados de ácido fusídico e híbridos de artesunato. Após esta análise verifica-se que inúmeras estratégias envolvendo um esqueleto de esteróides estão neste momento a ser estudadas de forma a obter novos fármacos para o tratamento do paludismo. Mas estas novas moléculas estão ainda numa fase muito precoce e necessitam de mais estudos, podendo, no entanto, ser destacadas algumas estratégias / moléculas como perspectivas futuras:

- a ligação de um grupo funcional ao grupo carboxílico do ácido fusídico de modo a obter uma boa atividade antimalárica, visto que o grupo carboxílico livre não apresenta nenhuma vantagem;

- a síntese de híbridos de derivados de artemisina, que como verificámos foram dos compostos que apresentaram das melhores atividades entre os agentes aqui apresentados, além de que podem ser sintetizados de modo a ter dois ou mais farmacóforos diferentes de forma a responder eficazmente ao combate de resistências;

- ter como base a utilização de um núcleo esteróide em moléculas futuras não só para antimaláricos, mas também para outros compostos, dado que devido à sua lipofília, há uma passagem a nível celular mais facilitada, que pode ter como resultado direcionar a molécula para o alvo pretendido e desta forma obter compostos com uma maior atividade.

Há que referir que toda a base das estratégias/moléculas aqui apresentadas foca-se nos compostos naturais. Estes por sua vez são agentes importantíssimos, visto que não só podem ser eficazes no combate ao *Plasmodium sp.* como servem como um composto base, na formulação de novas moléculas através da análise farmacodinâmica, farmacocinética e de outras propriedades com o objetivo de as otimizar. Como é o caso dos esteróides 17-arilmetilamino que tiveram como base a sarachina, isolada da *Saraca punctate*; os derivados do ácido fusídico, um antibiótico natural isolado pela primeira vez num fungo *Fusidium coccineum*; e os híbridos de artesunato que derivaram da artemisinina extraída da *Artemisia annua*.

Finalmente poder-se-á sugerir que o “composto 1o” esteróide 17-arilmetilamino e o híbrido artesunato-estradiol foram os agentes mais relevantes e possíveis candidatos a fármacos antimaláricos uma vez que apresentaram atividades muito superiores mesmo quando comparados com os fármacos de referência.

Bibliografia

- 1- ANTINORI, S., GALIMBERTI, L., MILAZZO, L., CORBELLINO, M. - **Biology of Human Malaria Plasmodia Including *Plasmodium Knowlesi***. Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis. 4 (1) (2012).
- 2- WHO. - **Malaria** (Acedido dia 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
- 3- CDC. - **Malária: lifecycle** (Acedido dia 15 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://www.cdc.gov/malaria/about/biology/index.html>
- 4- HOWICK, V. M., RUSSELL, A. J. C., ANDREWS, T., HEATON, H., REID, A. J., NATARAJAN, K., BUTUNGI, H., METCALF, T., VERZIER, L. H., RAYNER, J. C., BERRIMAN, M., HERREN, J. K., BILLKER, O., HEMBERG, M., TALMAN, A. M., LAWNICZAK, M. K. N. - **The Malaria Cell Atlas: Single parasite transcriptomes across the complete *Plasmodium* life cycle**. Science 364 (774) (2019) 1-11.
- 5- COWMAN, A. C., HEALER, J., MARAPANA, D., MARSH, K. - **Malaria: Biology and Disease**. Cell 167 (2016) 610-624.
- 6- SHAHINAS, D., FOLEFOC, A., PILLAI, D. R. - **Targeting Plasmodium falciparum Hsp90: Towards Reversing Antimalarial Resistance**. Pathogens (2013) 33-54.
- 7- CORONADO, M. LORENA., NADOVICH, T. CHRISTOPHER., SPADAFORA, CARMENZA. - **Malarial hemozoin: From target to tool**. Biochim. Biophys. Act. 1840 (2014) 2032-2041.
- 8- MARENCO-ROWE, AJ. - **Structure-function relations of hemoglobins of human hemoglobins**. Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.) 19 (2006) 239-245.
- 9- EGAN, TIMOTHY J. - **Haemozoin formation**. Mol. Biochem. Parasit. 157 (2008) 127-136.
- 10- MURATA, E. CHRISTINA., GOLDBERG, E. DANIEL. - **Plasmodium falciparum Falcilysin**. J.B.C. 278 (39) (2003) 38022-28028.
- 11- DEEPALI, B., KHANDARE, A. V., DEVAL, M., SHASTRY, P., DESHPANDE, P. - **Hemozoin-induced activation of human monocytes toward M2-like phenotype**

is partially reversed by antimalarial drugs - chloroquine and artemisinin. *Microbiologyopen* 8 (2018) 1-13.

