

UNIVERSIDADE DO ALGARVE

**PLANTAS E PRODUTOS MARINHOS PARA
O TRATAMENTO DA COVID-19**

Carolina Francisco Domingues

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob orientação de:

Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

2023

Declaração de autoria

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Copyright Carolina Francisco Domingues

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Um ciclo se encerra e é com orgulho que finalizo mais uma etapa dos meus estudos. Na Universidade do Algarve foi-me permitido evoluir na minha formação profissional quer a nível pessoal, durante estes 5 anos do Mestrado Integrado de Ciências Farmacêuticas. Quero agradecer a todas as pessoas que contribuíram para que eu prosperasse neste desafio.

Início por agradecer a todos os professores com quem me cruzei, que foram essenciais na transmissão de conhecimentos importantes para execução correta da profissão.

Em especial, agradeço à professora Doutora Maria Graça Costa Miguel, por ter aceite o meu convite para ser orientadora desta dissertação, tal como o auxílio na realização da mesma.

Aos meus amigos agradeço por me acompanharem nesta caminhada académica. E aos amigos de longa data, que nunca deixaram a distância ser perceptível.

Principalmente, agradeço aos meus pais e irmãs que me apoiaram em todas as decisões, que mesmo de longe deram força para concluir esta etapa e sempre se prontificaram a melhorar o meu percurso académico.

Obrigada!

Resumo

O novo coronavírus, o SARS-CoV-2, pode desencadear uma infecção viral de enorme gravidade e a sua disseminação ocorreu rapidamente pelo mundo. Assim, a necessidade de desenvolver soluções terapêuticas num curto espaço de tempo, tornou-se o novo desafio para a comunidade científica mundial. Historicamente, a medicina tradicional documentou produtos naturais que eram eficazes no tratamento de infecções virais. Deste modo, uma das opções foi investigar sobre plantas e/ou produtos marinhos com potencialidade para tratar a Covid-19.

Esta dissertação concentra-se em expor vários exemplos de plantas e produtos marinhos com atividade antiviral contra o coronavírus, destacando sempre os mecanismos de ação. Como a inflamação é um sintoma crucial para o agravamento da doença, então é explicado a atividade anti-inflamatória de cada produto natural. Alguns dos exemplos, destacam-se o interesse de utilizá-los de forma preventiva, visto que apresenta atividade imunomoduladora.

Para que estas terapêuticas sejam vistas como solução para o tratamento da Covid-19, é essencial delimitar as vantagens e as limitações para depois concluir se compensa recorrer a tais tratamentos. De um modo geral, as plantas e os produtos marinhos parecem ter essa capacidade, apesar de se considerar que é necessário fazer mais estudos de modo a obter resultados mais robustos e conclusivos.

Palavras-chave: atividade antiviral, coronavírus, Covid-19, plantas, produtos marinhos e SARS-CoV-2.

Abstract

The new coronavirus, SARS-CoV-2, can trigger a viral infection of enormous severity and its spread has occurred rapidly around the world. Thus, the need to develop therapeutic solutions in a short space of time has become a new challenge for the global scientific community. Traditional medicine has historically documented natural products that were effective in treating viral infections. Thus, one of the options was to investigate plants and/or marine products with the potential to treat Covid-19.

This dissertation focuses on exposing several examples of plants and marine products with antiviral activity against the coronavirus, always highlighting the mechanisms of action. As inflammation is a crucial symptom of the worsening of the disease, the anti-inflammatory activity of each natural product is explained. Some of the examples highlight the interest in using them preventively, as they have immunomodulatory activity.

For these therapies to be seen as a solution for the treatment of Covid-19, it is essential to define the advantages and limitations and then conclude whether the need for such treatments is compensated. In general, plants and marine products seem to have this capacity, although it is considered that more studies need to be carried out to obtain more robust and conclusive results.

Keywords: antiviral activity, coronavirus, Covid-19, marine products, plants and SARS-CoV-2.

Índice

1. Introdução.....	1
2. Contexto histórico da Covid-19.....	3
3. Estrutura e ciclo de vida do coronavírus.....	5
4. Enquadramento da utilização de plantas e produtos marinhos no tratamento de doenças infecciosas.....	8
5.1. <i>Withania somnifera</i> (L.) Dunal.....	15
5.2. <i>Tinospora cordifolia</i> Willd. Miers.....	18
5.3. <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.....	20
5.4. <i>Allium sativum</i> L.....	23
5.5. <i>Zingiber officinale</i> Roscoe.....	25
5.6. <i>Curcuma longa</i> L.....	28
5.7. <i>Cinnamomum</i> sp.....	30
5.8. <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze.....	33
5.9. <i>Piper longum</i> L.....	36
5.10. <i>Ocimum tenuiflorum</i> L.....	38
6. Atividade antiviral dos produtos marinhos.....	40
6.1. Algas marinhas.....	42
6.1.1. <i>Ecklonia cava</i> Kjellman, 1885.....	45
6.1.2. <i>Saccharina japonica</i> (J.E. Areschoug) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders.....	46
6.1.3. <i>Caulerpa lentillifera</i> J.Agardh.....	47
6.1.4. <i>Griffithsia</i> sp.....	48
6.2. Esponjas marinhas.....	49
6.2.1. <i>Mycale</i> sp.....	51
6.2.2. <i>Axinella corrugata</i> (George & Wilson, 1919).....	52
6.2.3. <i>Hippospongia metachromia</i> de Laubenfels, 1954.....	53
6.2.4. <i>Theonella swinhoei</i> Gray, 1868.....	54
6.2.5. <i>Dysidea avara</i> (Schmidt, 1862).....	54
6.3. Corais e bactérias presentes nos recifes de corais.....	55
6.3.1. <i>Pterogorgia citrina</i> (Esper, 1792).....	57
6.3.2. <i>Pseudoalteromonas</i> sp.....	58
6.3.3. <i>Streptomyces</i> sp. M-207.....	59
6.3.4. <i>Formosan gorgonian Briareum</i>	59
6.4. Fungos marinhos.....	60
6.5. Cianobactérias marinhas.....	61

6.5.1. <i>Nostoc ellipsosporum</i>	62
6.5.2. <i>Arthrospira platensis</i>	63
6.5.3. <i>Microcystis ichthyoblade</i>	64
7. Utilização de plantas numa perspectiva de prevenção da Covid-19.....	65
8. Vantagens da utilização das plantas e produtos marinhos para o tratamento da Covid-19	66
9. Limitações da utilização das plantas e produtos marinhos para o tratamento da Covid-19	68
10. Conclusão e perspectivas futuras.....	69
11. Referências bibliográficas.....	72
12. Fontes das figuras.....	84

Índice de figuras

Figura 3.1 Ciclo de vida do SARS-CoV-2	7
Figura 5.1 <i>Withania somnifera</i>	15
Figura 5.2 Estrutura do vitanólido A.....	17
Figura 5.3 <i>Tinospora cordifolia</i>	18
Figura 5.4 Estrutura de dois alcaloides, a berberina e a magnoflorina	19
Figura 5.5. <i>Glycyrrhiza glabra</i>	21
Figura 5.6 Estrutura do ácido glicirretínico	22
Figura 5.7 <i>Allium sativum</i>	23
Figura 5.8 Transformação da alinina em alicina, devido à atuação da enzima alinase	25
Figura 5.9 <i>Zingiber officinale</i>	26
Figura 5.10 Estrutura do gingerol, shogaol, paradol e metil-6-isogingerol	27
Figura 5.11 <i>Curcuma longa</i>	28
Figura 5.12 Estrutura da esquerda é a <i>ar</i> -turmerone e da direita é a <i>ar</i> -curcumene	29
Figura 5.13 <i>Cinnamomum</i>	31
Figura 5.14 Estrutura do <i>trans</i> -cinamaldeído	33
Figura 5.15 <i>Camellia sinensis</i>	34
Figura 5.16 Estrutura das catequinas e das teaflavinas	35
Figura 5.17 <i>Piper longum</i>	37
Figura 5.18 Estrutura química de dois alcaloides que se encontram em <i>Piper longum</i>	38
Figura 5.19 <i>Ocimum tenuiflorum</i>	39
Figura 5.20 Estrutura do eugenol	40
Figura 6.1 <i>Eckloina cava</i>	46
Figura 6.2 Estrutura do ecol	46
Figura 6.3 <i>Saccharina japonica</i>	47
Figura 6.4 Estrutura do fuicodano	47
Figura 6.5 <i>Caulerpa lentillifera</i>	48
Figura 6.6 Estrutura da sifonaxantina	48
Figura 6.7 Estrutura da grifithsima	48
Figura 6.8 <i>Mycale sp.</i>	52

Figura 6.9 Estrutura da micalisina	52
Figura 6.10 <i>Axinella corrugata</i>	53
Figura 6.11 Estrutura do éster metílico do ácido esculetina-4-carboxílico	53
Figura 6.12 Estrutura da ilimaquinona	53
Figura 6.13 Estrutura da esquerda é a pseudoteonamidas C e estrutura da direita é a pseudoteonamidas D	54
Figura 6.14 <i>Dysidea avara</i>	55
Figura 6.15 Estrutura do avarol	55
Figura 6.16 Estrutura do (hexadeciloxi)-propano-1,2-diol	58
Figura 6.17 <i>Montipora capitata</i>	59
Figura 6.18 Estrutura da alteramida A	59
Figura 6.19 <i>Lophelia pertusa</i>	59
Figura 6.20 Estrutura da tirandamicina A	59
Figura 6.21 Estrutura da escavatolida M	60
Figura 6.22 Estrutura da cianovirina-N	63
Figura 6.23 Estrutura da espirulano de cálcio	64
Figura 6.24 Estrutura da microginina	64

Lista de abreviaturas

ACE2 – *Angiotensina-transcription complex* (em Portugal, enzima conversora de angiotensina 2)

ATII – *Alveolar type II* (em Portugal, células alveolares tipo II)

BCoV – *Bovine Coronavirus* (em Portugal, Coronavírus bovino)

CoVs – *Coronavirus* (em Portugal, Coronavírus)

COX – Cicloxigenase

ADN – Ácido desoxirribonucleico

EMA – *European Medicines Agency* (em Portugal, Agência Europeia de Medicamentos)

FIPV – *Feline Infectious Peritonitis Virus* (em Portugal, vírus da peritonite infecciosa felina)

GRP78 – *Glucose-regulated protein 78* (em Portugal, proteína-78 regulada pela glicose)

HCAEC- *Human coronary artery endothelial cells*

HCoVs – *Human Coronavirus* (em Portugal, Coronavírus humanos)

HCMV – *Human cytomegalovirus* (em Portugal, citomegalovírus humano)

HEK - *Human Embryonic Kidney*

HeLa-TLR4 - *Cells Helen Lane Toll Like Receptor 4*

HepG2 - *Hepatoblastoma G2*

HIV – *Human immunodeficiency virus* (em Portugal, Vírus da imunodeficiência humana)

HMG box - *High mobility group box*

HPV – *Human papiloma virus* (em Portugal, papilomavírus humano)

HSRV – *Human respiratory syncytial virus* (em Portugal, vírus sincicial respiratório humano)

HSV – *Herpes simplex virus* (em Portugal, vírus herpes simplex)

Ig – Imunoglobulina

IL – Interleucina

iNOS – *Inducible nitric oxide synthase* (em Portugal, óxido nítrico induzível)

LOX – Lipoxigenase

MCF-7- *Michigan Cancer Foundation-7*

MCP-1 - *Monocyte chemoattractant protein-1*

MERS-CoV - *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (em Portugal, Coronavírus de síndrome respiratória do Oriente Médio)

MeV – *Measles morbillivirus* (em Portugal, vírus do sarampo)

M^{pro} – *Main proteases* (em Portugal, protease principal)

NF-κB – *Nuclear factor kappa B* (em Portugal, fator nuclear kappa B)

NO - *Nitric oxide* (em Portugal, óxido nítrico)

OMS – Organização Mundial da Saúde

ORF – *Open Reading Frames*

RBL-2H3 - *Rat Basophilic Leukemia 2H3*

PL^{pro} – *Papain-like protease* (em Portugal, protease semelhante à papaína)

RdRp – *RNA-dependent RNA polymerase* (em Portugal, ARN dependente da ARN polimerase)

RNA – *Ribonucleic acid* (em Portugal, ácido ribonucleico)

RTC – *Replication-transcription complex* (em Portugal, complexo de transcrição-replicação)

TGEV – *Transmissible Gastroenteritis Coronavirus* (em Portugal, vírus da gastroenterite suína transmissível)

TLR – *Toll-Like Receptor* (em Portugal, recetor toll-like)

TM^{PRSS2} – *Transmembrane serine protease 2* (em Portugal, enzima protease serina transmembranar 2)

TNF- α – *Tumor Necrosis Factor alpha* (em Portugal, fator de necrose tumoral)

SARS-Cov – *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus* (em Portugal, Coronavírus de síndrome respiratória aguda grave)

SARS-Cov-2 - *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus 2* (em Portugal, Coronavírus de síndrome respiratória aguda grave 2)

3CLpro – *3C-like proteinase* (em Portugal, protease 3C-like)

1. Introdução

A Covid-19 (do inglês *Coronavirus Disease 2019*) é uma infecção viral provocada pelo vírus SARS-CoV-2 (do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), que desencadeia sintomas característicos de uma doença respiratória grave. A disseminação da mesma pelo mundo inteiro, levou a Organização Mundial de Saúde (OMS) a considerar uma emergência sanitária global, decretando como uma pandemia. A população mundial viveu durante 3 anos neste nível de alerta máximo, desde 30 de janeiro de 2020 até 5 de maio de 2023. Numa situação em que a saúde pública está em risco, cria-se a necessidade iminente de promulgar regras para mitigar a propagação do vírus na comunidade. Portanto, a OMS emitiu conselhos para o público, como a necessidade de utilizar máscara, o distanciamento físico, a desinfecção regular das mãos, evitar espaços fechados ou evitar multidões. No entanto, no decorrer da pandemia existiram picos, isto é, aumento do número de casos positivos e de mortes, em que os hospitais sobrecarregados não conseguiam dar resposta adequada à população. Nestas alturas, os governos de cada país implementavam regras mais restritas, um exemplo será o confinamento total da população nas suas habitações. (1,2)

Relativamente às manifestações clínicas, estas estão correlacionadas com o estágio da doença e a estirpe, em que a taxa de progressão é mais elevada quando o doente tiver idade avançada, imunidade baixa, condições médicas subjacentes e histórico clínico de doenças respiratórias. Segundo a OMS, os sintomas ligeiros comuns são a febre, tosse, cansaço, perda de olfato ou perda de paladar; mas que podem escalar para sintomas graves em que é necessário internamento, alguns exemplos são a dificuldade em respirar, a falta de ar, a perda da fala, a perda da mobilidade ou a dor no peito. (3,4)

No estágio mais avançado da doença, altura em que a quarentena era insuficiente para a melhoria do doente, recorria-se a cuidados médicos. O internamento dos doentes positivos ao SARS-CoV-2, demonstrou à comunidade científica que pouco se sabia acerca desta doença e a escassez de tratamentos. (3)

Antes da pandemia, por norma o desenvolvimento de um medicamento demorava, aproximadamente, entre 10 a 15 anos. Deste modo, os médicos apenas possuíam a opção de utilizar os medicamentos já comercializados, ou seja,

medicamentos documentados como seguros e eficazes para determinadas indicações farmacológicas. Inicialmente, identificaram o remdesivir (ação antiviral contra o vírus Ébola), o ritonavir [(ação antiviral contra o HIV (do inglês *human immunodeficiency virus*))] e a hidroxicloroquina (antimalárico) como potenciais a serem utilizados para o tratamento da Covid-19. Atualmente, destas 3 opções de tratamento, com os adequados ensaios, a EMA (do inglês *European Medicines Agency*) apenas determinou que o remdesivir pode ser utilizado. Na lista disponibilizada pela EMA também constam medicamentos com atividade anti-inflamatória que demonstraram eficácia no tratamento de sintomas da Covid-19, a dexametasona e o tocilizumab são exemplos. (5–8)

À semelhança do remdesivir, outro fármaco de síntese química foi também desenvolvido e a EMA autorizou o molnupiravir com ação antiviral, apesar de atualmente deixar de ser recomendado para o tratamento da Covid-19 por não ser possível concluir que o fármaco possa reduzir o risco de hospitalização, de morte ou diminuir a duração da doença em adultos com Covid-19 com risco de progressão para doença grave. (5,6,8,9)

Os anticorpos monoclonais têm sido uma possibilidade rápida de se desenvolver num curto espaço de tempo. Estes possuem a capacidade de impedir a entrada do vírus nas células hospedeiras, uma vez que neutraliza o vírus antes da fixação com o recetor presente na célula hospedeira porque liga-se à proteína viral. Por conseguinte, a EMA aprovou a comercialização de imdevimab+casirivimab, sotrovimab e regdanvimab, devido à sua eficácia clínica. Todavia a produção de anticorpos monoclonais é financeiramente elevada, para além de que não é possível assegurar a eficácia da interação do anticorpo com a proteína viral de numa nova estirpe do vírus. Tais desvantagens comprometem a utilização do mesmo, pois os médicos só podem recorrer a essa terapia em estágios complicados da doença. (5–8)

Uma das vantagens do novo medicamento desenvolvido molnupiravir, comparativamente aos anticorpos monoclonais, o de poder ser administrado por via oral e numa fase leve a moderada da doença, enquanto os outros são por via intravenosa. Contudo, convém referir que, na lista publicada pela EMA não se destacou nenhum medicamento eficaz para os doentes com comorbilidades e imunodeprimidos. Deste modo, ainda existe a necessidade de investigar novas possibilidades de tratamento para este grupo específico de doentes como também para aumentar a eficácia nos tratamentos

já estabelecidos, sempre numa perspectiva de constante melhoria da terapêutica da Covid-19. (6,7,10)

Nunca excluindo a importância de estudar novas possibilidades de tratamento, a descoberta de vacinas na fase final da pandemia, foi o ponto fulcral não só para diminuir os números de internamentos e mortes como uma evolução do mecanismo de ação das vacinas. (11)

A investigação nas áreas da farmacognosia e da fitoquímica são outra abordagem possível para encontrar o alívio dos sintomas da Covid-19, visto que 15% das 300000 plantas já foram utilizadas na investigação sistemática de substâncias ativas. Quanto aos compostos de origem marinha são objeto de estudo mais recente, para tratamento de doenças infecciosas, por mostrarem atividade antiviral, mas também com outras propriedades biológicas, como anti-inflamatórias e anticancerígenas. Em suma, o objetivo desta dissertação passa por abrir portas ao reconhecimento das plantas e produtos marinhos como futuros objetos de estudo para desenvolvimento e melhoria da terapêutica da Covid-19. (12)

2. Contexto histórico da Covid-19

A primeira identificação e listagem de coronavírus (CoVs, do inglês *Coronavirus*), foi relatada no fim da década de 1930. O reconhecimento desta família de vírus foi detetada apenas em animais, pois identificou-se o vírus da gastroenterite suína transmissível (TGEV, do inglês *Transmissible Gastroenteritis Coronavirus*), o coronavírus bovino (BCoV, do inglês *Bovine Coronavirus*), o vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV, do inglês *Feline Infectious Peritonitis Virus*) e o vírus da bronquite infecciosa (IBV, do inglês *Infectious bronchitis virus*). Posteriormente, só na década de 1960 é que se veio a identificar os coronavírus humanos (HCoVs, do inglês *Human Coronavirus*). No entanto, segundo a literatura, os primeiros HCoVs (HCoV-229E e HCoV-OC43) desencadeavam sintomas característicos de doenças respiratórias ligeiras. Atualmente, sugere-se que a rápida urbanização e a criação excessiva e descontrolada de animais, sejam as causas plausíveis para a reorganização e ajuste do genoma do coronavírus, tornando-se fácil a evolução do CoVs para HCoVs. (13,14)

Em 2002, surgiu numa província da China um HCoV que suscitou maior alerta na saúde pública, designado de coronavírus de síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV, do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus*). Apesar de não ter sido atingida uma escala proporcional à recente pandemia, este disseminou-se em 30 países diferentes, culminando numa taxa de 9,5% de letalidade. Segundo a comunidade científica, aponta-se que o cão-gauximim e o texugo-furão vendidos para consumo humano, em mercados chineses, eram os reservatórios intermediários. Ainda não satisfeitos, os cientistas aprofundaram a sua investigação, e concluíram que o morcego era o potencial reservatório de uma vasta diversidade de coronavírus. (15,16)

Passado uma década, em 2012, na Arábia Saudita propagou-se outro coronavírus humano que acarretava sintomas graves, compatíveis com uma pneumonia e uma insuficiência renal. O nome instituído para o vírus foi de coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV, do inglês *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) e sua taxa de mortalidade foi cerca de 35%. Ainda se reconheceu, que para além dos morcegos, os dromedários eram um dos hospedeiros e os possíveis hospedeiros intermediários seriam as ovelhas, as vacas e as cabras. (15,17)

Tanto o MERS-CoV como o SARS-CoV possuem um período de incubação de 5 dias e que os doentes sintomáticos desenvolvem sintomas aproximadamente no 13º dia: febre, tosse, mialgia, dor de cabeça, diarreia, vômitos e/ou náuseas. O processo de infecção da célula hospedeira é semelhante para ambos os vírus. As diferenças verificadas entre eles, são relativas às anomalias torácicas detetadas em radiografia (MERS-CoV: 90%-100% e SARS-CoV: 60%-100%), a necessidade de internamento com recurso a ventilação (MERS-CoV: 50%-89% e SARS-CoV: 20%-30%) e os fatores de risco associados (MERS-CoV: diabetes mellitus, hipertensão, cancro, doença renal e pulmonar; SARS-CoV: idoso e sexo masculino). (16,18)

A atual população mundial, acaba de ultrapassar uma pandemia decretada pela OMS, pelo mais recente coronavírus humano, o coronavírus de síndrome respiratória aguda grave - 2 (SARS-CoV-2). A pandemia teve início em 2019, também numa província da China, e rapidamente disseminou-se mundialmente e com maior taxa de mortalidade, comparativamente aos outros surtos de um HCoV até aquela data. O crescimento exponencial do número de pessoas com Covid-19 como, também a dificuldade de mitigar a propagação do vírus, desencadeou uma cooperação entre a comunidade científica, para entender a forma de contágio deste vírus. Deste modo, em

conjunto concluíram que os hospedeiros se mantinham os mesmos dos passados HCoVs, mas este transmitia-se entre pessoas através de gotículas respiratórias libertadas por tosse, espirro ou fala de uma pessoa infetada. Ao nível da patogénese e sintomas, o SARS-CoV-2 não diferiam muito dos restantes coronavírus. (19)

Até a indústria farmacêutica desenvolver as vacinas, a Covid-19 veio alterar o modo de vida da população mundial, uma vez que se adotaram medidas preventivas para mitigar a disseminação, como por exemplo o distanciamento físico, desinfeção regular das mãos e o uso de máscaras. No caso de as pessoas testarem positivo ao SARS-CoV-2 e necessitarem de cuidados intensivos, recorreu-se a medicamentos como os agentes antivirais e anticorpos monoclonais, em associação ou isoladamente. No entanto, estes ainda não comprovaram ter eficácia no tratamento da Covid-19, logo ainda existe uma lacuna que tem de ser ultrapassada. (20)

3. Estrutura e ciclo de vida do coronavírus

SARS-CoV-2 é a designação para o coronavírus que desencadeia a Covid-19, pertencendo à família *Coronavirinae* e ao género *Betacoronavirus*. O vírus envelopado possui uma forma esférica e pleomórfica com cerca de 60 a 140 nm de diâmetro. Relativamente ao seu genoma, a sua organização não tem diferenças significativas comparativamente aos outros coronavírus, uma vez que 67% do genoma codifica ORF (do inglês *Open Reading Frames*)1a/b e 16 poliproteínas não estruturais (nsps, do inglês *non-structural proteins*), enquanto os restantes 33% codifica proteínas acessórias e proteínas estruturais. (21)

Em destaque, as proteínas estruturais de maior importância são a S (*spike*), M (membrana), E (envelope) e N (nucleocapsídeo). A proteína N, constituída por 419 aminoácidos, tem a função de proteger o RNA viral, empacotamento do RNA (do inglês *Ribonucleic acid*), organização do genoma viral, montagem do virião, aumenta a eficiência da transcrição do vírus, transporte intracelular de proteínas, degradação do ADN e intervenção na tradução do hospedeiro. Numa situação de infeção, a expressão da proteína N fica de tal forma acrescida que limita a resposta imunitária do hospedeiro. No caso da proteína M, uma glicoproteína ligada a um oxigénio, formada por 222 aminoácidos, é a proteína estrutural que se encontra em maior número. Esta

glicoproteína tem a capacidade de interação com a proteína S, provocando alteração na entrada do vírus no hospedeiro como a fixação da célula hospedeira. Mas não fica por aí, pois a proteína M também interage com a proteína N, de forma a cessar o processo da montagem viral porque esta interação auxilia a sua estabilização como complexo N-RNA no virião e encapsulamento do genoma do RNA. Já a proteína de membrana integral, designada por proteína E é composta por 76-109 aminoácidos, também intervém na montagem viriões e regula a libertação do genoma viral, para além de possuir um papel fundamental na patogénese viral. Por último, a proteína S é uma glicoproteína com 1273 aminoácidos, que devido à sua responsabilidade na fusão da membrana viral com a membrana do hospedeiro, torna-se o alvo primordial dos anticorpos de neutralização. (22,23)

Apesar das proteínas acessórias não terem um papel essencial na estrutura ou replicação viral, elas são imprescindíveis na transmissão e patogenicidade viral. (22)

Tal como os restantes HCoVs, o SARS-CoV-2 também necessita de acoplar as suas proteínas estruturais com os recetores das células do hospedeiro, de forma a iniciar o ciclo de vida. Portanto, o processo de infeção (Figura 3.1) divide-se em 5 grandes etapas. (24)

A primeira etapa, como já referido anteriormente, ocorre no momento em que a subunidades S1, da proteína S, altera a sua conformação para interagir com o recetor alvo ACE2 (do inglês *angiotensina-transcription complex*, enzima conversora de angiotensina 2) da célula hospedeira, localizado em células epiteliais dos pulmões, intestino delgado, rins e coração. Esta fixação, desencadeia imediatamente o processo de clivagem da proteína S interposta por proteases, isto é, clivam na posição S1/S2 como também clivam adjacientemente à posição S2. A clivagem na subunidade S2 permite ativar a fusão da membrana viral com a membrana hospedeira. (24)

Segue-se a segunda etapa do ciclo, uma vez que é possível alcançar o citosol da célula hospedeira após a fusão irreversível das membranas. Em vista disso, o endossoma viral é libertado para o citosol, para iniciar o processo de replicação viral. Mas para tal, primeiro há a formação do Complexo de Transcrição-Replicação (RTC, do inglês *replication-transcription complex*) que é a terceira etapa. Quando o endossoma é digerido, conseqüentemente o genoma viral fica livre, o que permite ligar o RNA ao ribossoma do hospedeiro com auxílio das ORFs. A partir daí, ocorre a tradução do gene

da replicase viral (ORF1ab), sintetizando 2 poliproteínas (pp1a e pp1b). Por sua vez, as duas ultrapassam um processo autoproteolítico, gerando as 16 nsps que em conjunto formam o RTC. (24,25)

Na quarta etapa, desenvolve-se os processos de síntese do RNA viral porque a formação do RTC ativa a produção de múltiplas cópias. A cada síntese de 50 RNAs negativos e 30 RNAs positivos, segue-se a associação com os ribossomas da célula hospedeira, sintetizando proteínas estruturais e acessórias. (25)

Por fim, a última etapa engloba a montagem e libertação do SARS-CoV-2. No retículo endoplasmático-compartimento intermediário de Golgi sucede a montagem do virião, para além da interação da proteína M com a proteína N promove a condensação do nucleocapsídeo com o envelope. Finalizado a montagem, o virião só atinge a membrana plasmática devido a ser transportado por vesículas. Alcançando a membrana, a libertação do SARS-CoV-2 é feita por endocitose, e assim este tem a oportunidade de infectar uma nova célula do organismo humano, voltando ao início do ciclo de vida. (24)

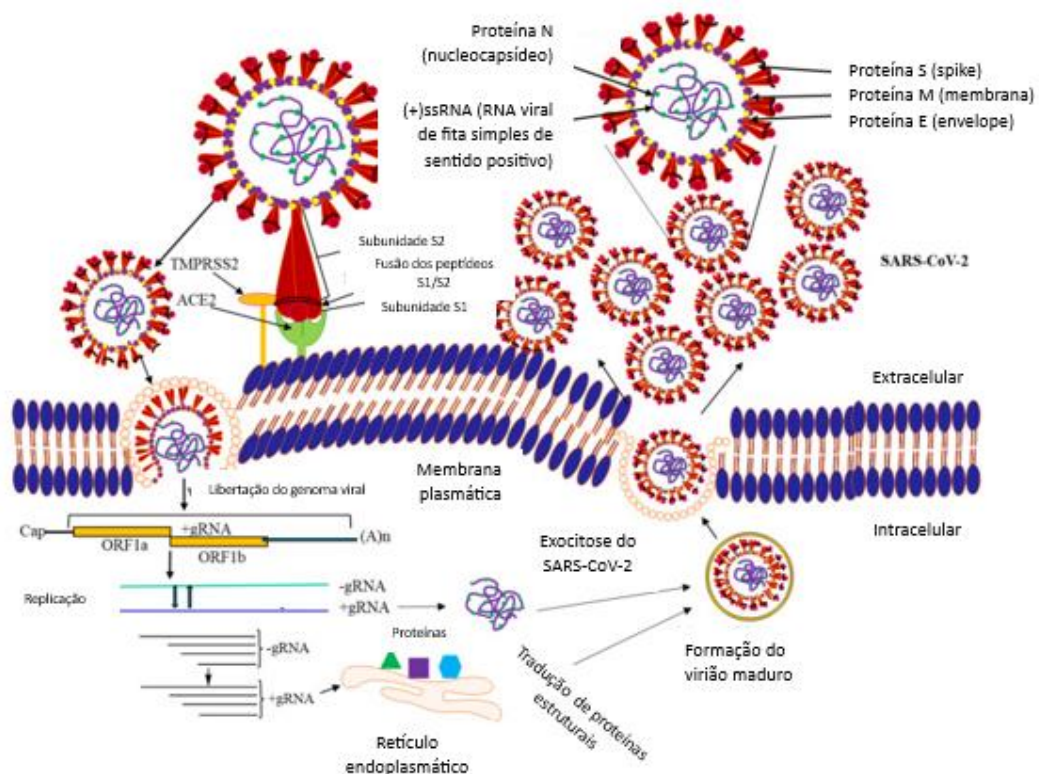


Figura 3.1 Ciclo de vida do SARS-Cov-2. O vírus interage com o recetor AEC2 (enzima conversora de angiotensina 2) e TMPRSS2 (enzima protease serina transmembranar 2) e, em seguida entra na célula hospedeira para iniciar os processos replicativos. Mas para tal, é necessário que os ORF (Open Reading Frames) desempenhem a função de ler o ADN viral ou RNA viral. No fim, as proteínas resultantes da replicação vão para o retículo endoplasmático para que haja a tradução em proteínas estruturais, que irão ser necessárias na formação do virião. Quando o virião ficar maduro, segue-se a exocitose do SARS-CoV-2. Adaptado de (24).

4. Enquadramento da utilização de plantas e produtos marinhos no tratamento de doenças infecciosas

A medicina está em constante evolução ao longo dos anos, não só para dar resposta a doenças já existentes em que ainda não há uma terapêutica adequada, mas também para responder ao surgimento de novas doenças. Portanto, existe a necessidade de desenvolver soluções terapêuticas, principalmente se a doença acarretar perigo para a saúde pública. Alguns exemplos são as doenças infecciosas, como a malária, tuberculose ou a varíola que podem ser difíceis de mitigar, devido à sua rápida disseminação na população. As comunidades que enfrentavam estas epidemias, com os recursos que possuíam e por tentativa e erro, desenvolveram possíveis terapêuticas recorrendo à flora e a produtos animais. (25)

As plantas com características medicinais foram descobertas pelos primeiros seres humanos, sendo passada a informação para as gerações futuras de boca em boca. Só anos mais tarde documentou-se as plantas e as suas respetivas ações terapêuticas. No entanto, a medicina tradicional foi posta de parte, porque houve evolução exponencial da medicina moderna com base na síntese química, embora cerca de ¼ de todos os medicamentos com autorização de comercialização pela EMA ainda são baseados em plantas ou nos seus derivados. Contudo, atualmente, observa-se um crescente interesse na medicina tradicional nos países desenvolvidos, devido às novas gerações que procuram por tratamentos naturais que consideram ser menos tóxicos. (26)

Na saúde pública destaca-se o perigo mundial das doenças infecciosas virais, pois são responsáveis por matar 3,5 milhões de pessoas por ano. Apesar de já existirem substâncias sintéticas com propriedades antivirais, a eficácia é comprometida pela falta de especificidade para determinada estirpe de cada vírus e, ainda, pelo possível surgimento de resistência dos vírus aos antivirais. Portanto, a comunidade científica tenta outras abordagens terapêuticas, como a utilização de produtos naturais, que podem ser complementares à medicina convencional. Desta forma tem-se verificado nas últimas décadas o desenvolvimento de diversos estudos com plantas medicinais, com possíveis propriedades antivirais. É então, descrito que a atividade antioxidante, a capacidade de eliminação do vírus, a inibição do ADN, a síntese de RNA, a inibição da

entrada do agente viral na célula hospedeira ou a inibição no processo replicativo do vírus são possíveis mecanismos de ação dessas plantas. (27,28)

Deste modo, os autores de Perea et al. (27) numa revisão bibliográfica referem as seguintes espécies vegetais e seus derivados em tratamentos de doenças infecciosas de origem viral, de forma sucinta e clara:

- ✓ O gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), da família Zingiberaceae, para além da sua propriedade antiviral, também demonstrou atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, anticancerígena, cardiovascular, gastrointestinal, antiemética, entre outras atividades biológicas. Portanto, ao investigar o seu mecanismo de ação, observou-se que este quando fresco inibe a produção de placas virais na infeção pelo vírus sincicial respiratório humano (HSRV, do inglês *human respiratory syncytial virus*) e bloqueia a interação entre o vírus e a célula hospedeira (HEp2 e A549). Verificou-se que o gengibre fresco reduz 70% da infeção por HSRV, mas se for seco só reduz 20%.

- ✓ A noz de bonduque [(*Caesalpinia bonduc* (L.) Roxb.)], da família Fabaceae, possui uma semente que inclui na sua composição uma substância ativa denominada de bonducina (glicósido amorfo e amargo). Esta semente também tem saponinas e outros terpenoides como principais metabolitos secundários. Da casca é possível encontrar amido, sacarose, fitoesteróis, os ácidos gordos esteárico, palmítico, oleico, linoleico e uma mistura de ácidos gordos insaturados de baixo peso molecular. No entanto, foi com o extrato da raiz que se verificou maior atividade antiviral contra o vírus vaccinia. Mas mais tarde, com recuso a ferramentas computacionais, identificou-se um diterpeno (taepeenina j) proveniente da casca, que também é um potencial antiviral. (29)

- ✓ O alho (*Allium sativum* L.), da família Amaryllidaceae, possui na sua composição a alicina que demonstrou atividade antiviral para diversos tipos de vírus. Num estudo, recorrendo a um extrato aquoso de *A. sativum* observou-se que este bloqueia a interação do vírus do Sarampo (MeV, do inglês *Measles morbillivirus*) com as células hospedeiras. Verificou-se também que o mesmo extrato provocava a rutura do envelope viral do vírus herpes simplex- 1 e 2 (HSV-1 e 2, do inglês *Herpes simplex virus-1 and 2*), de forma a este não entrar na célula

hospedeira. Além disso, o extrato de *A. sativum* consegue inibir a replicação viral do citomegalovírus humano (HCMV do inglês *human cytomegalovirus*), há um aumento da resposta imune por parte do organismo humano. Por outro lado, se o alho for utilizado em forma de óleo apresenta ação antiviral contra o vírus influenza e o HIV.

- ✓ O alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra* L.), da família Fabaceae, era um recurso natural utilizado na medicina pela China, antigo Egípto, Grécia e Roma. É possível extrair uma saponina triterpenoide (glicirrizina) das suas raízes e caule, que comprovou possuir ação antiviral contra o vírus influenza A2 e o vírus herpes simplex (HSV-1 e HSV-2), visto que interfere na replicação viral. Além disso, em alguns estudos indica-se que extrato de alcaçuz em água quente tem atividade antiviral contra o HSRV, e tal como o gengibre inibe a interação do vírus com a célula hospedeira e reduz a formação de placas.

Como foi referido anteriormente nos exemplos, é possível apresentar de várias formas as plantas (seja em extrato aquoso ou a planta fresca ou seca), podendo cada uma proporcionar um mecanismo de ação diferente e, conseqüentemente ter ação antiviral para um vírus em específico. Portanto, aliando o conhecimento já existente sobre as características farmacológicas das plantas com o avanço da tecnologia farmacêutica, é possível apresentar diversas formas do fármaco vegetal, com o objetivo de otimizar os tratamentos. Como muitas doenças infecciosas atingem o trato respiratório ou gastrointestinal através das mucosas, torna-se importante averiguar se existe a possibilidade de imunizar as mucosas, para prevenir infecções ou transmissão do vírus. Para alcançar este objetivo, a administração de diversas formas farmacêuticas dos fármacos vegetais (via oral ou nasal) são possibilidades com potencial. Mas no caso de o objetivo da terapêutica ser em atingir o local onde ocorre a interação entre vírus com a célula hospedeira, então é necessário assegurar que não ocorra a degradação antes de alcançar esse local. O que torna interessante e vantajosa a utilização de plantas para o tratamento contra vírus é que, as paredes das células vegetais resistem à hidrólise de enzimas do trato digestivo superior, logo colmata-se essa preocupação, segundo alguns autores. (30)

Ao contrário das plantas, a pesquisa de produtos marinhos com potencial para tratamentos de doenças sucedeu mais tarde. Segundo a literatura, o banco de dados dedicado

à investigação e documentação de produtos naturais marinhos, criado em 1970, por ano descobre-se 1200 novos produtos marinhos. Este valor é proporcional ao enorme ecossistema que é o oceano, pois este cobre mais de 70% da superfície da Terra. No oceano existe uma grande biodiversidade de espécies, como por exemplo: algas, bactérias, fungos, microrganismos, corais e esponjas. No entanto, só se descobriu 0,01% a 0,1% de espécies microbianas marinhas. Desta forma, pode ser possível utilizar produtos naturais de origem marinha em vários domínios, incluindo a indústria farmacêutica com relativo sucesso. (31,32)

Apesar do oceano ser uma enorme fonte de recursos de interesse para a comunidade farmacêutica, é imperativo consciencializar para a importância de realizar investigações de novos produtos marinhos de forma ecológica. Assim, para além do impulso da União Europeia ao criar um fundo de financiamento para esta área de investigação, também o tema “Crescimento azul” desencadeou vários projetos que propõem desenvolver medicamento à base de produtos marinhos que não produzam efeitos negativos no ecossistema marinho. Para tal, respeitando sempre o ecossistema, os microrganismos são o foco destes projetos, uma vez que são fáceis de cultivar. Com o decorrer da investigação, a comunidade científica percebeu que os microrganismos marinhos desenvolveram uma forma de alcançar recursos limitados quando estão em stress nutritivo, visto que estes vivem em simbiose com animais marinhos e plantas marinhas, logo existe uma competição. Estes alcançam tais recursos através da metabolização de moléculas específicas que podem ser alcaloides, peptídeos ou terpenoides com atividade antiviral, antibacteriana e antitumoral. (31,33)

Há aproximadamente 8 anos, Gogineni et al. (34) fizeram uma revisão bibliográfica sobre o papel dos produtos de origem marinha génese de agentes antivirais. De forma reduzida, expor-se-ão alguns exemplos de utilização de produtos marinhos no tratamento de doenças virais revisto por aqueles autores.