- 12- EUGENIO, A. E., MARTINEY, A. J., BERMAN W. J. - **The malaria toxin hemozoin induces apoptosis in human neurons and astrocytes: Potential role in the pathogenesis of cerebral malaria.** - *Brain Res.* 1720 (2019) 146317.
- 13- KLONIS, N., DILANIAN, R., HANSEN, E., DARMANIN, C., STRELTSOV, V., DEED, S., QUINEY, H., TILLEY, L. - **Hematin-Hematin Self-Association States Involved in the Formation and Reactivity of the Malaria Parasite Pigment, Hemozoin.** *Biochemistry* 49 (31) (2010) 6804-6811.
- 14- RIFAIE-GRAHAM, O., POLLARD, J., RACCIO, S., BALOG, S., RUSCH, S., HERNÁNDEZ-CASTAÑEDA, M., MANTEL, P., BECK, H., BRUNS, N., - **Hemozoin-catalyzed precipitation polymerization as an assay for malaria diagnosis.** - *Nat. Commun.* 1396 (2019) 1-7.
- 15- MESA. - **Drugs targeting erythrocytic and exoerythrocytic stages of malaria** (acedido dia 7 de julho de 2019). Disponível na internet: <https://mesamalaria.org/mesa-track/drugs-targeting-erythrocytic-and-exoerythrocytic-stages-malaria>
- 16- JOSHI, M., MUJAWAR, S. - **Exploring the pre-erythrocytic stage of the malaria parasite for possible target proteins to develop an effective vaccine and looking into available preventive measures against malaria: Can SPECT & SPECT2 act as potential targets for an effective vaccine?.** - *I.J.C.B* 5 (1) (2016) 88-94.
- 17- WHO. - **Overview of malaria treatment** (acedido dia 10 de julho de 2019). Disponível na internet: <https://www.who.int/malaria/areas/treatment/overview/en/>
- 18- DURAISINGH, M. T., DRAKELEY, C. J., MULLER, O., BAILEY, R., SNOUNOU, G., TARGETT, G. A. T., GREENWOOD, B. M., WARHURST, D. C. - **Evidence for selection for the tyrosine-86 allele of the pfmdr I gene of Plasmodium falciparum by chloroquine and amodiaquine.** *Parasitology* 114 (3) (1997) 205- 211.
- 19- KUMAR, S., GUHA, M., CHOUBEY, V., MAITY, P., BANDYOPADHYA, U. - **Antimalarial drugs inhibiting hemozoin (β -hematin) formation: A mechanistic update.** *Life Sci.* 80 (9) (2007) 813-828.