- ✓ Para o tratamento da hepatite B foi identificada atividade antiviral do sulfato polimanuroguluronato extraído a partir de macroalgas castanhas, cujo mecanismo de ação parece ser o da inibição da replicação do vírus.

- ✓ A partir de *Eucheuma denticulatum* (N.L.Burman) Collins & Hevery (macroalga), é possível isolar carrageninas como ι -carragenina, λ -carragenina e κ -carragenina que têm capacidade de se ligarem ao capsídeo do vírus HPV (do inglês *human papilloma virus*), particularmente ι -carragenina, bloqueando a entrada do vírus na célula hospedeira.
- ✓ É possível extrair da esponja *Petrosia weinbergi* van Soest, 1980 os compostos, veinbersterol A e veinbersterol B com capacidade inibitória do vírus influenza.
- ✓ Descobriu-se que o polissacárido ulvano isolado a partir de alga verde, possui a capacidade de inibir a replicação do vírus influenza A.
- ✓ Da microalga *Cochlodinium polykrikoides* Margalef, 1961 é possível extrair polissacáridos sulfatados extracelulares que diminuem os efeitos citopáticos do vírus influenza. Isolaram-se polissacáridos sulfatados extracelulares, A1 e A2 com ação contra o vírus sincicial respiratório.
- ✓ Nas algas castanhas, também foi extraído o polissacárido fucose com propriedade inibitória do vírus influenza A.
- ✓ O terpenoide estaquiflina que é isolado do fungo *Stachybotrys* sp. RF-7260 inibe o vírus influenza A, atuando por inibição da fusão entre o envelope viral e o endossoma que constitui a membrana celular do hospedeiro.(35)
- ✓ Isolou-se um polissacárido de um tipo de mexilhão, *Perna viridis* (Linnaeus, 1758), que atinge a replicação do vírus influenza A. Estudos mais recentes indicam que este em associação com a ribavirina (medicamento antiviral) é um potencial na terapêutica contra o vírus influenza A.
- ✓ Para o tratamento do vírus sincicial respiratório, isolaram-se dois polissacáridos sulfatados extracelulares, A1 e A2 de *Cochlodinium polykrikoides*.
- ✓ Um polissacarídeo fucano, denominado de fucoidano, foi extraído de *Cladophora okamuranus* Tokida, 1942. Este apresentou ação antiviral contra o dengue, bem como algumas carrageninas através de diversos mecanismos: inibição

por interação entre a glicoproteína E da membrana do vírus com a célula hospedeira, inibição da libertação do vírus dos endossomas, ou inibição da replicação do vírus quer nas células do ser humano quer nas do mosquito.

- ✓ Isolou-se da bactéria marinha *Geobacillus thermodenitrificans* o exopolissacárido EPS-1, como também da bactéria *Bacillus licheniformis* isolou-se o exopolissacárido EPS-2. Ambos demonstraram capacidade de antiviral contra o vírus Herpes simplex.
- ✓ O espirulano de cálcio foi extraído de uma microalga azul-esverdeada, *Arthrospira platensis* Gomont, 1892. Para além de inibir a replicação do vírus do Herpes simplex, também é conhecido por inibir o vírus influenza A.

Para além de investigar o mecanismo de ação de cada produto marinho, para que este se torne viável para determinado tratamento, é necessário estudar um pouco sobre a forma farmacêutica em que vai ser apresentado. Atualmente, o interesse pela nanotecnologia tem crescido bastante e geralmente recorrendo a processos químicos. Contudo, tem aumentado o interesse em produzir nanopartículas mas utilizando produtos naturais, aquilo que se chama síntese verde de nanopartículas, para aplicação na medicina. Só referindo um exemplo, é possível produzir, nanopartículas de prata utilizando microalga de água doce, *Dictyosphaerium sp.* Estas nanopartículas possuem eficácia na ação inibitória do vírus da doença de Newcastle. Esta nanopartícula consegue interagir com a glicoproteína do vírus, dificultando a entrada do vírus na célula hospedeira. (36)

5. Atividade antiviral das plantas

Na pandemia, à medida que os casos de Covid-19 aumentavam rapidamente no mundo inteiro e as medidas de mitigação não surtiram efeito, a necessidade de investigar soluções terapêuticas era iminente. Para além dos estudos de moléculas obtidas por síntese química ou até de vacinas, também se iniciaram alguns estudos *in silico* e *in vitro/in vivo* de compostos de origem vegetal. Embora a medicina tradicional tenha caído em desuso nos países desenvolvidos, já era conhecido que a partir de uma única planta era possível isolar diversos compostos com efeitos farmacológicos, portanto, não se

devia descartar esta linha de investigação perante uma crise na saúde pública mundial. (37,38)

Como referido anteriormente, na literatura já se documentava a capacidade antiviral de algumas espécies vegetais contra vírus para além de coronavírus. Desta forma, havia uma robusta fonte de informação sobre plantas medicinais e seus constituintes, com potencial para desenvolver tratamentos alternativos ou complementares para a Covid-19. O efeito farmacológico das plantas é potenciado pelos seus metabolitos secundários, ou seja, devido aos esteroides, alcaloides, diterpenos, triterpenos, glicosídeos, entre outros. Assim, também era importante perceber se os seus mecanismos de ação eram compatíveis com a interação entre composto e alvo terapêutico. Nestes estudos os alvos do coronavírus a serem estudados foram a proteína *spike*, proteína de envelope, proteína de membrana, proteína do nucleocapsídeo e proteases. No entanto, os estudos possuem algumas limitações, uma vez que em *in vitro* o ambiente é controlado, e transpor o conhecimento adquirido para o ambiente real pode ser complexo, existirão sempre lacunas, pois em situações *in vitro* não existem vários mecanismos de ação e de metabolização que existem em situações *in vivo*. Estudos *in vitro* são mais económicos para além da ausência questões éticas como se verifica com os estudos *in vivo*. (37–39)

O efeito antiviral de diversas plantas medicinais era imprescindível nos diversos estágios de evolução do vírus no hospedeiro. Na literatura, destaca-se que o coronavírus no hospedeiro pode desencadear 3 tipos de estágios de infeção, a fase assintomática, inicial, passando para a fase sintomática não grave e por fim, a fase sintomática respiratória grave. (37)

Na presente monografia será feita uma breve revisão de diversas plantas medicinais que têm sido estudadas para o tratamento sintomático da Covid-19. A informação foi recolhida de artigos publicados no PubMed, no Science Direct e no Google Scholar. Desta forma, as plantas escolhidas para expor nesta monografia deve-se ao facto de serem as mais referidas na literatura como também, são plantas presentes no nosso quotidiano. Cada exemplo apresentado terá uma breve contextualização histórica, seguido da descrição botânica da planta, constituição química e atividade antiviral e anti-inflamatória.

5.1. *Withania somnifera* (L.) Dunal

A espécie *Withania somnifera* (Figura 5.1) é um arbusto que cresce em zonas secas desde o Mediterrâneo, à África do Sul até ao Médio Oriente, em que na Índia é cultivada em grandes quantidades para fins medicinais. Popularmente é denominada como ashwagandha, cereja indiana de inverno ou ginseng indiano. Este arbusto pertence à família Solonaceae, pelo que se o traduzirmos do latim para português, o nome significa “indutor de sono”. Mas não só é utilizado na Índia para tratar distúrbios do sono, como também possui outras propriedades farmacológicas: antidiabético, anti-inflamatório, imunomodulador, antioxidante, anti-hipertensor, anticancerígeno, entre outras. A parte da planta mais procurada para fins medicinais é a raiz. (40,41)

O ginseng indiano pode alcançar uma altura de 2 metros e 1 metro de largura. Os seus ramos são cobertos por pêlos curtos que se distribuem radialmente a partir do caule central, possuindo uma tonalidade entre cinza a prateado. Já as folhas são verdes e opacas, na sua parte inferior são densamente cobertas de pêlos, mas a parte superior é escassa em pêlos. Na região dos nós de cada folha, crescem pequenas flores verdes bissexuais em forma de sino, que a corola é constituída por 5 lóbulos amarelo-verdes com cerca de 5-8 mm cada um. No interior dos cálices, crescem pequenos frutos, com uma forma esférica semelhante a uma baga, que ao amadurecer ficam com uma cor vermelha. No interior de cada fruto, existem sementes castanhas e côncavas. Por último, a partir da raiz é possível isolar fibras com um cheiro forte e sabor amargo. (41)



Figura 5.1 *Withania somnifera*

A composição de *W. somnifera* é diversificada nas diversas partes da planta. Nas folhas têm sido descritos pelo menos 62 metabolitos secundários, nas raízes encontram-se 48 metabolitos divididos por várias classes e 29 estão presentes nas folhas e nas raízes. Em resumo, estão presentes: alcaloides, lactonas esteroides, esteroides, flavonas,

ácidos fenólicos, saponinas, glicosídeos, entre outros. As lactonas esteroides (por exemplo, a vitaferina A e as vitanólidos A-Y) foram as que mostraram maior potencial para a terapêutica contra o SARS-CoV-2. (42)

Withania somnifera, ao longo dos anos demonstrou ter eficácia farmacológica em diversas patologias, e, portanto, a Covid-19 não é a exceção. Assim, na pandemia estudou-se o seu potencial, e constatou-se que o extrato das raízes da *W. somnifera* proporciona uma redução na carga viral e na inflamação. No decorrer dos estudos, ao nível da atividade antiviral, o extrato da raiz de *W. somnifera* mostrou afinidade às proteases M^{pro} (do inglês *main proteases*) do SARS-CoV-2. Assim, ao administrar o extrato de raiz, este irá interagir com a protease com a função de clivar poliproteínas essenciais à replicação de transcrição do coronavírus. Em estudos *in silico* com recurso ao *docking* molecular e a simulações das dinâmicas moleculares, descobriu-se que o principal potente inibidor da M^{pro} era um constituinte ativo do extrato, o vitanósido V. Verificou-se que o constituinte com maior capacidade de interação, não só com a M^{pro} mas também com a enzima RNA polimerase, era a vitaferina A. Vitaferina A tem a capacidade de inibir a síntese do RNA porque interage fortemente com a enzima responsável pela transcrição do ADN para o RNA. A capacidade antiviral da vitaferina A, também foi verificada em estudos *in silico*. (43–45)

Numa situação em que o doente se encontra num estado mais avançado da infeção, por norma ocorre stresse oxidativo induzido pela presença da protease semelhante a papaína (PL^{pro}, do inglês *papain-like protease*), originando lesões pulmonares graves. No entanto, em diversos estudos *in silico*, vitanólido D e vitanólido G demonstraram elevada afinidade a esta protease, isto é, estes metabolitos inibem o stress oxidativo. Já vitanólido M, apresentava afinidade com a proteína *spike* e com o 3CL^{pro} (do inglês *3C-like proteinase*). (46)

Para além, dos alvos terapêuticos no coronavírus, também se investigou alvos presentes na célula do hospedeiro. Num desses estudos *in silico*, os autores concluíram que o vitanólido A (Figura 5.2) tem a capacidade de interagir com um recetor da célula humana, *glucose-regulated protein 78* (GRP78). Para que o vírus consiga entrar na célula, este inicialmente liga-se a este recetor, logo o vitanólido A bloqueia este reconhecimento e impede a entrada do vírus na célula hospedeira. Ainda, num estudo *in silico*

como noutro em *in vitro* em células MCF-7 (do inglês *Michigan Cancer Foundation-7*), o mesmo composto demonstrou capacidade de fazer ligação com a serina protease presente na superfície da célula hospedeira, a TMPRSS2 (do inglês *transmembrane serine protease 2*). Durante o processo de infecção, o SARS-CoV-2 reconhece esta serina e, de seguida invade a célula para se replicar. Deste modo, o vitanólido A bloqueia outro ponto de reconhecimento do coronavírus para conseguir invadir a célula hospedeira. (43,44)

Relativamente ao tratamento da Covid-19, é essencial conseguir desacelerar a disseminação do vírus no organismo, bloqueando a replicação viral. Contudo, até melhoria total dos sintomas, os doentes sofrem com sintomas que podem ser atenuados. A dor e inflamação de tecidos (edema pulmonar, por exemplo) devido à excessiva produção de citocina inflamatórias em resposta à invasão do vírus no organismo, é um exemplo. *Withania somnifera* comprovou ser uma solução, devido à sua propriedade anti-inflamatória. Nas investigações realizadas, seja no estudo em *in vitro* com células NCI-H460 como no estudo *in vivo* em murganhos, verificou-se que tanto o extrato aquoso como o etanólico de *W. somnifera* possui propriedades redutoras da secreção das citocinas inflamatórias interleucinas (IL) IL-1 β , IL-6 e *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α). Novamente o vitanólido A (Figura 5.2), demonstrou ser o mais interessante em termos de atividade anti-inflamatória, uma vez que suprimiu o stress oxidativo, a produção de IL-6 e TNF- α ; e a lesão pulmonar atenuando a infiltração de neutrófilos nos pulmões. (43,45,47)

Em suma, o vitanólido A (Figura 5.2) foi a lactona esteroide escolhida para estudos futuros, com o objetivo de aprofundar a sua eficácia e segurança no tratamento da Covid-19.

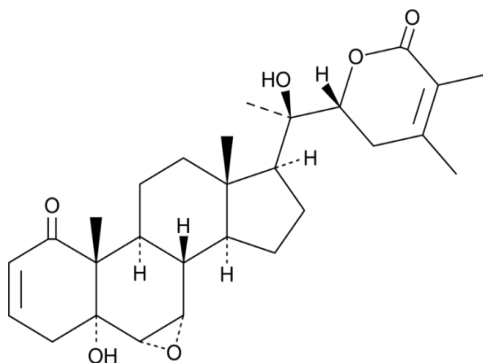


Figura 5.2 Estrutura do vitanólido A

5.2. *Tinospora cordifolia* Willd. Miers

Tinospora cordifolia Willd. Miers (Figura 5.3), também chamada de amrita que significa o elixir da vida, ou guduchi, é o mais antigo e principal recurso utilizado na medicina Ayurveda (terapia milenar na Índia, que nasceu em 3000 a.C.). Por sua vez, os livros documentados na altura, referem as suas propriedades farmacológicas, respetivas dosagens e formas farmacêuticas. Para além da propriedade rejuvenescedora, nos livros destaca-se a eficácia da *T. cordifolia* no tratamento de asma, febre, anorexia, lepra e icterícia. Também foi documentado o modo de preparação e a posologia a ser seguida. Nesta antiga medicina, o pó castanho do caule era a forma farmacêutica mais recorrente de se utilizar no tratamento da febre e doenças urinárias, sendo o odor forte e o sabor amargo característico. Esta trepadeira facilmente é encontrada na Índia, mas pode crescer na China, no Sri Lanka e na Birmânia. (48)

Esta planta alcança grandes dimensões, sendo uma trepadeira arbustiva com ramos de diversas morfologias, desde alongados a entrelaçados. *Tinospora cordifolia* possui um caule fino e carnudo, com uma casca branca-cinza. Enquanto os galhos são castanhos claros, já as hastes são esverdeadas, mas ambos são filiformes. As folhas são simples e cordiformes com pecíolos de 15 cm. Os frutos em forma de baga têm uma única semente, na sua fase madura possuem uma tonalidade avermelhada. As flores masculinas crescem sempre em grupo e as flores femininas aparecem sozinhas. Estas flores contêm 6 pétalas com dimensões inferiores às sépalas com forma obovada. As pequenas flores unissexuais distribuem-se nos ramos terminais, surgindo sem folhas, mas com uma cor amarela-esverdeadas. Por último, a raízes aéreas são muito finas e de forma quadrada, podendo chegar ao solo. (49)



Figura 5.3 *Tinospora cordifolia*

Na composição química do extrato de *Tinospora cordifolia* é possível destacar a presença de alcaloides, esteroides, terpenoides, linhanos, glicosídeos, polissacáridos, compostos alifáticos, entre outros. (50)

Antes da pandemia, já era claro que um diterpenoide, a tinosporina, presente nos extratos de *T. cordifolia* possuía propriedade antiviral contra o retrovírus e de outros vírus. Desta forma, a comunidade científica entendeu que esta planta poderia ser outra solução contra o coronavírus e, portanto, os novos estudos permitiram identificar outros fitocompostos presentes nesta espécie. Exemplos desses compostos são a berberina (alcaloide) (Figura 5.4), a magnoflorina (alcaloide) (Figura 5.4) e o tinocordiósido (terpenoide), num estudo *in silico*, foram os que apresentaram maior afinidade aos principais alvos do coronavírus [glicoproteína de superfície (6VSB) e domínio de ligação ao recetor (6MoJ)], e por sua vez, ao ligarem-se a esses alvos, bloqueiam a ligação do vírus à célula hospedeira. Ainda assim, estes compostos revelaram elevada eficácia na interação com alvos das células hospedeiras [RNA polimerase (6M71) e protease principal (6Y84)] que detêm funções essenciais no processo de replicação do vírus. Para além, de que a berberina, também, consegue inibir a replicação viral devido há sua capacidade de ligar-se, eficazmente, à M^{pro} . No entanto, o tinocordisido destacou-se mais, por interferir na ligação entre a *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) presente na proteína *spike* do SARS-CoV-2, dificultando a possibilidade de o vírus entrar na célula. (43,51)

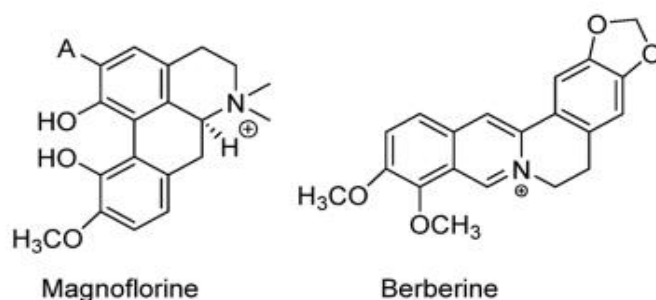


Figura 5.4 Estrutura de dois alcaloides, a berberina e a magnoflorina.

Já referido anteriormente, a espécie *T. cordifolia* destacou-se na medicina Ayurveda pela sua propriedade rejuvenescedora. Nas investigações a decorrer durante a pandemia, extraídos da trepadeira fortaleciam o sistema imunológico de doentes de Covid-19 assintomáticos. (43)

Ao nível da atividade anti-inflamatória, diversos estudos descreveram que a trepadeira reduzia a produção de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-17 e TNF- α). Num estudo *in vivo* em murganhos com edemas induzidos, administrou-se extrato de *T. cordifolia*, e foi evidente a supressão das citocinas inflamatórias e a inibição das enzimas COX (ciclooxigenase) e LOX (lipoxigenase). Os mesmos investigadores, compararam o efeito antipirético entre a trepadeira e substâncias ativas já comercializadas (paracetamol e diclofenac), e verificaram que o extrato tinha resultados positivos. (48)

Mais para o final da pandemia, foram reportados casos clínicos de lesões hepáticas em doentes positivos ao SARS-CoV-2. A maioria dos doentes automedicou-se com formulações puras de *T. cordifolia*, compradas localmente, sendo a média de duração de consumo foi de cerca de 42 dias seguindo a posologia de 40,8 mL por dia. Após 46 dias de ingestão, os doentes desenvolveram sintomas, como por exemplo, apresentavam sangramento, inflamação abdominal e dor abdominal, frequência cardíaca elevada e/ou respiração descontrolada. Cerca de 5% dos casos clínicos, ao 3º mês após os sintomas, necessitaram de transplantar o fígado, para além de 10% dos casos acabaram por falecer após 2 meses do início dos sintomas. Desta forma, com o desenrolar da situação, houve a necessidade de realizar estudos. Num estudo de coorte observacional retrospectivo, avaliaram a causalidade da lesão hepática induzida por *T. cordifolia*, e a percentagem obtida foi de 67,4%. No entanto, o estudo possui algumas limitações, desde a contaminação à biópsia hepática realizada a metade da coorte, pois os restantes não consentiram a sua realização. Logo, não foi possível concluir qual a dosagem máxima que se torna tóxica. Outros estudos serão precisos para esclarecer com clareza a toxicidade e segurança da *T. cordifolia* no tratamento da Covid-19. (52,53)

5.3. *Glycyrrhiza glabra* L.

Glycyrrhiza glabra, pertence à família Fabaceae, e a sua denominação comum é alcaçuz. A espécie termo *glabra* significa casca lisa, ao passo que o género *Glycyrrhiza* provém de junção de duas palavras gregas, *glykys* que significa doce e *rhiza* que significa raiz. O seu habitat é na Europa, no oeste da Ásia e no norte de África, mais especificamente, ela cresce em solos arenosos ou argilosos próximos a rios ou córregos. O alcaçuz é mundialmente conhecido não só na indústria alimentar (utilizado em chás, refrigerantes, bebidas alcoólicas e em doces) e na indústria do tabaco, como também é

utilizado na medicina tradicional no tratamento de asma, odinofagia, tosse, amigdalite, flatulência, febre, pirose, cólicas, doenças de pele, inflamação, icterícia, hemorragias, etc. Desde a era egípcia e a Grécia antiga que está descrito que esta espécie, pode ser utilizada como anti-inflamatório, antiviral, antibiótico, laxante, inseticida, anti tumoral, antioxidante, anticolinérgico, entre outras propriedades. (54)

Esta pequena planta perene, só alcança 1 m de altura e possui folhas pinadas com 7 a 15 cm de comprimento. As suas raízes são estoloníferas, ou seja, a sua forma de crescimento é orientada para os lados, desenvolvendo diversos nós e novas partes aéreas. *Glycyrrhiza glabra* (Figura 5.5) apresenta flores com uma tonalidade entre o roxo e o azul-esbranquiçado, e também possui frutos de 2 a 3 cm com uma forma oblonga, contendo no interior várias sementes. (55)



Figura 5.5. *Glycyrrhiza glabra*

Os metabolitos secundários do alcaçuz pertencem a várias classes de compostos (taninos, fitoesteróis, cumarinas, vitaminas e glicosídeos). No entanto, os compostos com atividade biológica em maior quantidade são os triterpenos, saponinas e flavonoides. O sabor doce da raiz (50 vezes mais doce que a própria sacarose) característico do alcaçuz é proveniente de uma saponina, chamada glicirrizina. Já os flavonoides que são os que conferem a cor amarela ao alcaçuz, encontram-se subdivididos em várias sub-classes: flavanonas, flavonas, flavanóis, isoflavanos, isoflavenos, isoflavonas e chalconas. (55)

Para utilizar alcaçuz como opção no tratamento contra o SARS-CoV-2 é importante estudar o seu potencial ao nível da ação antiviral. Um alvo principal do coronavírus é o recetor ACE2 presente nas células do hospedeiro, mas para que estes não se desenvolvam à superfície é necessário a ativação do sistema do recetor aldosterona. Portanto, no estudo *in vitro* em células HepG2 (do inglês *hepatoblastoma G2*), percebeu-se

que o metabolito do alcaçuz, o ácido glicirretínico (Figura 5.6), é responsável por inibir o 11 β hidroxisteróide desidrogenase (11 β -HSD2), induzindo a ativação do RM, e assim existe a redução da expressão do ACE2. O ácido glicirretínico tem afinidade com *transmembrane protease serine 2* (TMPRSS2) da célula hospedeira, bloqueando a ligação do vírus com um recetor da célula hospedeira. Em outro estudo *in silico* através de *docking* molecular, verificou-se que o ácido glicirrízido é capaz de interagir com a proteína *high mobility group box* (HMG box) HMGB1, e assim suprimir a replicação viral porque bloqueia a proteína essencial a esse processo. Tal como as outras plantas referidas a cima, o alcaçuz também possui compostos que se ligam eficazmente com a enzima M^{Pro}, que são o ácido glicirretínico, a liquiritigenina e a glabridina. Dos 3 compostos, o ácido glicirretínico (Figura 5.6) demonstrou maior afinidade, então este volta a destacar-se, e a comunidade científica considera o composto mais interessante do alcaçuz, para o tratamento da Covid-19. (43,56)

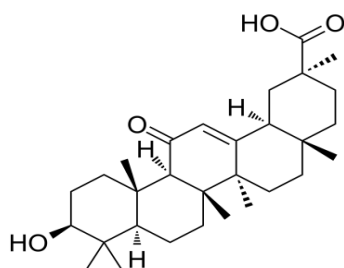


Figura 5.6 Estrutura do ácido glicirretínico

Para o tratamento da inflamação nos estágios mais avançados da Covid-19, o alcaçuz também foi estudado para reduzir esse sintoma. Foram realizados diversos estudos *in vitro* como um estudo *in vivo* na Jordânia em ratos machos albinos, e concluiu-se que o alcaçuz tem a propriedade anti-inflamatória porque inibe a expressão das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α . (57)

O perfil toxicológico de *G. glabra* também foi estudado, uma vez que este é importante para estabelecer doses máximas. Num estudo antes da pandemia, prepararam-se 9 amostras de extrato metanólico da raiz do alcaçuz que foram inoculadas, em diferentes quantidades, em queratinócitos humanos imortais, carcinomas hepáticos e adenocarcinomas pulmonares. Os resultados obtidos, mostraram que *G. glabra* é moderadamente tóxica e, portanto, a posologia segura é de 1 mg/Kg/dia. É de salientar que este estudo notou que os ratos albinos utilizados, quando administrado a dose segura, desenvolveram uma reação adversa, uma vez que a função locomotora reduziu durante 3 horas. Este

estudo é uma base de fonte de informação, pois uma posologia foi estabelecida, mas para utilizar na terapêutica contra o SARS-CoV-2 é necessário investigar muito mais. (58)

5.4. *Allium sativum* L.

Allium sativum (Figura 5.7) que pertence à família Alliaceae, é um dos temperos mais utilizados no mundo, é vulgarmente conhecido como alho. Para além de aromatizante de alimentos, também é uma das plantas mais antigas utilizada pela medicina tradicional por possuir um amplo espectro de atividades farmacológicas, como sejam, antibacteriano, fungicida, antiviral, antitumoral, antidiabético, anti-hipertensor, entre outros, e porque parece ser seguro uma vez que apresentam baixa toxicidade. (59)

Existem pelo menos 2 subespécies, *Allium sativum* var. *sativum* (alho mole) e *Allium sativum* var. *ophioscorodon* (alho de pescoço duro), mas ambas possuem características semelhantes. As duas são constituídas por um bulbo subterrâneo revestidos por camadas membranosas secas. A nível das diferenças entre eles, salienta-se que o alho de pescoço duro é composto de seis a onze dentes que se distribuem ao redor do caule central. Nesta subespécie, na região terminal do caule existem escapos que sustentam flores, que devem ser cortadas para que o bulbo consiga obter energia para se desenvolver, caso contrário as flores iram absorver essa energia. Normalmente, ocorre o crescimento de bulbos secundários, que crescem pouco e são estéreis, associados a flores brancas-roxas. Por outro lado, o bulbo do alho mole é constituído no máximo por 24 dentes por bulbo. Em oposição ao outro, o caule central deste é macio, daí o nome, e não têm flores. Estas diferenças não limitam a escolha de uma só subespécie para fins medicinais, uma vez que ambos possuem os mesmos compostos biológicos, e por conseguinte as mesmas propriedades farmacológicas. Esses compostos são responsáveis pelo cheiro e sabor intenso do alho cru, que também é uma forma de defesa contra predadores. (60)



Figura 5.7 *Allium sativum*

A composição química de um extrato do bulbo de *A. sativum* inclui peptídeos, esteroides, terpenoides, flavonoides e saponinas. No entanto, a concentração de enxofre no alho é de 82% devido aos seguintes compostos: ajoenos (*E*-ajoene e *Z*-ajoeno), tiosulfatos (alicina), vinilditiinas (2-vinil-(4H)-1,3-ditiin e 3-vinil-(4H)-2-ditiina), sulfetos (dialil dissulfeto e dialil trissulfeto). Já o cheiro intenso do *A. sativum* é proveniente do *S*-propil-cisteína-sulfóxido, da alicina e do *S*-metil cisteína-sulfóxido. A alicina só está presente quando o alho é cortado ou esmagado, porque no ato do corte ou esmagamento a enzima alinase metaboliza o composto aliina. (61)

Com a longa utilização do alho no seu grande espectro de indicações terapêuticas, é evidente que foi objeto de investigação durante a pandemia. Assim sendo, estudou-se a propriedade antiviral do seu óleo essencial através de um estudo *in silico* e identificou-se o dialil-dissulfeto e o dialil-trissulfeto como inibidores viáveis do recetor da célula hospedeira, o ACE2, e a principal protease do SARS-CoV-2, a PDB6LU7. Já a aliina mostrou eficácia na ligação com esta proteína alvo formando uma interação com menor consumo de energia. Deste modo, a aliina é um composto capaz de bloquear uma proteína viral, e assim impedir que o coronavírus interaja com recetores da célula hospedeira. Para além disso, os organossulfurados e os flavonoides têm a capacidade de criar pontes de hidrogénio com os locais ativos da serina protease, e assim inibem a disseminação do coronavírus no hospedeiro. (43,62)

Nos estágios mais avançados da Covid-19, a inflamação atinge valores elevados devido à hiperprodução de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias por parte dos macrófagos. Em estudos *in vitro* direcionados ao tratamento da inflamação, utilizaram-se extratos aquosos de alho e foi possível observar a sua atividade anti-inflamatória. Os autores do estudo indicaram que o dialil sulfeto é o principal responsável por reduzir a expressão das citocinas pró-inflamatória, TNF- α e IL-1. (59,63)

No organismo humano é essencial manter a homeostasia, o que não ocorre quando o indivíduo se encontra doente, mas para tal é necessário eliminar a presença de radicais livres. Em alguns estudos destacou-se que o alil metil sulfeto e dialil sulfeto, compostos presentes no alho, suprimem o processo celular induzido pela angiotensina II, reduzindo a migração de espécies reativas de oxigénio. Por outro lado, a alicina (Figura 5.8) isolado do alho, tem capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica,

deste modo, a alicina previne lesões no cérebro induzidas pelas espécies reativas de oxigénio. (63)

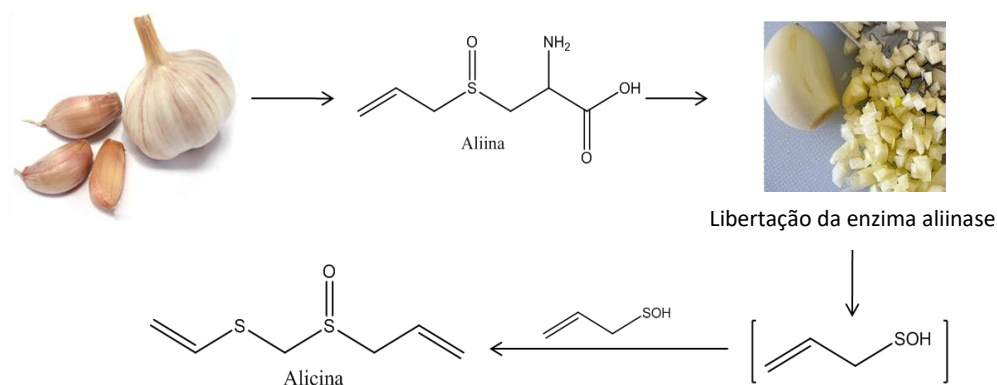


Figura 5.8 Transformação da alinina em alicina, devido à atuação da enzima aliinase

5.5. *Zingiber officinale* Roscoe

A espécie *Zingiber officinale* (Figura 5.9) é o nome científico para o gengibre, que por sua vez pertence à família Zingiberaceae. O gengibre é de origem asiática, mais especificamente na região leste e sul, mas já é produzido a nível global desde que as condições ambientais se encontrem nos seguintes intervalos: temperatura entre 19-28 °C, pH do solo entre 6-6,5 e humidade entre 70-90%. Atualmente, devidas às alterações climáticas como as secas e as inundações, a produção mundial é escassa e, portanto, a comercialização do gengibre é restrita e o seu preço é elevado. Contudo, os principais produtores que conseguem manter a produção sustentável são a Índia, a China, a Nigéria, o Nepal, a Indonésia, a Tailândia, o Japão e as Filipinas. Como a procura por este produto tem crescido nos últimos anos, seja na culinária, na cervejaria ou na indústria farmacêutica, a comercialização do gengibre aumentou e, assim o retorno financeiro também é elevado. O gengibre não só é, há muito tempo conhecido pela sua versatilidade na culinária como é bastante utilizado na medicina tradicional. Para além do seu alto teor nutricional, o gengibre mostrou eficácia nos efeitos analgésicos, antidiabético, anti-obesidade, anti-inflamatório, antiemético e na infertilidade masculina, etc. (64)

O gengibre é uma planta constituída por uma raiz tuberosa perene ou rizoma, que a tonalidade no seu interior varia consoante a subespécie, pode ser amarela, branca

ou vermelha. Se a planta for recolhida madura ou imatura, irá influenciar na pele que reveste o rizoma, pois pode ficar com pele castanha fina ou espessa. No entanto, dependendo do modo de cortar e de preparar o rizoma, pode ficar com várias cores, desde o branco até o castanho. Normalmente, os rizomas têm 7 a 15 cm de comprimento e 1 a 1,5 cm de largura. Esta também possui flores amarelas-esverdeadas e um caule ereto e redondo, envolvido pelas bainhas das folhas. Já os ramos com 1 a 3 cm, nas suas extremidades podem apresentar cicatrizes ou botões não desenvolvidos. (65)



Figura 5.9 *Zingiber officinale*

A composição química de *Z. officinale* divide-se em 2 grupos principais, os voláteis e os não voláteis. O grupo dos voláteis é responsável pelo odor aromático do gengibre, em que a maioria é formada por compostos terpenoides. Os compostos voláteis em maior concentração são o zingibereno (35%), curcumeno (18%) e farneseno (10%). No grupo dos não voláteis os compostos predominantes são gingeróis, shogaóis, paradóis, zingeronas, gingerdionas e gingerdióis. Todos estes compostos possuem o grupo funcional 3-metoxi-4-hidroxifenilo. Por sua vez, estes são os que desencadeiam a sensação de “quente” quando ingerido. Os gingeróis (Figura 5.10) possuem cadeias alquílicas não ramificadas compridas e estão presentes no rizoma fresco. Já os shogaóis (Figura 5.10) encontram-se em maior quantidade no gengibre seco, uma vez que estes são a forma desidratada dos gingeróis. O paradol (Figura 5.10) é secretado quando ocorre o processo de hidrogenação do shogol. No grupo dos não voláteis, também se engloba o diaril-heptanoide com atividade antioxidante, que tem na sua estrutura um heptano e um grupo funcional fenil 1,7-dissubstituídos. No gengibre ainda é possível encontrar em menores quantidades oleorresinas, gorduras, ceras, hidratos de carbono, vitaminas e minerais. (65,66)

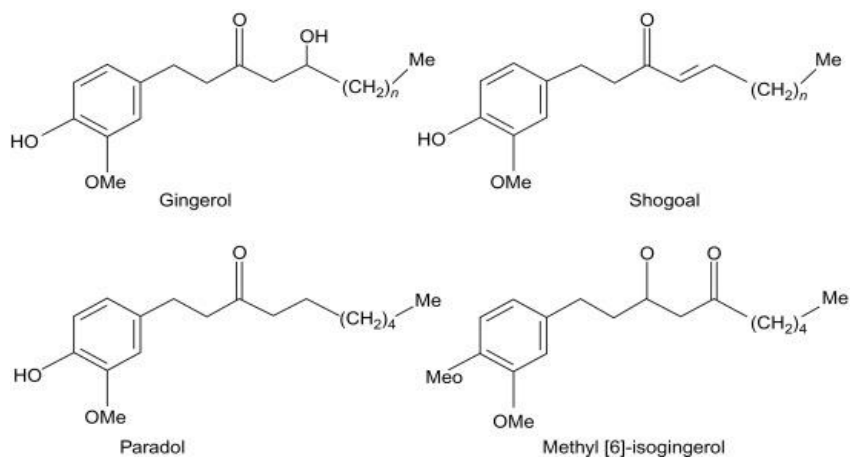


Figura 5.10 Estrutura do gingerol, shogaol, paradol e metil-6-isogingerol.

Excluindo as indicações terapêuticas já documentadas, durante a pandemia estudou-se o potencial do gengibre no efeito antiviral contra o coronavírus. E como tal, num estudo *in silico* através de *docking*, o gengibre apresentou afinidade para interagir com a protease PLpro, o que leva a que a replicação do vírus não ocorra porque esta protease fica bloqueada. No mesmo estudo, o 6-gingerol foi eficiente em bloquear a proteína *spike* do SARS-CoV-2 porque mostraram interação crítica com o importante resíduo TYR453 da proteína *spike*. Com esta interação o vírus não consegue realizar a ligação com o recetor da célula hospedeira, e entrar na célula. Há, ainda, outros compostos do gengibre que demonstraram afinidade com o recetor ACE2 da célula hospedeira. Os compostos, por ordem crescente de afinidade são: 10-gingerol, 8-gingerol, 10-shogaol, escopoletina, 8-paradol e 10-paradol. (43,67)

Em diversos estudos concluiu-se que os compostos de *Z. officinale* suprimiram a inflamação decorrente na infeção por coronavírus, visto que a dose de 1g/Kg de gengibre inibiu a migração e ativação dos monócitos, macrófagos e neutrófilo, como também reduziu a secreção das citocinas inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α . Mais especificamente, a zingerona demonstrou reduzir a acumulação de neutrófilos, consequentemente, diminuição da atividade da mieloperoxidase, e assim diminui a hemorragia alveolar nos pulmões. Num estudo *in vivo* em murganhos, os shogaóis (6-shogaol, 8-shogaol e 10-shogaol) e gingeróis (8-gingerol e 10-gingerol, 1-dehidro-10-gingerdiona e 6-desidrogingerdiona) foram eficazes na diminuição da produção de TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, MCP-1 (do inglês *monocyte chemoattractant protein-1*), COX-2, iNOS (do inglês *inducible nitric oxide synthase*) e NO (do inglês *nitric oxide*) em macrófagos. (68)

5.6. *Curcuma longa* L.