- 20- PATEL, A., LODHA, A., CHAUDHURI, J., JADIA, P., JOSHI, T., DALAL, J. - **Formulation, process development and evaluation of artemether and lumefantrine softgelatin capsule.** Pharm. Bioallied. Sci. (2012) 98-100.
- 21- TEKWANI, B. L., WALKER, A. L. - **8-Aminoquinolines: future role as antiprotozoal drugs.** Curr. Opin. Infect. Dis. 19 (6) (2006) 623-631.
- 22- KESSL, J. J., HA, H. K., MERRITT, A. K. - **Molecular basis of Toxoplasma gondii atovaquone resistance modeled in Saccharomyces cerevisiae.** Mol. Biochem. Parasit 146 (2006) 255-258.
- 23- NZILA A. M., NUDATI, E., MBERU, E. K., HOPKINS S. C., MONKS, S. A., WINSTANLEY, P. A., WATKINS, W. M. - **Molecular Evidence of Greater Selective Pressure for Drug Resistance Exerted by the Long-Acting Antifolate Pyrimethamine/Sulfadoxine Compared with the Shorter-Acting Chlorproguanil/Dapsone on Kenyan Plasmodium falciparum.** J. Infect. Dis. 181 (6) (2000) 2023-2028.
- 24- IMRAN, M., SHAFI, H., MAHMOOD, Z., SARWAR, M., USMAN, H. F., TAHIR, M. A., ASHIQ, M. Z. - **Fatal Intoxications Due to Administration of Isosorbide Tablets Contaminated with Pyrimethamine.** J. Forensic. Sci. 61 (5) (2016) 1382-1385.
- 25- GOVIND, V., BABU, R. N., RAO, V. A., SRIRAM, P., KUMAR, T. M. A. S. - **Determination of sulfadoxine residues in poultry meat by liquid chromatography and tandem mass spectrometry.** J. Entomol. Zool. Stud 6 (2) (2018) 2580-2584.
- 26- TEOH, K. H., POLICHUK, D. R., REED, D. W., NOWAK, G., COVELHO, P. S. - **Artemisia annua L. (Asteraceae) trichome-specific cDNAs reveal CYP71AV1, a cytochrome P450 with a key role in the biosynthesis of the antimalarial sesquiterpene lactone artemisinin.** FEBS Letters 580 (5) (2006) 1411-1416.
- 27- MESHNICK, S. R - **Artemisinin: mechanisms of action, resistance and toxicity.** Int. J. Parasitol. 31 (13) (2002) 1655-1660.
- 28- SAPADIN, A. N., FLEISCHMAJER, R. - **Nonantibiotic properties and their clinical implications.** J. Am. Acad. Dermatol 54 (2) (2006) 258-265.
- 29- DRUGNAK. - **Tetracycline** (Acedido dia 17 de julho de 2019). Disponível na internet: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00759>

- 30- TENSON, T., LOVMAR, M., EHRENBERG, M. - **The Mechanism of Action of Macrolides, Lincosamides and Streptogramin B Reveals the Nascent Peptide Exit Path in the Ribosome.** J. Mol. Biol. 330 (5) (2003) 1005-1014
- 31- WONGSRICHANALAI, C., PICKARD, A. L., WERNSDORFER, W. H., MESHNICK, S, R. - **Epidemiology of drug-resistant malaria.** Lancet. Infect. Dis. 2 (4) (2002) 209-218.
- 32- GABRYSZEWSKI, A. J., MODCHANG, C., MUSSET, L., CHOOKAJORN, T., FIDOCK, D. A - **Combinatorial Genetic Modeling of *pfprt*-Mediated Drug Resistance Evolution in *Plasmodium falciparum*.** – Mol. Biol. Evol. 33(6) (2016) 1554-1570.
- 33- BLASCO, B., LEROY, D., FIDOCK, D. A., - **Antimalarial drug resistance: linking *Plasmodium falciparum* parasite biology to the clinic.** Nat. Med. 23 (8) (2017) 917-928.
- 34- COWELL, N. A., WINZELER, E. A. - **The genomic architecture of antimalarial drug resistance.** Brief. Duct. Genomics. 00 (00) (2019) 1-15.
- 35- HALDAR, K., BHATTACHARJEE, S., SAFEUKUI, I., - **Drug resistance in *Plasmodium*.** Nat. Rev. 16 (3) (2018) 156-170.
- 36- SPARKMAN, O. D., PENTON, Z. E., KITSON, F. G. - **Gas Chromatography and Mass Spectrometry.** 2nd edition. Academic Press, 2011. ISBN 978-0-12-37328-4
- 37- OUELLETE, R.J.; RAWN, J.D. - **Organic Chemistry.** 1st edition. Elsevier, 2014. ISBN 978-0-12-800780-8
- 38- NARGORNY, P.; CICHOWICZ, N. - **New Strategy Based on Sequential Michael/Aldol Reactions for the Asymmetric Synthesis of Cardenolides.** In: HARMATA, M. - Strategies and Tactics in Organic Synthesis. 1st Edition. Academic Press. 2016. ISBN: 978-0-08-100756-3 pg 237-267.
- 39- KRIEG, R., JORTZIK, E., GOETZ, A., BLANDIN, S., WITTLIN, S., ELHABIRI, M., RAHBARI, M., NURYEVA, S., VOIGT, K., DAHSE, H., BRAKHAGE, A., BECKMANN, S., QUACK, T., GREVELDING, C.G., PINKERTON, A.B., SCÖHNECKER, B., BURROWS, J., DAVIOUD-CHARVET, E., RAHLFS, S., BECKER, K. - **Arylmethylamino steroids as antiparasitic agentes.** Nat. Commun. (2017) 1-12.
- 40- ACHAN, J., TALISUNA, A., ERHART, A., YEKA, A., TIBENDERANA, J., BALIRAINÉ, F., ROSENTHAL, P., D’ALESSANDRO, U., - **Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria.** - Malar. J. 10(44) 2011 1-12.