A espécie *Curcuma longa* (Figura 5.11) é nativa da Índia e é membro da família Zingiberaceae, e o seu nome comum é açafrão da terra. Para além de ser uma especiaria, já há mais de 4000 anos que se conhecem as suas propriedades medicinais. Nos livros de medicina tradicional foram descritos casos em que o tratamento com *C. longa* foi eficaz na artrite reumatoide, conjuntivite, desparasitante, desinfetante e cicatrizante de feridas, regulação de distúrbios menstruais e digestivos, entre outras propriedades. Atualmente, para a medicina tradicional, o açafrão continua a ser a primeira escolha em diversas situações devido à atividade anti-inflamatória, antioxidante e digestiva. (69,70)

O açafrão é uma pequena planta sem caule, que possui folhas verdes oblongas ou lanceoladas, em que a tonalidade de verde na face inferior é mais clara. Já as flores têm uma tonalidade amarelo-clara com uma cobertura avermelhada, enquanto a bráctea é verde com uma tonalidade púrpura. Esta planta pode atingir 1 m de altura, mas é normal crescer até 2 m. Por fim, o rizoma é a parte da planta que ao ser transformada em pó, com cheiro amadeirado e sabor amargo, pode ser utilizada como especiaria ou para fins medicinais. A espécie *C. longa* só se desenvolve em solos ricos com pouca areia e, onde a temperatura média do ar varia entre 20 a 30°C e com uma precipitação anual adequada, ou seja, cresce em regiões tropicais e subtropicais. A colheita do açafrão ocorre entre 7 a 9 meses após a sua plantação, na altura em que as folhas ficam secas e amareladas. (71)



Figura 5.11 *Curcuma longa*

Esta especiaria é constituída por uma grande quantidade de sesquiterpenos voláteis, monoterpenos e outros compostos aromáticos. Os principais componentes voláteis presentes no rizoma do açafrão incluem, *ar*-turmerona, α -turmerona e β -turmerona, α -

zingibereno, curlona, *ar*-curcumeno, α -santaleno, santalenona, β -sesquifeelandreno, (*Z*)- β -ocimeno, β -bisaboleno, β -cariofileno, α -felandreno, (*Z*)- β -farneseno, óxido de humuleno, β -selineno, óxido de cariofileno, (*E*)- γ -atlantona, 1,8-cineole e terpinoleno. Destes voláteis presentes no rizoma de *C. longa*, o teor de *ar*-turmerona e *ar*-curcumeno é mais elevado (Figura 5.12). Por outro lado, os principais constituintes das folhas são α -felandreno, terpinoleno, β -sesquifelandreno, *p*-cimeno, 1,8-cineole e mirceno. Por último, a flor do açafrão é rico em *p*-cymen-8-ol e terpinoleno. (72)

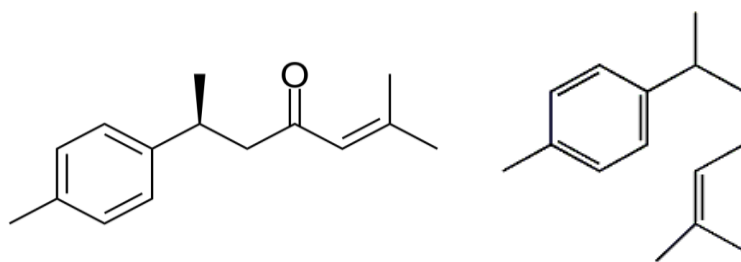


Figura 5.12 Estrutura da esquerda é a *ar*-turmerone e da direita é a *ar*-curcumene

Anterior ao surto de SARS-CoV-2, a *C. longa* já tinha sido investigada para tratamentos contra o vírus da dengue, o vírus Zika ou o HIV. Desta forma, o objetivo dos novos estudos era perceber o mecanismo de ação contra o coronavírus. Assim sendo, um estudo *in vivo* em murganhos realizado contra os antigos coronavírus, revelou que a *C. longa* tinha afinidade tanto para o recetor ACE2 como para a proteína *spike*, ou seja, inibe que o vírus entre em contacto com a célula hospedeiro para depois replicar-se no seu interior. Assim, como o coronavírus só se liga à célula hospedeira através da sua proteína *spike* que interage com o recetor ACE2 do hospedeiro, então é possível por a hipótese que *C. longa* pode também ser um promissor inibidor duplo para o novo coronavírus, visto que inibe em simultâneo diretamente e indiretamente o contacto do vírus com o hospedeiro. Para verificar esta informação realizaram-se diversos estudos *in silico*, que comprovaram esta afinidade. Por outro lado, esses estudos demonstraram que o açafrão da terra também cria uma forte interação com o M^{pro}, o que proporciona o bloqueio direto do processo replicativo do coronavírus. Esta capacidade inibitória do M^{pro} é elevada devido ao facto do açafrão formar pontes de hidrogénio, interações Van der Waals e interações hidrofóbicas com a principal protease do SARS-CoV-2 (M^{pro}). Em outros estudos, concluiu-se que *C. longa* também era capaz de inibir outra protease essencial para o coronavírus, a 3CL^{pro}. Na literatura, alguns autores referem que esta planta consegue diminuir eficazmente a carga viral no organismo em menos tempo que

outros medicamentos de síntese, logo os doentes testados positivos ao SARS-CoV-2 e tratados com *C. longa* pode prevenir a evolução para a fase mais crítica da doença. (43,73,74)

No processo de inflamação, o sistema imunitário com resposta induz o complexo multiproteico intracelular inflamassoma, que tem a função de maturação e secretar as citocinas inflamatórias. Perante esta informação, num estudo *in vivo* em murganhos, percebeu-se que *C. longa* tem atividade anti-inflamatória porque silencia este inflamassoma. Num estudo *in vitro* em HCAEC (do inglês *human coronary artery endothelial cells*), *C. longa* apresentou efeito sobre as células ATII (do inglês *Alveolar type II*), por diminuir a sua morte. As células ATII são o principal alvo do coronavírus, e quando ocorre esta interação desencadeia-se a morte apoptótica destas células causando lesões pulmonares. No entanto, o açafão também tem capacidade de inibir a secreção de COX-2. Na literatura, indica-se que a dosagem segura e eficaz para diminuir a inflamação, é de cerca 450-550 mg/dia para um adulto de 70 Kg. Apesar de existirem estudos onde se tenha verificado a propriedade anti-inflamatória do açafão da terra, são escassos os que são direcionados à inflamação que ocorre num estágio da Covid-19. (75,76)

Apesar daqueles resultados, *C. longa* apresentava baixa biodisponibilidade como também rapidamente era metabolizada e eliminada do organismo, devido à baixa solubilidade em água. Este fator torna-se uma desvantagem que influencia na escolha do açafão da terra para o tratamento da Covid-19, visto que a sua eficácia está comprometida. De forma a ultrapassar este problema, pôs-se a hipótese de uma fórmula lipossomal de *C. longa* e a nanoencapsulação da mesma. A vantagem da nova formulação era aumentar a solubilidade em água e, portanto, a otimização da eficácia terapêutica. Já o recurso da nanotecnologia promoveu maior absorção das nanopartículas por parte dos macrófagos, como também a carga positiva facilita a rápida entrada nos macrófagos. A nanotecnologia tem o efeito antiviral através de diversos mecanismos de ação distintos: inativação direta ou indireta viral, fixação de vírus nas células hospedeiras, penetração viral e replicação viral. (43,73)

5.7. *Cinnamomum* sp.

A canela é uma especiaria muito recorrente na gastronomia em todo mundo, mas desde o início da medicina tradicional que se utiliza para diversos fins. A canela é

proveniente da transformação da casca interna de várias espécies: *Cinnamomum camphora*, *C. burmanii*, *C. zeylanicum*, *C. osmophloeum*, *C. cassia* e *C. verum*. Estas plantas são nativas do Sri Lanka, mas atualmente os países com maior produção de canela são a Indonésia, a China e o Vietnã. Até à data do início da pandemia, a atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, cardioprotetora, antibacteriana, entre outras foram referidas e compiladas. (77)

As diversas espécies do género *Cinnamomum* (Figura 5.13) são membros da família Lauraceae, então não possuem diferenças significativas entre elas, logo a descrição botânica será realizada de um modo geral de modo a abranger todas as espécies. Elas são árvores com dimensões intermédias, que podem alcançar 10 a 15 m de altura. Possuem uma casca grossa com uma cor castanha pálida. Algumas extremidades dos vários ramos compactos podem ter numerosas inflorescências. Enquanto a superfície externa da casca é ondulada com linhas longitudinais e rebentos laterais, a superfície interna é castanha escura com estrias longitudinais e fraturas curtas e lascada. A casca é a parte da árvore que origina a canela que tem um cheiro suave e sabor doce. Ao nível das flores, estas são de cor branca com tonalidades esverdeadas ou amareladas e, possuem pedúnculos mais compridos que as próprias folhas. Já as folhas são coriáceas e com uma forma entre oblonga a oval. O fruto das espécies do género *Cinnamomum* possui uma cor púrpura escura e tem pequenas dimensões, podendo alcançar no máximo, 1,7 cm de comprimento. (78)



Figura 5.13 *Cinnamomum*

Ao nível da composição química das espécies do género *Cinnamomum*, até ao momento já foram isolados e documentados 306 compostos diferentes, que podem ser divididos em 9 classes e subclasses. Assim sendo, a árvore da canela contém 111

terpenos, 44 fenilpropanoides, 51 lignanos, 17 flavonoides, 53 compostos aromáticos, 17 compostos alifáticos, 4 cumarinas, 2 esteroides e 7 outros constituintes. (79)

Nos estudos *in silico* realizados, após o surgimento do SARS-CoV-2, o objetivo era identificar o mecanismo de ação da canela e não de outras partes das *Cinnamomum*. E como tal, a canela mostrou atividade antiviral porque bloqueia a fixação do coronavírus ao recetor da célula hospedeira. Este recetor é o GRP78, que em situações de stress a célula hospedeira expõem-no na sua superfície. Por sua vez, durante o estudo verificou-se que a canela reduzia as condições de stress e, assim suprimia a exposição do recetor na superfície. Para além, de se verificar que a canela tem afinidade com um substrato desse recetor, que se denomina por HSPA5 β (SBD β). Nesta situação, a interação entre a canela e o substrato, influenciará o reconhecimento do recetor por parte do vírus, logo não haverá fixação do vírus na célula hospedeira. Por outro lado, concluiu-se que alguns fitocompostos isolados da canela ligam-se eficazmente à proteína *spike* do vírus e às principais proteases virais, que é o caso do kaempferol, da quercetina, da rutina, do cinamaldeído e do acetato de cinamilo. Desta forma, é bloqueada a interação do vírus com o hospedeiro e é suprimido o processo replicativo. (43,80)

Em outra investigação isolou-se alguns compostos da casca da *Cinnamomum zeylanicum*, que são trómeros e pentâmeros de proantocianidina tipo A. Estes apresentaram capacidade de interagir com 2 recetores da célula hospedeira, o CXCR4 e o CCR5, logo o vírus não conseguirá interagir com a célula para depois entrar e replicar-se. A canela demonstrou ter uma capacidade antiviral bastante completa porque para além dos possíveis mecanismos atrás referidos, ainda possui compostos fenólicos com afinidade para o recetor ACE2, que são os seguintes: kaempferol, quercetina, rutina, cinamaldeído, acetato de cinamilo e tenufolina. Para escolher o melhor solvente de extração bem como a concentração adequada para surtir efeito realizaram-se alguns estudos comparativos. Verificou-se que um extrato aquoso de canela, com 5,0 mg de canela seca/mL, suprimiu a ACE2 em 98,83%, enquanto um outro extrato aquoso, com 0,5mg de canela seca/mL, apenas inibiu 10,51%. Também se estudaram extratos etanólicos com as mesmas concentrações de canela sob a forma de extratos aquosos. E mais uma vez a concentração elevada mostrou inibir mais eficazmente, pois o valor obtido foi de 97,24% contra 18,03% do extrato etanólico de menor concentração de canela. Portanto, para a concentração mais elevada do extrato, o tipo de solvente não influencia a

atividade, ao passo que para a concentração mais baixa, o etanol poderá ser considerado relativamente melhor. (43,80)

Na literatura já era conhecida a propriedade anti-inflamatória da canela, mas os estudos direcionados à Covid-19 são escassos. Em diversos estudos identificam que o extrato etanólico da canela inibe a secreção das citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6), e que os compostos que proporcionam essa propriedade são fundamentalmente o cinamaldeído [estudo *in vitro* em células RBL-2H3 (do inglês *Rat Basophilic Leukemia 2H3*)], o eugenol (estudo *in vitro* em sistemas de fibroblastos dérmicos humanos), o ácido cinâmico (estudo *in vivo* em condrócitos) e a frações de polifenólica (estudo *in vivo* em murganhos imunocomprometidos). O mesmo extrato, num estudo *in vitro* em células HeLa-TLR4 (do inglês cells *Helen Lane Toll Like Receptor 4*) suprimiu uma etapa essencial do processo inflamatório, as vias de sinalização dos recetores *toll-like* (TLR2 e TLR4). Dentro dos compostos, destaca-se o *trans*-cinamaldeído (Figura 5.14) por diminuir significativamente a produção da citocina IL-8 por parte de células de linhagem monocítica humana THP-1. O mesmo compostos, também atuou sobre os macrófagos RAW 264,7 inibindo a secreção de IL-1 β , IL-6 e TNF- α . (81)

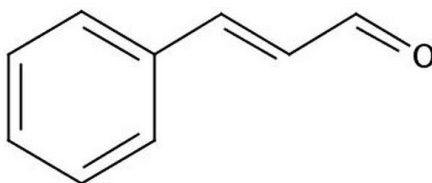


Figura 5.14 Estrutura do *trans*-cinamaldeído

5.8. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze

A espécie *Camellia sinensis* (Figura 5.15) pertence à família Theaceae, e é mais conhecida como chá verde. A ingestão de chá começou por acaso, quando o rei chinês Shen Nung percebeu o sabor e cheiro agradável de folhas fervidas em água. Desde então a produção de chá aumentou exponencialmente, uma vez que é a bebida não alcoólica mais ingerida no mundo. No entanto, o cultivo de chá não acompanha o aumento da procura devido aos atuais patogénicos e doenças que comprometem o crescimento das plantas desta espécie. O chá verde é proveniente da China, e atualmente é muito procurado pelas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, antivirais, antibacterianas, antiparasitário, entre outras. (82,83)

O chá verde quando cultivado para consumo, em condições controladas, cresce até 0,6 a 1,5 m de altura, mas na natureza fica uma árvore com 10 a 15 m de altura. Por norma, as folhas são verdes claras com 5 a 30 cm de comprimento, em que os seus pedúnculos são pequenos. As folhas alternam entre si, são do tipo coriáceas e de contorno lanceolado. Após atingir o estágio de amadurecimento, as folhas ficam com uma tonalidade verde mais brilhante. Esta planta pode apresentar as suas flores em cacho ou podem ser solitárias. Em ambas as situações, as flores são brancas com 4 cm de diâmetro e cada uma possui vários estames com anteras amarelas. Por fim, o fruto divide-se em 3 partes, cada uma com uma semente, pelo que em conjunto originam uma forma redonda e achatada. De um modo geral, para que os chás possam ser ingeridos, é necessário colher as folhas e deixá-las a secar e, nalguns casos passar por um processo de oxidação enzimática, erradamente designada por fermentação, em que a oxidação é elevada (chá preto). Mas não é o caso do chá verde porque é o tipo de chá que não é necessário tal processo, pois as folhas são tratadas com vapor quente para evitar a oxidação enzimática, mas depois é necessário a secagem. (84)



Figura 5.15 *Camellia sinensis*

Na espécie *Camellia sinensis* é possível encontrar cerca de 4000 metabolitos, mas o grupo mais abundante é constituído pelos polifenóis. As catequinas são responsáveis pelo sabor. As catequinas em maiores concentrações são: (-)-epigallocatequina, galato (-)-epicatequina, (-)-epicatequina e (-)-epigallocatequina (Figura 5.16). As catequinas (Figura 5.16) encontram-se em maiores quantidades quando o chá não passou por um processo de oxidação enzimática, portanto no chá verde estão em concentrações relativamente mais elevadas do que no chá preto. Ainda são escassos os estudos sobre as propriedades medicinais deste grupo de fitocompostos, visto que é difícil isolá-los das folhas. Por outro lado, os compostos responsáveis pela cor alaranjada da infusão são as teaflavinas (Figura 5.16), como por exemplo: digalato de 3-3'-teaflavina, 3-galato de

teaflavina, 3'-galato de teaflavina e teaflavina. Para além, do chá conter compostos fenólicos simples (ácido *p*-cumárico e ácido cafeico), alcaloides purínicos ou metilxantinas (teofilina, teobromina e cafeína), aminoácidos, hidratos de carbono, lipídios, compostos voláteis e vitaminas. (85)

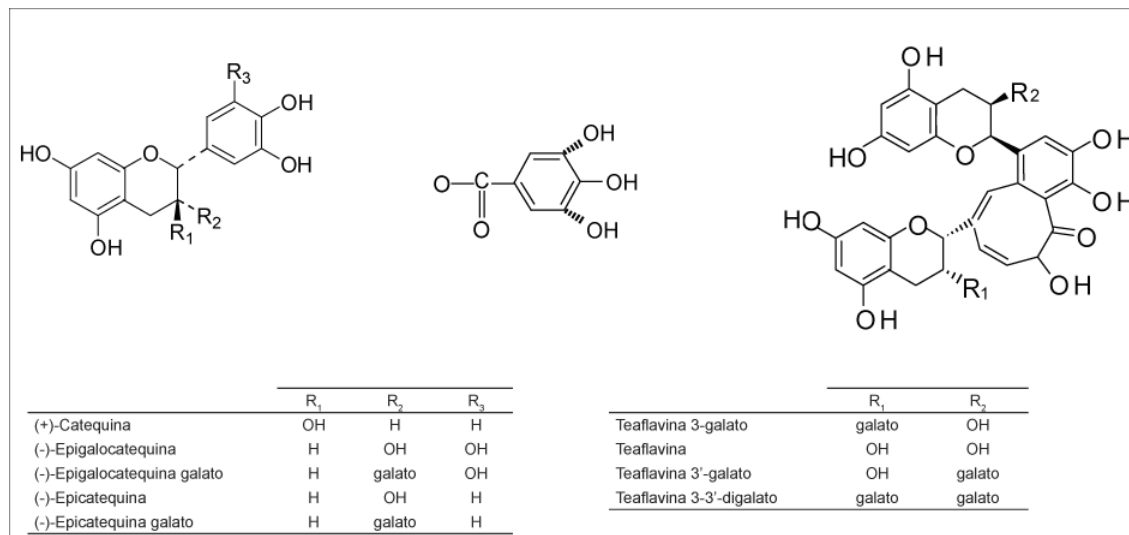


Figura 5.16 Estrutura das catequinas e das teaflavinas

O chá verde já era utilizado pela medicina tradicional no tratamento de HIV e do vírus influenza, portanto, poderia ser um potencial tratamento da Covid-19. Como as folhas de *C. sinensis* tinham elevadas concentrações de catequinas, então os estudos tentaram isolá-las e verificar os seus mecanismos de ação. Num dos estudos *in vitro* em células HEK (do inglês *Human Embryonic Kidney*) o objetivo era comparar a eficácia do remdesivir com (-)-epigalocatequina extraída das folhas, mostrando maior afinidade com a protease viral, M^{pro}, do que o fármaco sintético. Além disso, o mesmo composto mostrou inibir a ligação do complexo, proteína *spike* do vírus com o recetor ACE2 do hospedeiro, logo há o impedimento da entrada do vírus na célula hospedeira. Por outro lado, a (-)-epigalocatequina também demonstrou criar pontes de hidrogénio com o oxigénio carbonílico da protease PL^{pro}. Mas não fica por aí a atividade antiviral deste composto, num estudo *in silico* demonstrou bloquear um alvo essencial ao processo replicativo do vírus, que é a enzima RNA polimerase (RdRp, do inglês *RNA-dependent RNA polymerase*). Os compostos polifenólicos também foram analisados em outro estudo, em que foi notório as suas afinidades com a metaloproteinase de matriz, uma das principais proteases do vírus. Em outro estudo *in silico* através de *Autodock 4.2*, verificou-se que as tearubiginas de cor castanha presentes no chá verde (polímeros

heterogéneos das catequinas) e conclui-se que tinham potencial em suprimir o processo de replicação do coronavírus, uma vez que interage com 3CL^{pro}. (86–88)

Relativamente à propriedade anti-inflamatória, realizaram-se estudos onde avaliaram a capacidade de alguns metabolitos de inibir as citocinas inflamatórias. Assim, as catequinas também apresentaram atividade inibitória de iNOS e da COX-2. Dos compostos que foram isolados e testados, a (-)-epigallocatequina destacou-se pelo seu potencial. A (-)-epigallocatequina foi capaz de reduzir a expressão do recetor *toll-like 4* e o recetor *toll-like 2*, e assim está suprimido a produção das citocinas inflamatórias. Na maioria das investigações, as catequinas foram sempre as que mostraram melhores resultados na inibição da inflamação, então estes compostos têm o potencial de diminuir o risco de a doença evoluir para fases de maior gravidade. (89)

Com a explosão de casos positivos à Covid-19, e com as informações acerca das propriedades da *C. sinensis*, um estudo resolveu investigar a associação causal do chá verde com a evolução da doença. Neste estudo, verificou-se que a ingestão do chá diminui 13% o risco de contrair o vírus, uma vez que este aumenta a resposta do sistema imunitário. Por oposição a ingestão do chá verde diariamente não influenciou no aumento da gravidade dos sintomas da Covid-19, então não diminui o número de hospitalizações. Portanto, com este resultado negativo, os autores concluíram que era necessário estudar em específico os fitocompostos porque a gravidade da infeção viral pode diminuir devido à administração destes, em vez da simples ingestão diária do chá. (88)

5.9. *Piper longum* L.

Piper longum (Figura 5.17) é o nome científico para a pimenta longa, que pertence à família Piperaceae. Era um recurso utilizado em diversos países que seguiam a medicina tradicional, pois em cada país administrava-se para diferentes fins medicinais. Numa ilha da Nova Zelândia, realizavam um extrato aquoso das folhas para aplicar topicamente nos seios, em doentes com cancro da mama. Já na Índia descobriram que as raízes e os frutos do *P. longum*, tinham um papel fundamental no tratamento da tosse e bronquites crónicas, como também era um ótimo antídoto contra a picada de cobra e escorpião. Enquanto na Tailândia, em situações de pós-parto, recorriam aos frutos, tanto verdes como maduros, como estimulador da contração do músculo do uterino. Na China indicavam a administração dos frutos para tratamento de espasmos intestinais, vômitos,

refluxo gástrico, dor de cabeça e rinite. Por último, no Bangladesh utilizavam a característica picante dos frutos do *P. longum* como desparasitante, expetorante, inibidor da flatulência e estimulante do apetite, também utilizavam as raízes para tratar a asma e bronquite. Para além destas indicações terapêuticas, esta planta também mostrou propriedades antidiarreicas, anti-inflamatórias, contra hemorróidas, de regular distúrbios intestinais, entre outras. (90)

A pimenta longa é um arbusto de pequenas dimensões com caules rastejantes, grandes raízes e flores solitárias. As dimensões das folhas, sem estípulas, variam consoante as suas posições, pois as folhas em posição mais baixa têm 5 a 7 cm de comprimento, enquanto as folhas em posição superior só têm 2 a 3 cm. Os frutos com forma oblonga possuem uma cor verde-escura, crescendo nas extremidades da planta. Esta planta possui espigas, que quando atingem a fase madura estão prontas para ser colhidas e secas para comercialização. No entanto, também se comercializam as raízes e caules que possuem um cheiro característico e um sabor forte e amargo. (91)



Figura 5.17 *Piper longum*

Na constituição química de *P. longum* é possível identificar fenóis, taninos, saponinas, alcaloides, flavonoides, glicosídeos, esteróis, óleos essenciais e terpenoides. No entanto, o fitocomposto com maior concentração no fruto é a piperina, mas também estão presentes asarinina, pelitorina, retrofractamida A, piperlongumina, braquistamida A e longamida A. Os óleos essenciais presentes nas raízes, folhas, caules e frutos, são na maioria monoterpenos, ésteres aromáticos e sesquiterpenos. (92)

Relativamente à propriedade antiviral de *P. longum*, num estudo *in silico*, o composto isolado com maior afinidade com a protease M^{pro} e o recetor ACE2, foi a

piperolactama A, um alcaloide (Figura 5.18). Desta forma, este mecanismo de ação impede o processo replicativo do SARS-CoV-2. (93)

Um outro composto, a piperlongumina (Figura 5.18), também um alcaloide, demonstrou atividade anti-inflamatória, uma vez que foi capaz de diminuir a expressão de genes inflamatórios induzidos por lipopolissacáridos em células microgliciais e, assim a secreção das citocinas inflamatórias é suprimido. Por outro lado, o mesmo fitocomposto reduz os níveis de glicose, o influxo de linfócitos, os macrófagos e os neutrófilos. (94)

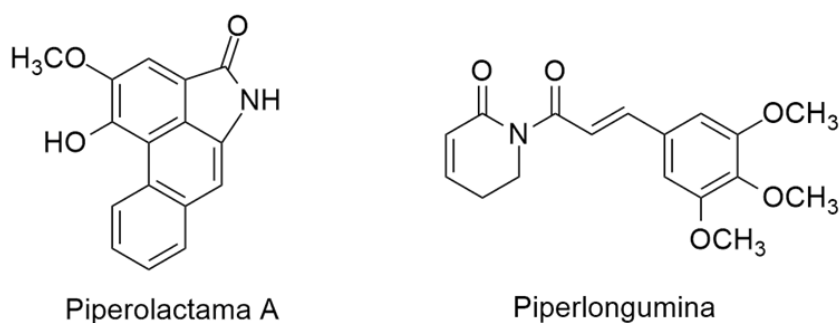


Figura 5.18. Estrutura química de dois alcaloides que se encontram em *Piper longum*.

5.10. *Ocimum tenuiflorum* L.

A espécie *Ocimum tenuiflorum* (Figura 5.19) é um membro da família Lamiales, é conhecido por manjeriço sagrado ou tulsi. Na medicina tradicional, pensava-se que o tulsi conseguia penetrar os tecidos profundos porque quando ingerido tinha um sabor quente e amargo. Esta espécie está indicada para reduzir a ansiedade e stress do quotidiano, promover a longevidade e prevenir o aparecimento de doenças. Assim, indica-se a ingestão diária para ter o efeito desejado. O manjeriço sagrado, segundo a literatura relacionada a este ramo da medicina, descreve que esta espécie trata também a tosse, asma, febre, artrite, doenças oculares, distúrbios gastrointestinais, problemas cardíacos, dores nas costas, doenças de pele, picadas de insetos, etc. Estudos laboratoriais têm detetado as seguintes propriedades: atividade antimicrobiana, desparasitante, anti-diarréico, antioxidante, anticatarata, anti-inflamatório, hepatoprotetor, neuroprotetor, cardioprotetor, antidiabético, anti hipercolesterolemia, anti-hipertensivo, anticancerígeno, analgésico, antialérgico, imunomodulador, antitússico, etc. (95)

O manjeriço sagrado é nativo de regiões tropicais, sendo a Índia o seu maior produtor. Este cresce entre 30 a 60 cm, sendo bastante ramificado e com folhas aromáticas. As folhas de 5 cm de comprimento são elípticas e oblongas, pelo que as suas margens podem variar entre inteiras ou dentadas. Já as flores roxas-esbranquiçadas distribuem-se em ramos compridos. Os frutos possuem sementes com tonalidade entre o amarelo e o vermelho. (96)



Figura 5.19 *Ocimum tenuiflorum*

Resumidamente, o manjeriço sagrado contém taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, antraquinonas e açúcares redutores. Mais especificamente, a partir desta planta é possível extrair um óleo essencial contendo, eugenol, linalol, metil cinamato, estragol e 1,8-cineole. No entanto, apenas as folhas e flores do *O. tenuiflorum* possuem destes compostos na sua composição. Já o caule e as folhas apresentam os mesmos fitocompostos, como sejam as saponinas, flavonoides, triterpenoides e taninos. (97)

Dentro dos compostos mencionados acima, os extratos de polifenólicos e terpenoides demonstraram propriedade antiviral contra o vírus influenza, visto que cria ligação com proteínas essenciais na replicação viral. Logo, havia probabilidade de *O. tenuiflorum* ser um potencial recurso natural para o tratamento da Covid-19. Desta forma, com a realização de diversos estudos *in silico*, notou-se que um extrato de flavonoides e polifenóis, com concentrações elevadas de luteolina-7-*O*-glicuronídeo e de ácido clorogénico, tem afinidade com a principal protease do coronavírus. Já o tulsinol mostrou criar uma forte interação com o recetor da célula hospedeira, o ACE2, e com a PLpro. O ácido rosmarínico (ácido fenólico) e a orientina (flavonoide), também conseguem acoplar com o recetor ACE2. Portanto, todos estes fitocompostos conseguem bloquear a entrada do vírus e a sua devida replicação. (43,98)

Num estudo *in silico*, ao nível da atividade anti-inflamatória, o composto eugenol (Figura 5.20) isolado das folhas do *Ocimum tenuiflorum* inibiu a ativação das células dos monócitos, e conseqüentemente reduz a expressão da IL-6 e MIP-1. Durante o ciclo de infecção do SARS-CoV-2, a produção do fator de transcrição pró-inflamatório NF-Kb (do inglês *nuclear factor kappa B*) é estimulada pela proteína *spike* do vírus. Quando ocorre esta estimulação, aumenta a secreção das citocinas inflamatórias. O eugenol, independentemente da dose administrada, conseguiu inibir a expressão do IL-1 β , IL-6 e TNF- α . (99,100)

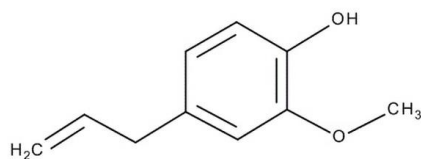


Figura 5.20 Estrutura do eugenol

6. Atividade antiviral dos produtos marinhos

O oceano é o habitat de 80% de espécies vegetais e animais existentes em todo o mundo, por isso é uma potencial fonte de diversidade. No ambiente marinho é possível destacar alguns seres vivos a partir dos quais é possível extrair metabolitos com propriedades anti-infecciosas, como por exemplo: esponjas, tunicados, peixes, corais moles, lulas marinhas, algas, briozoários, camarões, conchas, lesmas do mar e microrganismos marinhos. Desta forma, a comunidade científica viu aqui uma oportunidade de investigar os produtos marinhos para o tratamento da Covid-19. Esta necessidade foi crescendo ao longo da pandemia, devido ao aparecimento sequencial de novas variantes do SARS-Cov-2 (Alfa, Beta, Gama, Delta e Omicron), que eram cada vez mais contagiosas e as regras de mitigação não surtiam efeito suficiente, para além de que o coronavírus, nos últimos anos, é o terceiro vírus com maior propagação na população. (101–103)

A base de informações disponível já eram um ponto de partida para iniciar tais estudos, uma vez que já se documentaram alguns agentes anti-infecciosos, como já referido em cima. Deste modo, havia estudos a cerca da atividade antiviral das algas, e que se devia sobretudo aos polissacáridos sulfatados extraídos. Outro potencial agente

anti-infeccioso são as bactérias marinhas, visto que existe um número considerável de estudos sobre esta temática. Um exemplo é o extrato das esponjas tunisinas *Sarcotragus* sp. com atividade contra a leishmânia, outro exemplo inclui um metabolito extraído das esponjas *Acanthella* sp. com atividade contra a malária. Por outro lado, os metabolitos secundários e bioativos das cianobactérias apresentaram eficácia na diminuição da neurotoxicidade e da citotoxicidade, como também mostraram atividade antiviral contra HCMV, HSV-1 e HIV-1. Alguns compostos bioativos (dolastatina, criptoficina 1, cianovirina-N e ficocianina) foram essenciais para desenvolver medicamentos novos, em que alguns foram objeto de estudo em ensaios clínicos e, obtiveram resultados positivos nas Fases I, II, III e IV. Tal como os restantes, os análogos de nucleosídeos de esponjas marinhas foram essenciais para o desenvolvimento de novos medicamentos antivirais, como é o caso dos fármacos vidarabina e citarabina, que nas suas estruturas obtidas por síntese tiveram como modelo os nucleosídeos esponouridina e espongotimidina. (101,102,104,105)

Desta maneira, os produtos marinhos são uma opção com potencialidade para encontrar novos candidatos a medicamentos no fluxograma da terapêutica da Covid-19. Contudo, para tal é necessário identificar quais os produtos marinhos com mecanismo de ação que inclua, por exemplo a inibição da proteína *spike* e da enzima conversora de angiotensina 2. (103)

Esta secção concentra-se em compilar alguns dados sobre a investigação que sem sido feita sobre os produtos marinhos com atividade contra o SARS-CoV-2. A informação de cada exemplo de produto marinho, foi recolhida em artigos publicados no PubMed, no Science Direct e no Google Scholar. A escolha destes exemplos que irão ser focados na presente monografia baseou-se nos produtos marinhos com atividade biológica referidos mais vezes em diversos artigos consultados durante a pesquisa, mas tinham de incluir também estudos na área do tratamento da Covid-19. Encontraram-se referências sobre produtos marinhos com atividade antiviral, mas sem referência ao SARS-CoV-2. A abordagem deste assunto será feita começando por apresentar as atividades de alguns compostos de origem marinha, no grupo de seres vivos marinhos, seguindo-se as fontes onde se podem encontrar tais compostos.

6.1. Algas marinhas

As atividades farmacológicas das algas marinhas têm sido amplamente estudadas principalmente sobre os seus efeitos antiviral, antibacteriano, antidiabético, anticancerígeno, anti-inflamatório, imunomodulador e antioxidante. As algas marinhas pertencem pelo menos a três divisões, as algas vermelhas (*Rhodophyta*), as algas castanhas (*Phaeophyta*) e as algas verdes (*Chlorophyta*). Apesar de existirem características que as diferenciam, de um modo geral as algas possuem uma composição química rica em polifenóis, flavonoides, alcaloides, taninos, esteróis, ácidos gordos essenciais, enzimas, polissacáridos sulfatados, proteínas, peptídeos, vitaminas e minerais. São os pigmentos que lhes conferem uma cor específica, uma vez que a clorofila a e b conferem a cor verde às algas do filo *Chlorophyta*, a ficoeritrina e a ficocianina são responsáveis pela cor vermelha das algas do filo *Rhodophyta* e, por fim, a xantofila e a fucoxantina proporcionam a cor castanha das algas do filo *Phaeophyta*. (106,107)

Os compostos bioativos das algas exibem propriedades farmacológicas que podem ser importantes no tratamento contra o SARS-CoV-2. No entanto, é de salientar que as concentrações dos compostos bioativos nos seres vivos marinhos dependem de condições ambientais, como a temperatura, salinidade, pH, luz solar e disponibilidade de dióxido de carbono. (107)

Concentrando apenas no grupo dos compostos bioativos polifenólicos é possível destacar a presença de compostos, como flavonoides, florotaninos e bromofenóis. Diversos estudos têm mostrado a capacidade anti-inflamatória da maioria dos florotaninos. Estes mostraram efeito sobre diversas fases da cascata inflamatória pois são capazes de reduzir a expressão das enzimas iNOS e COX-2 como também, inibem a produção de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) e suprimem a translocação nuclear do NF- κ B. O efeito inibitório sobre NF- κ B é realizado principalmente pelo diecol devido à sua capacidade de suprimir a fosforilação da subunidade p65 e das quinases presentes no NF- κ B. Num determinado estudo, administrou-se diecol (florotanino) oralmente em murganhos e observou-se que este inibiu todas aquelas vias referidas anteriormente. Em um estudo comparativo dos metabolitos extraídos das algas com medicamentos padrão (ceftriaxona e a cefuroxima) no fluxograma terapêutico da Covid-19, recorrendo a uma análise de *docking* molecular, a floretina e o ácido cafeico

mostraram maior efeito antiviral contra o coronavírus. Nesta análise verificou-se que a acoplagem entre a proteína *spike* da variante Omicron do SARS-CoV-2 com ACE2 da célula hospedeira, fica comprometida na presença de floretina e do ácido cafeico porque têm efeito inibitório dos resíduos essenciais (ASN417, SER496, TYR501 e HIS505) da proteína *spike*. Para além disso, neste estudo verificou-se também que a floretina pode ser um coadjuvante otimizador da penetração de um medicamento porque a sua fluidez melhora a eficácia da ligação à membrana celular. (108–110)

Relativamente às proteínas e peptídeos presentes nas algas marinhas, consegue-se isolar glicoproteína, lectinas, ficobiliproteínas, aminoácidos semelhantes à micosporina, hidrolisados e peptídeos derivados de proteínas. De todos estes compostos isolados, algumas lectinas foram identificadas com potencial para o tratamento da Covid-19. As diversas lectinas ligadoras de manose extraídas das algas, foram alvo de estudo devido ao facto de o envelope dos vírus conter manose. Por sua vez, a lectina grifithsima foi uma das que inibiu a entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira porque é capaz de se ligar eficazmente com a proteína *spike* do vírus. A grifithsima é a lectina primordial em diversos estudos sobre a atividade antiviral das proteínas e peptídeos das algas, uma vez que, a sua semi-vida é elevada independentemente se for administrada parentérica ou oralmente. Por outro lado, e de um modo geral, as proteínas isoladas das algas têm efeito anti-inflamatório, mas algumas destacam-se por exercerem eficazmente essa atividade, como é o caso das lectinas. Desta forma, algumas lectinas conseguem inibir eficazmente a expressão de citocinas inflamatórias e reduzir a infiltração de neutrófilos. (111)

Os polissacáridos sulfatados também têm atividade antiviral e anti-inflamatória. A parede celular das algas contém um polissacárido sulfatado específico, as algas castanhas possuem fuicodano, as algas verdes têm ulvano e as algas vermelhas contêm carragenina. O fuicodano é capaz de exercer atividade anti-inflamatória porque inibe a secreção de citocinas inflamatórias, com potencial capacidade de reduzir a fibrose pulmonar em estágios graves da Covid-19. Ao nível da atividade antiviral, o fuicodano bloqueia o reconhecimento do alvo por parte do coronavírus e a posterior interação com o recetor ACE2 da célula hospedeira, pois tem afinidade com a proteína *spike*. O anticoagulante heparina está descrito como apresentado uma boa capacidade de se ligar à proteína *spike* do vírus SARS-CoV-2. Num estudo, verificou-se que os fuicodanos eram capazes de competir com a heparina na interação com a proteína *spike*,

concluindo-se no final que os fucoïdanos tinham até maior afinidade do que a heparina. Apesar de não existir estudos direcionados ao SARS-CoV-2, o mecanismo de a o da carragenina em outras infe o es virais passa por inibir a entrada das partículas virais na célula hospedeira, logo há uma possibilidade de desencadear o mesmo efeito no novo coronavírus. (106,112)