- 41- KONG, L.Y., TAN, R.X. - **Artemisinin, a miracle of traditional Chinese medicine.** Nat. Prod. Res. 32 (12) (2015) 1617-1621.
- 42- MORETTI, C., SAUVAIN, M., LAVAUD, C., MASSIOT, G., BRAVO, J. A., MUÑOZ, V. - **A Novel Antiprotozoal Aminosteroid from *Saracha punctata*** - J. Nat. Prod. 61 (11) (1998) 1390-1393.
- 43- CHEENPRACHA, S., BOAPUN, P., LIMTHARAKUL, T., LAPHOOKHIE, S., PYNE, S. G. - **Antimalarial and cytotoxic activities of pregnenetype steroidal alkaloids from *Holarrhena pubescens* roots.** Nat. Prod. Res. (2017) 1-7.
- 44- SIDDIQUI, B. S., USAMANI, S. B., BEGUM, S., SIDDIQUI, S. - **Steroidal alkaloids and an androstane derivative from the bark of *holarrhena pubescens*.** Phytochemistry 33 (4) (1993) 925-928.
- 45- WORMS. **Taxon details - *Xestospongia* Laubenfels** (acedido dia 15 de julho de 2019). Disponível na internet: <http://marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=131849>
- 46- MURTIHAPSARI, M., SALAM, S., KURNIA, D., DARWATI, D., KADARUSMAN, K., ABDULLAH, F.F., HERLINA, T., HUSNA, M. H., AWANG, KHALIJAH., SHIONO, Y., AZMI, M.N., SUPRATMAN, U. - **A new antiplasmodial sterol from Indonesian marine sponge, *Xestospongia* sp.** Nat. Prod. Res. (2019) 1-8.
- 47- SOUZA, N., VINICIUS, M., - **Marine Natural Products Against Tuberculosis.** Sci. World J. 6 (2006) 874-861.
- 48- LEE, J. A., CHO, Y. R., HONG, S. S., AHN, E. K. - **Anti-Obesity Activity of Saringosterol Isolated from *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt Extract in 3T3-L1 Cells.** Phytother. Res. 31(11) (2017) 1694-1701.
- 49- LOUGHREY, C.M.; YOUNG, L.S., - **Clinical biochemistry of the cardiovascular system.** In: Marshall, W.J., DAY, A.P., LAPSLEY, M., AYLING, R. M. - Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Edition. Churchill Livingstone. 2014. ISBN: 978-0-7020-5140-1
- 50- ATTRAM, H. D., WITTLIN, S., CHIBALE, K. - **Incorporation of an Intramolecular Hydrogen Bonding Motif in the Side Chain of Antimalarial Benzimidazoles.** Med. Chem. Comm. 00 (2019) 1-3.