O grupo dos carotenoides presentes na constitui o das algas, abrange zeaxantina, neoxantina, α -caroteno, β -caroteno, fucoxantina, astaxantina e sifonaxantina. Nas investiga o es realizadas durante a pandemia, a fucoxantina foi o carotenoide com maior interesse para a comunidade científica. Após a administra o oral de fucoxantina, quando alcança o intestino   hidrolisada no seu metabolito ativo, o fucoxantanol, e seguidamente no fígado   transformada em amarouciaxantina A. Por sua vez, a fucoxantina tem efeito anti-inflamatório porque reduz a expressão das citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6). Num estudo de *docking* molecular, verificou-se a fucoxantina e a sifonaxantina são capazes de ter efeito antiviral contra o coronavírus. Na análise realizada notou-se que ambas criam liga o es de baixa energia, mas só a sifonaxantina   que encaixa perfeitamente no recetor ACE2 da célula hospedeira. Portanto, a fucoxantina não tem atividade antiviral e a sifonaxantina impede a liga o entre proteína *spike* e o recetor ACE2, logo esta inibe a entrada do coronavírus na célula hospedeira. (106,113,114)

Na constitui o das algas encontram-se ácidos gordos  mega-3 e  mega-6. Ao contrário dos restantes compostos bioativos apresentados, os estudos realizados com ácidos gordos são identificaram atividade anti-inflamatória. Este fator não os torna dispensáveis para o tratamento da Covid-19, porque na fase grave da doença, o aparecimento de edemas pulmonares pode justificar a utiliza o de medicamentos anti-inflamatórios. Dentro do grupo dos  mega-3   possível identificar ácido α -linol nico, ácido eicosapenten ico e ácido docosahexen ico. Num estudo comparou-se o valor do parâmetro bioquímico da gravidade da inflama o que   a proteína C reativa, antes e após uma dieta rica em ácidos gordos  mega-3, e conclui-se que a inflama o diminuiu. Para além de que estudos recentes, comprovaram que o grupo de ácidos gordos tem influência na inibi o da cascata da inflama o, uma vez que diminuem a expressão do NF- κ B e, por conseguinte, reduzem a síntese de citocinas inflamatória, como IL-6, TNF- α e IL-8. (115)

As vitaminas A, C, D, E, B e K que se encontram nas algas marinhas, tanto desencadeiam efeito anti-inflamatório como antiviral contra o SARS-CoV-2. O efeito anti-inflamatório é desencadeado pelas vitaminas D₃ e B₁₂, pelo que o mecanismo de ação é semelhante ao dos restantes compostos bioativos das algas. No entanto, a vitamina B₁₂ apresentou capacidade de inibir o processo replicativo do SARS-CoV-2, ou seja, a vitamina suprime a enzima responsável pelo processo, a RNA polimerase. (116)

O efeito antiviral dos minerais das algas, o que se destaca na literatura são o zinco e o selénio. O zinco impede a entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira devido à sua afinidade com o recetor ACE2, como também inibe a replicação viral no interior da célula hospedeira porque suprime a atividade da RNA polimerase. No entanto, o zinco mostrou ainda auxiliar na manutenção da integridade dos pulmões e na prevenção de problemas respiratórios graves durante os estágios da Covid-19. Já o selénio diminui a expressão de NF-κB e reduz a expressão de mediadores inflamatórios, como IL-12, iNOS, e IL-1β. (117)

6.1.1. *Ecklonia cava* Kjellman, 1885

Ecklonia cava (Figura 6.1) pertence ao grupo das algas castanhas, é uma alga comestível e usada com diversos fins medicinais. A produção desta alga é abundante tanto na Coreia como no Japão, com o objetivo de comercializá-la para a culinária, rações de animais, fertilizantes e medicina tradicional. Esta alga cresce em regiões costeiras com temperaturas acima de 10°C, pelo que se torna essencial a sua localização para otimizar a pesca a nível económico, visto que elas são alimento de moluscos pescados na zona costeira. No entanto, as alterações climáticas estão a modificar esta localização devido ao aumento da temperatura da água do mar, logo as algas distribuem-se em locais mais afastados da costa. (118,119)

Na literatura, documenta-se que *E. cava* possui efeito anti-hipertensor, anticancerígeno, antidiabético, anti-inflamatório, anti-obesidade, antioxidante e antiviral. A comunidade científica refere que o extrato desta alga castanha é seguro e eficaz nas indicações terapêuticas descritas, se for seguida a seguinte dosagem: administração oral de 3 mg/Kg. (118,120)

Num estudo *in silico* através de *docking* molecular, verificou-se que o efeito anti-inflamatório de *E. cava* deve-se ao florotanino diecol, cujo mecanismo já foi reportado anteriormente. Já a atividade antiviral contra o SARS-CoV-2 desta alga, foi analisada no mesmo estudo, mostrou desencadeiar-se pela presença de floroglucinol, ecol, difucol e trifucol. Num estudo, comparou-se a energia de ligação de medicamentos antivirais sintéticos (dexametasona, favipiravir e remdesivir) e o ecol (Figura 6.2) extraído da *E. cava* ligou-se mais fortemente ao 3CLpro. (121)



Figura 6.1 *Eckloina cava*

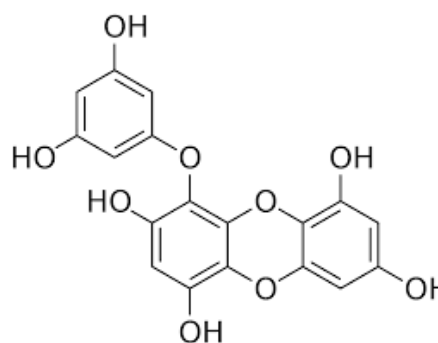


Figura 6.2 Estrutura do ecol

6.1.2. *Saccharina japonica* (J.E. Areschoug) C.E. Lane, C. Mayes, Druehl & G.W. Saunders

Saccharina japonica (Figura 6.3) é uma alga castanha proveniente do Japão, mas atualmente o maior produtor é a China. Apesar de ser nativa de águas frias japonesas, nas províncias da China existem aquiculturas tanto em zonas temperadas como em zonas subtropicais. Esta mudança de temperatura tem influência no stress térmico a que estas algas estão sujeitas nos últimos tempos. Para além da alteração de habitat, as temperaturas do oceano aumentam exponencialmente devido às alterações climáticas. Tais fatores, desencadeiam a origem de novos mecanismos que *S. japonica* irá desenvolver para tolerar a subida de temperatura e conseguir sobreviver. (122)

Atualmente, as toneladas produzidas pelas aquiculturas chinesas são recurso para indústria alimentar, têxtil, cosmética e farmacêutica. Para a indústria farmacêutica *S. japonica* tem interesse pelo seu polissacárido sulfatado, o fuicodano (Figura 6.4). Num estudo *in vitro* em células Vero, verificou-se que este polímero tem afinidade para

a principal proteína do SARS-CoV-2, a proteína *spike*, bloqueando a entrada do vírus na célula hospedeira. (112,123)



Figura 6.3 *Saccharina japonica*

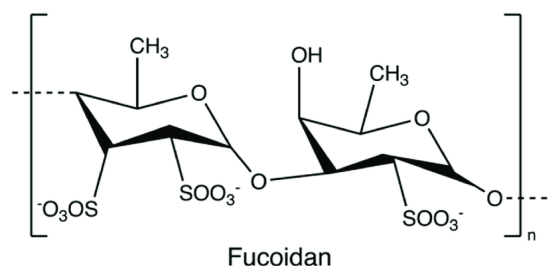


Figura 6.4 Estrutura de uma unidade fuicodano

6.1.3. *Caulerpa lentillifera* J.Agardh

Caulerpa lentillifera (Figura 6.5) é uma alga verde com origem na Índia e na Indonésia, mas também pode ser encontrada na Coreia. O facto de ser uma alga consumível, as regiões do Oceano Pacífico e do sudeste asiático são os principais consumidores do “novo superalimento”, como estes países referem. Esta designação provém do alto teor nutricional desta alga, uma vez que ela é rica em minerais, fibras alimentares, vitamina A, vitamina C e ácidos gordos polinsaturados. No Japão, popularmente, referem que é o “caviar verde” devido ao seu preço elevado e a sua forma física muito semelhante ao caviar. (124,125)

Desta forma, esta alga verde foi identificada com potencial para fins terapêuticos, como hipertensão, obesidade, dislipidemia, cancro, inflamação, distúrbios gastrointestinais, proteção renal e hepática, etc. Para algumas destas indicações terapêuticas, como a diabetes e a doença hepática, na literatura refere-se que a dosagem pode ser de 500 mg/Kg. (126)

No tratamento da Covid-19, *C. lentillifera* é uma opção porque na sua constituição está presente o principal carotenoide, a sifonaxantina (Figura 6.6), que demonstrou em estudos *in silico*, eficácia na interação com o recetor ACE2 da célula hospedeira. Assim, para comprovar a informação anterior, foi realizado um estudo *in vitro* em células HEK e verificou-se que a sifonaxantina presente nesta alga impede a ligação do vírus com a célula hospedeira, logo possui atividade antiviral. (114)



Figura 6.5 *Caulerpa lentillifera*

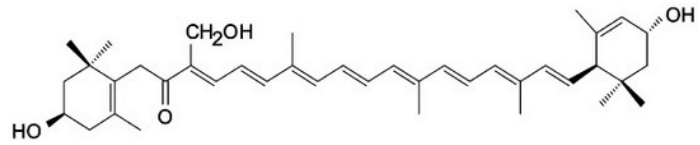


Figura 6.6 Estrutura da sifonaxantina

6.1.4. *Griffithsia* sp.

Griffithsia sp. são algas vermelhas que se distribuem nas zonas temperadas e tropicais. Por norma, as algas vermelhas crescem em água profundas com baixa ou quase nenhuma luz solar. Apesar de não necessitar de luz solar proveniente da superfície, é capaz de transferir energia fotossintética através dos ficobilissomas (PBS). Esta adaptação, torna possível cultivar a alga em diferentes habitats, com condições que são consideradas extremas para um ser vivo. (127)

Ao nível de características físicas, *Griffithsia* sp. são ceramáceas com células vegetativas muito específicas e visíveis a olho nu. Em cada célula da alga vermelha, existem milhares de núcleos. Os seus talos são filamentosos, que incluem ramos dictômicos e fascículos tetrasporangiais. (128)

O principal composto bioativo que confere atividade antiviral para esta alga é a grifithsima (Figura 6.7). Esta lectina parece revelar-se promissora para o tratamento da Covid-19, tendo já sido estudada para o tratamento de outros coronavírus. Nesses estudos, tanto *in vitro* em células de fibroblastos diplóides humanos como *in vivo* em murganhos fêmeas, já se comprovou que a grifithsima tem o seu tempo de semi-vida prolongado e tem afinidade com a proteína *spike* do vírus. Portanto, o composto consegue exercer o seu efeito durante mais tempo até ser excretado e bloqueia a interação do vírus com a célula hospedeira. (111,129)

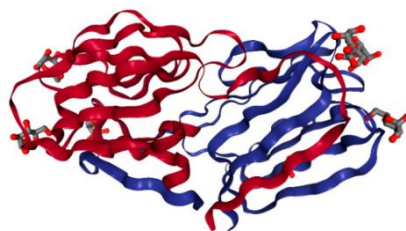


Figura 6.7 Estrutura da grifithsima

6.2. Esponjas marinhas

No oceano, a quantidade de recursos marinhos é elevada a partir dos quais se podem extrair compostos com interesse em terapêutica. Por exemplo, já estão documentados mais de 25 000 compostos ativos. O caso das esponjas marinhas é um exemplo porque a partir delas têm sido extraídos compostos bioativos que apresentam propriedades essenciais para fins medicinais. As esponjas são consideradas na literatura, como a fábrica química de compostos biológicos ativos apesar de serem apenas um animal invertebrado simples. Atualmente já se documentou os seguintes compostos bioativos de esponjas marinhas: macrólidos, peptídeos, alcaloides, terpenoides, policetonas, hidroxibenzenos/quinonas, lípidos e esteroides. Para os diversos compostos já identificados e estudados têm sido descritas várias propriedades biológicas: atividade antitumoral, antiviral, anti-inflamatória e antibiótica. Assim, é de extrema importância perceber se alguns destes metabolitos bioativos poderão ser usados no tratamento da Covid-19. (130,131)

A partir das esponjas consegue-se isolar uma diversidade de análogos nucleosídeos como, por exemplo, a espongouridina e a espongotimidina. Por sua vez, a partir de uma mudança estrutural destas estruturas foi possível obter fármacos que estão a ser comercializados. A alteração estrutural deu origem à vidarabina e citarabina, apenas substituindo o açúcar ribose por arabinose. Por outro lado, através de alterações estruturais em outros análogos nucleosídeos extraídas das esponjas marinhas, como é o caso das micalisinas A e B, mostrou que a inclusão de um grupo CN promoveu o desenvolvimento de inibidores análogos de nucleosídeos. Assim, a partir da micalisina A desenvolveu-se um antiviral utilizado no tratamento contra o SARS-CoV-2, o remdesivir. O efeito antiviral desta estrutura passa pela inibição da proteína RdRp que é responsável pela síntese do novo RNA viral, portanto está a ser suprimido a replicação do coronavírus. Mas as investigações também desenvolveram outro inibidor da RdRp que foi o fármaco favipiravir, sendo esta um análogo de guanina isolado de esponjas com alteração no seu açúcar ribofuranosil. O análogo de uridina com o açúcar modificado 2'-desoxi-2'- α -fluoro- β -C-metil também mostrou inibir a mesma proteína do coronavírus, o que levou ao desenvolvimento do sofosbuvir. No entanto, não só a substituição do açúcar nos análogos nucleosídeos das esponjas apresenta ser promissor para tratamentos antivirais, também é possível modificar grupos ciano, fluoreto e

metilo. Desta forma, o remdesivir ficou com melhor biodisponibilidade devido à substituição do grupo ciano por uma cadeia lateral. (132)

Na constituição das esponjas marinhas é possível identificar derivados de cumarina, alguns exemplos destes compostos isolados são o éster metílico do ácido esculetina-4-carboxílico e o éster etílico do ácido esculetina-4-carboxílico. Ambos demonstraram alto rendimento na inibição da M^{pro} do SARS-CoV-2, ou seja, estes têm propriedades antivirais porque suprimem a protease essencial à replicação viral. Por outro lado, também foram identificados outros compostos anti-M^{pro} extraídos de esponjas marinhas, que são os derivados de naftaleno (exemplo: hamigeran-B). (132,133)

Os sesquiterpenos são outros exemplos de metabolitos secundários presentes nas esponjas. Num estudo compararam-se os valores das energias de ligação entre fármacos já comercializados, o remdesivir e a hidroxicloroquina, com o sesquiterpeno isolado das esponjas, a ilimaquinona, com proteína virais do SARS-CoV-2. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que há uma maior energia de ligação da ilimaquinona com as proteínas virais 6M0J, PLpro, Nsp10 e Nsp14 do que o remdesivir. Os autores verificaram também que o composto tem a mesma capacidade que o remdesivir para criar ligação com a 3CLpro, pois apresentou valor de energia de ligação semelhante. (134)

Dos metabolitos isolados das esponjas, a aeruginosina 98B e as pseudoteonamidas C e D mostraram ser inibidores da enzima serina protease, a TMPRSS2. Com a inibição da TMPRSS2, o coronavírus não realiza o reconhecimento da célula hospedeira e, por conseguinte, não ocorre a entrada do vírus para o interior da célula. Estes compostos conseguem criar pontes de hidrogénio com resíduos Glu166 e Gln189 presentes na enzima serina protease. Outros estudos conseguiram descobrir a capacidade destes compostos em inibir o M^{pro}, mas é necessário realizar mais estudos para comprovar este mecanismo de ação, segundo os mesmos autores. (132,135)

Para além das atividades antivirais dos compostos isolados das esponjas, também é possível identificar alguns com capacidade anti-inflamatória. De um modo geral, o mecanismo de ação passa por estimular o sistema imunológico numa fase inicial da infeção por parte do SARS-CoV-2, de forma a suprimir a excessiva expressão de citocinas inflamatórias (IL-6, IL-8, IL-1 e TNF- α). O avarol e algumas lectinas foram

compostos que mostraram atuar na fase inicial da infecção. Por outro lado, certos compostos extraídos das esponjas atuam inibindo a expressão de uma única citocina inflamatória. Alguns exemplos desta situação são: o contignasterol que regula a síntese de IL-6, a pateamina A que reduz a expressão da IL-2, o alcaloide pirrol-imidazol taurodispacamida A que inibe a produção de IL-2, o esterol 3-polioxygenado que diminui a síntese de IL-8 e o terpeno diidrogracilina A que inibe a expressão de IL-6.

(132)

Apesar de ser uma situação rara, o desenvolvimento de mucormicose em doentes testados positivos ao SARS-CoV-2 foi detetado em indivíduos na Índia. A mucormicose é uma infecção fúngica que, por norma, não ocorre no organismo humano devido à inaptidão dos fungos da ordem Mucorales de tolerar temperaturas altas. A comunidade científica refere que esta infecção fúngica pode surgir através do contacto de feridas com os esporos ou até através da própria inalação em indivíduos com o sistema imunitário fragilizado. No entanto, não se sabe ao certo qual o mecanismo desenvolvido pelo fungo, de forma a tolerar as temperaturas altas do organismo e tornar-se um fungo extremamente oportunista. Durante o internamento destes indivíduos, os médicos apontaram que este fungo influenciou na evolução da Covid-19 para estágios mais graves, uma vez que esta infecção fúngica afetou ao nível cerebral, pulmonar, da pele e dos seios nasais. Na Índia o número de casos relatados foram 47 mil doentes com Covid-19 e mucormicose simultaneamente, pelo que elevou o risco da mortalidade. Esta associação de infeções também foi detetada em países do continente Europeu e Americano. Desta forma, houve estudos com o objetivo de desenvolver medicamentos específicos para esta infecção fúngica. Vários compostos isolados das esponjas foram alvo de estudo *in silico* com ação inibitória dos fungos que causam a mucormicose: alcaloides (naaminas, naamidinas, hirtimominas e topsentinas), macrólidos (lactruculinas), fenóis sesquiterpénicos [(+)-curcudiol e (+)-curcufenol], hidroxipiran-2-onas (tetillaporina e nortetillapirona) e glicosídeos de ácido tetratômico (aurantósidos).

(136)

6.2.1. *Mycale* sp.

Mycale sp. (Figura 6.8) pertence à família Mycalidae. Pode encontrara-se no mar do Caribe e no oceano Atlântico, contudo, começa a distribuir-se a nível mundial. Desta

família, as espécies caracterizam-se por possuírem espículas, isto é, estruturas de cálcio e sílica que se encontram no esqueleto das esponjas, cuja função é o de proporcionar rigidez e suporte estrutural. Estas esponjas são muito estudadas devido às propriedades biológicas (antibacteriano, antifúngico, anti-inflamatória e antiviral) de alguns metabolitos que delas se extraem e que poderão ser usadas em medicina. (137)

O efeito anti-inflamatório desta esponja provém do seu metabolito, a pateamina A, que inibe a síntese de citocina inflamatória, a IL-2. Já a atividade antiviral é devido ao seu análogo nucleosídeo, a micalisina (Figura 6.9), que num estudo *in vitro*, ao ser modificada estruturalmente promove a sua afinidade pela proteína RdRp. Deste modo, *Mycale* sp. tem potencial para inibir o SARS-CoV-2 e diminuir os sintomas inflamatórios nas fases mais avançadas da doença. (132)



Figura 6.8 *Mycale* sp.