- 51- PubChem - **Amodiaquine** (acedido dia 27 de junho de 2019). Disponível na internet: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Amodiaquine>
- 52- SPIVEY, A. C., NIELSEN, C. D. T, ABAS, H. - **Stereoselective Reactions of ortho-Quinone Methide and ortho Quinone Methide Imines and Their Utility in Natural Product Synthesis**. *Synthesis* 50 (2018) 4008-4018.
- 53- SUGUMARAN, M. - **Reactivities of Quinone Methides versus o-Quinones in Catecholamine Metabolism and Eumelanin Biosynthesis**. *Int. J. Mol. Sci.* 17 (9) (2016) 1576.
- 54- CURCUTE, M. M., SALGADO, H. R. N - **A Critical Review of the Properties of Fusidic Acid and Analytical Methods for Its Determination**. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 46 (4) (2015) 352-360.
- 55- COLLIGNON, P., TURNIDGE, J. - **Fusidic acid in vitro activity**. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 12 (199) S46-S58.
- 56- KAUR, G., PAVADAI, E., WITTLIN, S., CHIBALE, K. - **3D-QSAR Modelling and Synthesis of New Fusidic Acid Derivatives as Antiplasmodial Agents**. *J. Chem. Inf. Model.* 2018 1-22.
- 57- SINGH, K., ESPINOZA-MORAGA, M., NJOROGI, M., KAUR, G., OKOMBO, J., KOCK, C., SMITH, P. J., WITTLIN, S., CHIBALE, K. - **Synthesis and biological characterisation of ester and amide derivatives of Fusidic acid as antiplasmodial agents**. *Med. Chem. Lett.* 27 (3) (2017) 658-661.
- 58- JOHNSON, R. A., MCFADDEN, G. I., GOODMAN, C. D. - **Characterization of Two Malaria Parasite Organelle Translation Elongation Factor G Proteins: The Likely Targets of the Anti-Malarial Fusidic Acid**. *PLoS ONE* 6 (6) (2011) e20633.
- 59- KAUR, G., SINGH, K., PAVADAI, E., NJOROGI, M., ESPINOZA-MORAGA, M., KOCK, C., SMITH, P. J., WITTLIN, S., CHIBALE, K. - **Synthesis of fusidic acid bioisosteres as antiplasmodial agents and molecular docking studies in the binding site of elongation factor-G**. *Med. Chem. Comm.* 6 (11) (2015) 2023-2028.
- 60- VERMA, JITENDER., KHEDKAR, V. M., COUTINHO, E. V. - **3D-QSAR in Drug Design - A Review**. *Curr. Top. Med. Chem.* 10 (1) (2010) 95-111.

- 61- DUNETZ, J. R., MAGANO, J., WEISENBURGER, G. A. - **Large - Scale Applications of Amide Coupling Reagents for Synthesis of Pharmaceuticals.** *Org. Process. Res. Dev.* 20 (2) (2016) 140-177.
- 62- MEUNIER, B. - **Hybrid Molecules with a Dual Mode of Action: Dream or Reality?.** *Acc. Chem. Res.* 41 (1) (2008) 69-77.
- 63- NIEBLES, M. B., ARROYAVE, J. G., BLAIR, S. T., RESTREPO-SÁNCHEZ, N. - **A new hybrid: Artesunate-Tumacona B.** *Afinidad* 74 (578) (2017) 141-146.
- 64- PABÓN, A., CARMONA, J., MAESTRE, A., CAMARGO, M., BLAIR, S. - **Inhibition of *P. falciparum* by Steroids Isolated from *Solanum nudum*.** *Phytother. Res.* 16 (1) (2002) 59-62.
- 65- LÓPEZ, E., LÓPEZ, C., ARAQUE, P., BLAIR, S., PABÓN, A. - **Simultaneous Quantification of Antimalarial Steroids in *Solanum nudum* extracts by high performance liquid chromatography.** *Rev. Pol.* 10 (18) (2014) 23-3.
- 66- PABÓN, A., ESCOBAR, G., VARGAS, R., CRUZ, V., NOTARIO, R., BLAIR, S., ECHEVERRI, F. - **Diosgenone Synthesis, Anti-Malarial Activity and QSAR of Analogues of This Natural Product.** *Molecules* 18 (3) (2013) 3356-3778.
- 67- FRÖHLICH, T., KISS, A., WOLFLING, J., MERNYAK, E., KULMANY, A. E., MINORICS, R., ZUPKÓ, I., LEIDENBERGER, M., FRIEDRICH, O., KAPPES, B., HAHN, F., MARSCHALL, M., SCHNEIDER, G., TSOGOEVA, S. B. - **Synthesis of artemisinin-estrogen hybrids highly active against HCMV, *P. falciparum*, cervical and breast cancer.** *Med. Chem. Lett.* (2018) 1-7.