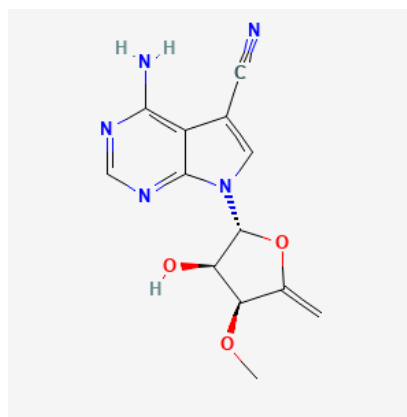


Figura 6.9 Estrutura da micalisina

6.2.2. *Axinella corrugata* (George & Wilson, 1919)

A espécie *Axinella corrugata* (Figura 6.10) é membro da família Axinellidae e distribui-se pelas zonas costeiras dos Estados Unidos da América e da América Latina. Esta esponja é essencial para proteger os recifes de peixes predadores, porque liberta a stevensina que é um metabolito secundário alcaloide com função de afastar esses peixes. Normalmente, a localização destas esponjas não se altera segundo as condições oceânicas, logo toleram variações sazonais e oscilações de temperaturas. (138)

Na literatura define-se que *Axinella corrugata* é opção para tratamentos anti tumorais, antimicrobianos e antivirais. Desta forma, alguns estudos recentes tentaram verificar se esta atividade antiviral também é possível contra o SARS-CoV-2. Assim, num estudo *in silico*, os derivados de cumarina, tanto o éster metílico do ácido

esculetina-4-carboxílico (Figura 6.11) como o éster etílico do ácido esculetina-4-carboxílico, extraídos desta esponja, mostraram interação eficaz com a principal protease do coronavírus, M^{pro}. (133)



Figura 6.10 *Axinella corrugata*

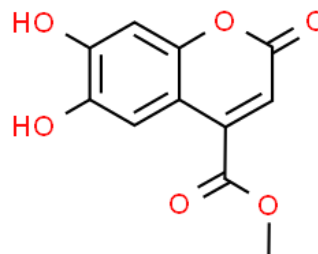


Figura 6.11 Estrutura do éster metílico do ácido esculetina-4-carboxílico

6.2.3. *Hippospongia metachromia* de Laubenfels, 1954

A espécie *Hippospongia metachromia* faz parte da família Spongiidae e, habitualmente, localizam-se no Mar Mediterrâneo e nas zonas costeiras da América Central e sudeste Asiático. Infelizmente, as raízes culturais dos cubanos e o retorno económico, na região do golfo de Batabanó, a pesca destas esponjas é massiva o que traz consequências nos ecossistemas dos recifes. O comércio destas esponjas abrange o setor alimentar e medicinal. A esponja é conhecida pelas suas características físicas, uma vez que é uma esponja mais elástica e facilmente compressível. (139,140)

Esta é utilizada para fins medicinais, pela sua atividade antiviral proveniente de um sesquiterpeno isolado, a ilimaquinona (Figura 6.12). Num estudo *in silico* através de *docking* molecular, este metabolito mostrou conseguir inibir o 3CLpro, uma estrutura essencial para o SARS-CoV-2 interagir e entrar na célula hospedeira. (134)

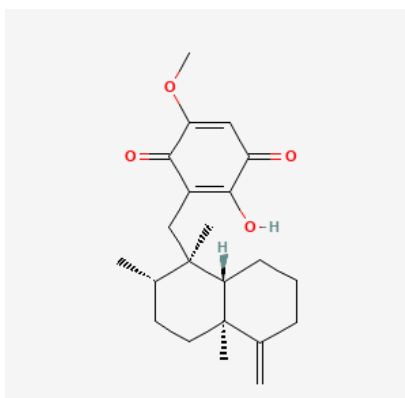


Figura 6.12 Estrutura da ilimaquinona

6.2.4. *Theonella swinhoei* Gray, 1868

Theonella swinhoei é uma esponja da família Theonellidae, nativa de recifes dos Oceanos Índico e Pacífico. É amplamente colhida em todo o mundo, devido às atividades biológicas de cada composto presente na sua constituição. Na extração de compostos bioativos desta esponja é possível identificar policetonas, peptídeos, alcaloides e esteróis. Na literatura documenta-se as atividades antimicrobianas, imunomoduladoras, antivirais e anti tumorais (desde o cancro colorretal, ao cancro da mama e à leucemia). (141–144)

Com os recentes estudos *in silico* através de *docking*, concluiu-se que a atividade antiviral de *Theonella swinhoei* também se verifica contra o novo coronavírus, visto que, as pseudoteonamidas C e D (Figura 6.13) extraídas desta espécie, são capazes de inibir a TMPRSS2 e a M^{Pro}, isto é, a administração destes compostos pode impedir a entrada do vírus na célula hospedeira, e conseqüentemente não há a replicação viral. (132,135)

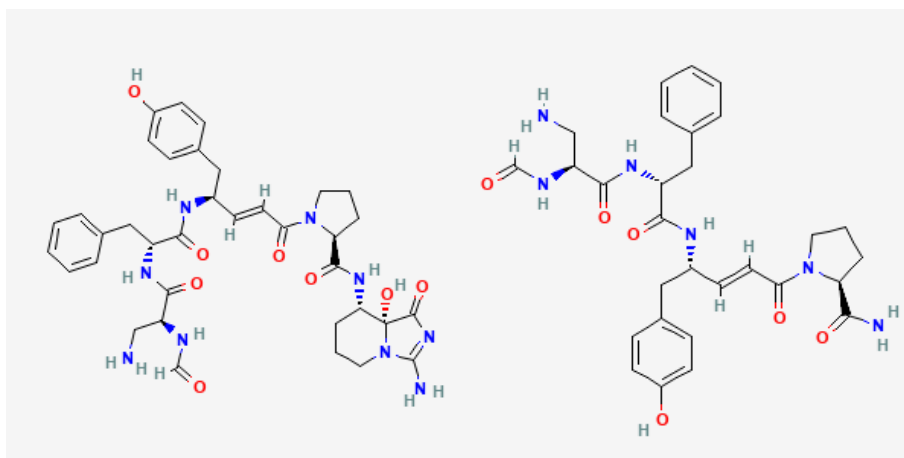


Figura 6.13 Estrutura da esquerda é a pseudoteonamidas C e estrutura da direita é a pseudoteonamidas D

6.2.5. *Dysidea avara* (Schmidt, 1862)

A esponja marinha *Dysidea avara* (Figura 6.14) é integrante da família Dysideidae e é nativa do Mar Mediterrâneo. Tem-se investigado os seus compostos biologicamente ativos e as diversas atividades com fins medicinais. Assim, verificou-se que esta esponja tem atividade anti tumoral, anti-inflamatória, anti mutagénica, antibacteriana, anti psoriática, antiparasitária, entre outros atributos. (145,146)

O metabolito isolado de *Dysidea avara* com mais interesse para a comunidade científica é o avarol (hidroquinona) (Figura 6.15). Na indústria farmacêutica há uma intensa investigação sobre o potencial farmacológico do avarol porque, em estudos *in silico* demonstra ser um ótimo estimulador da resposta do sistema imunológico em caso de infecções. Em casos de Covid-19 é necessária terapêutica anti-inflamatória para reduzir a expressão das citocinas inflamatórias, logo o avarol pode ser uma opção terapêutica. (132,146)



Figura 6.14 *Dysidea avara*

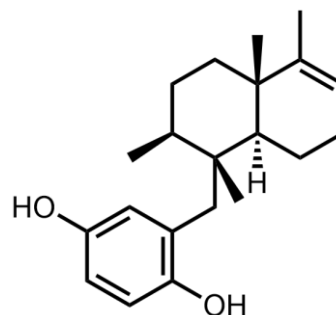


Figura 6.15 Estrutura do avarol

6.3. Corais e bactérias presentes nos recifes de corais

Os recifes de corais são muito diversificados, o que torna o ecossistema com maior biodiversidade em todo o mundo. Habitualmente distribuem-se por águas tropicais e realizam simbiose mutualista com as algas próximas de forma a receberem nutrientes essenciais ao seu desenvolvimento provenientes da fotossíntese das algas, enquanto em troca, os corais transferem-lhes nutrientes inorgânicos reciclados, como amônio e dióxido de carbono. No entanto, existe uma elevada preocupação na proteção dos corais devido à sua sensibilidade às alterações climáticas como às perturbações provocadas pelos humanos, como pesca, desenvolvimento costeiro e poluição das águas. Desta forma, estes fatores têm influência direta na mudança de pH do oceano para valores mais baixos e no aumento da temperatura das águas. A acidificação das águas provoca inibição dos calcificadores marinhos, que são os corais, como também as águas quentes colocam em risco a simbiose entre corais e algas, tal interação essencial ao crescimento dos corais. (147)

Raramente, se encontra um coral solitário, pois geralmente crescem em conjunto formando recifes de corais enormes. Zooxantelas é a denominação para a relação

simbiótica entre os recifes de corais com organismos unicelulares (por exemplo bactérias) e diversos microrganismos, e a este conjunto dá-se o nome “coral halobionte”. A partir do coral halobionte têm sido extraídos vários compostos bioativos que foram estudados para o tratamento da Covid-19. Os metabolitos com mais interesse para a investigação foram: alcaloide tetracíclicos (ex: alteramida A), amidas de ácidos gordos (ex: 1*E*-pitiamida B, pitiamida A), derivados de antraquinona (ex: aspetitona A), derivados de tirandamicina (ex: tirandamicina B e tirandamicina A), análogos da tirandamicina (ex: isotirandamicina B), derivados de hidroquinona (F-11334A1), sesquiterpeno (2*E*, 4*E*-4'-ácido diidrofaseico), derivado de antraquinona (aspetitona B), derivados de éter fenílico (violaceol I e violaceol II), xantonas (AGI-B4 e 13-O-acetilsidowinina B) e derivado de terfenilina G (3-prenilterfenilina). (148)

Os estudos realizados criaram expectativas, uma vez que alguns daqueles compostos interagiram com alvos terapêuticos, logo desencadeiam ações inibitórias contra o novo coronavírus. Os metabolitos bioativos isotirandamicina B, tirandamicina B e tirandamicina A inibiram a metiltransferase nsp16/10 (do inglês *non-structured protein 16* e o seu cofator *non-structured protein 10*). O alvo suprimido por estes compostos é responsável pela capacidade do SARS-CoV-2 de se esconder à resposta imunitária do organismo, porque o complexo entre a proteína não estrutural Nsp16 e a proteína Nsp10 desencadeiam o processo de metilação na posição C2'-O da ribose do RNA viral, promovendo uma replicação viral eficiente. Já a alteramida A tem capacidade de suprimir a expressão da enzima RdRp e, conseqüentemente esta enzima não estará disponível para realizar as suas funções durante o processo replicativo do vírus. Os compostos referidos são provenientes de bactérias presentes nos recifes de corais. (148)

Por outro lado, num outro estudo extraíram de corais um composto denominado (hexadeciloxi)-propano-1,2-diol. Recorrendo a uma análise através de *docking* molecular, concluíram que este composto tem afinidade com o M^{pro} do SARS-CoV-2, através de pontes de hidrogénio com a esta protease viral, podendo dificultar a replicação viral. (149)

Num estudo diferente comprovou-se que a escavatolida, diterpeno isolado de corais, tem potencial atividade antiviral contra a Covid-19. Mais uma vez, a análise recorrendo ao *docking* molecular mostrou que este terpeno tem afinidade com a

TMPRSS2, a enzima da célula hospedeira responsável por agilizar a processo de entrada do vírus na célula através da interação da proteína *spike* com a ACE2. (150)

A opção de utilizar compostos bioativos isolados de corais como terapêutica contra o SARS-CoV-2 é, ainda, pouco estudada. Até ao momento é uma área com pouca informação e resultados que comprovem a atividade antiviral dos corais. Desta forma, durante esta dissertação, tem-se referido diversas vezes que determinados compostos têm afinidade com dois alvos terapêuticos específicos (ACE2 da célula hospedeira e proteína *spike* do vírus), mas os poucos estudos realizados acerca dos corais, em nenhum é referido que se tenham identificado metabolitos bioativos de corais com capacidade inibitória destes alvos. (148)

No entanto, podem existir compostos bioativos obtidos a partir de corais com potencial para interagir com a proteína *spike* e/ou o recetor ACE2, mas que ainda não foram estudados especificamente para o SARS-CoV-2. Contudo, já há estudos sobre o efeito dos metabolitos extraídos dos corais mas sobre o MERS-CoV. Nesse estudo coletou-se um coral mole *Sarcophyton regulare*, e partir dele preparou-se um extrato metanólico. Na constituição deste extrato isolou-se: éster metílico do ácido hexadecanóico, ácido *n*-hexadecanóico, ácido oleico, ácido eicosanóico, éster etílico do ácido hexadecanóico 2-hidratadoxi-1(hidroxiometil), éster etílico do ácido octadecanóico 2-hidroxi-1(hidroxiometil), estigmas 5-en-3-ol e oleato. Recorrendo ao método *docking* molecular, os autores concluíram que a maioria cria eficazmente ligação com proteína *spike* e/ou com o recetor ACE2. Mas dois compostos, o éster etílico do ácido hexadecanóico 2-hidratadoxi-1(hidroxiometil) e o éster etílico do ácido octadecanóico 2-hidroxi-1(hidroxiometil), destacaram-se pela elevada afinidade a 3 alvos terapêuticos, para além dos dois referidos acima, também interage com o M^{pro}. (151)

6.3.1. *Pterogorgia citrina* (Esper, 1792)

Pterogorgia citrina é um coral mole da família Pterogorgiidae, que se encontra predominantemente em recifes tropicais do Caribe. Estes corais desempenham um papel fundamental de protegerem o recife, produção de substrato essencial ao crescimento do recife como um conjunto e serem a soma de complexidade física ao ambiente do recife. Morfologicamente, *Pterogorgia citrina* contém um eixo esquelético na zona central rico

numa mistura de material proteico (gorgonina) e/ou material calcítico, como também possui pólipos divididos em 8 partes semelhantes e simétricas. Normalmente, o sentido do crescimento é verticalmente pois a colónia possui uma diversidade de ramificações com características físicas diferentes. Este coral é característico pelos seus cálices distintos e cada um dos cálices apresenta uma abertura, para além dos seus ramos terem uma forma oval em seções transversais. (152)

Num estudo *in silico*, o (hexadeciloxi)-propano-1,2-diol (Figura 6.16) demonstrou que tem atividade antiviral contra o SARS-CoV-2, pois este tem afinidade com a protease essencial à replicação viral, a M^{pro}. (149)

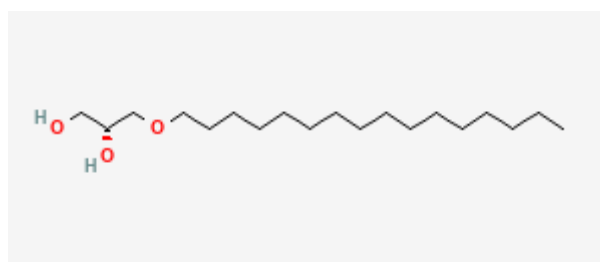


Figura 6.16 Estrutura do (hexadeciloxi)-propano-1,2-diol

6.3.2. *Pseudoalteromonas* sp.

Pseudoalteromonas sp. são bactérias gram-negativas que coabitam em recifes de corais, pertencentes à família Pseudoalteromonadaceae. Esta bactéria marinha é responsável por diversas doenças em outros seres vivos marinhos, uma vez que conseguem colonizar e influenciar o processo evolutivo pós-embrionário de larvas, corais, ouriços-do-mar, etc. Um exemplo, é a doença *Montipora* White recorrente no coral *Montipora capitata* (Figura 6.17), desencadeada por estas bactérias que provoca a perda de tecido e morte das colónias do coral responsável pela construção de recifes. (153)

Apesar da sua patogenicidade em organismos marinhos, *Pseudoalteromonas* sp. foram investigadas com o objetivo de encontrar soluções terapêuticas contra a Covid-19. Desta forma, no estudo *in silico* o composto bioativo extraído desta bactéria demonstrou eficácia em inibir o processo replicativo do coronavírus, visto que a alteramida A (Figura 6.18) tem afinidade com a enzima RdRp. (148)



Figura 6.17 *Montipora capitata*

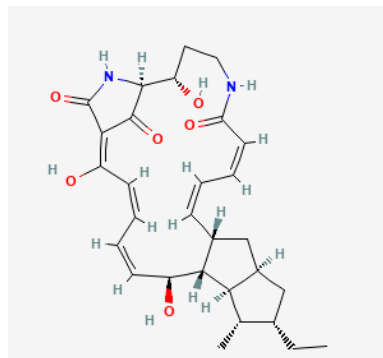


Figura 6.18 Estrutura da alteramida A

6.3.3. *Streptomyces* sp. M-207

Streptomyces sp. M-2017 marinha é uma actinobactéria da família Streptomycetaceae e que está associada a corais e invertebrados, habitualmente, presentes no nordeste do Oceano Atlântico. Um exemplo de coral onde foi descoberta a presença de *Streptomyces* sp. é *Lophelia pertusa* (Figura 6.19). Até ao momento, já se realizaram diversos estudos com diferentes objetivos, mas destaca-se que já se documentou a sua atividade anti tumoral e antibiótica. (154)

Na sua constituição, encontraram-se isotirandamicina B, tirandamicina B e tirandamicina A (Figura 6.20) que num estudo *in silico*, demonstraram afinidade com a metiltransferase nsp16/10. Assim, esta bactéria é um produto marinho com capacidade de inibir o SARS-CoV-2. (148)



Figura 6.19 *Lophelia pertusa*

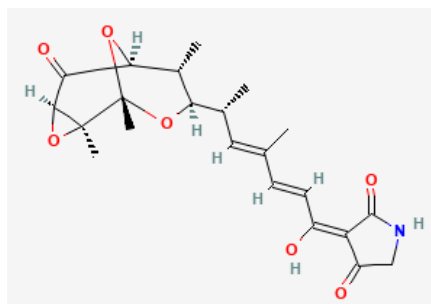


Figura 6.20 Estrutura da tirandamicina A

6.3.4. *Formosan gorgonian* Briareum

Formosan gorgonian Briareum é um coral da família Briareidae, que se distribui maioritariamente pelo Oceano Pacífico. A literatura sobre este coral é escassa, mas

existe um estudo sobre a sua potencial propriedade anti-inflamatória. Os diterpenos extraídos deste coral inibem a produção de citocinas inflamatória, a expressão de iNOS e a cicloxigenase (COX-2). (155,156)

Um desses diterpenos também mostrou atividade antiviral contra o coronavírus, num recente estudo *in silico*. Escavatolida M (Figura 6.21) consegue ligar-se ao TMPRSS2, ou seja, impede a entrada do SARS-CoV-2 na célula hospedeira. (150,157)

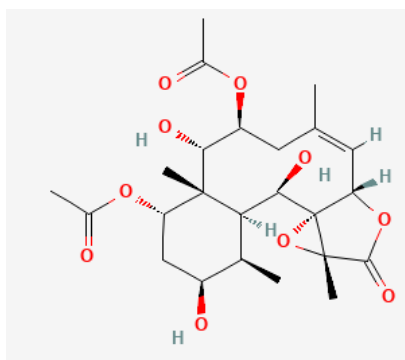


Figura 6.21 Estrutura da escavatolida M

6.4. Fungos marinhos

Em ambiente marinho, geralmente, ao redor de algas, esponjas, corais ou outro organismo existem fungos em simbiose com eles. Existe diversos fungos marinhos e cada um deles liberta metabolitos secundários essenciais para o crescimento desses organismos, como também promove de forma indireta, proteção aos organismos contra perigos. Estes metabolitos já foram amplamente investigados, pelo que alguns possuem propriedades úteis para a indústria farmacêutica, tais como anticancerígenas, antivirais, antiplasmodiais, antidiabética, antioxidante, anti-inflamatória, entre outras. (148)

Especificamente, a atividade antiviral dos fungos já é abordada há muitos anos, por exemplo para tratamento contra HIV e hepatite C, mas estudos direcionados ao tratamento contra o coronavírus é uma área de investigação escassa. Dos poucos estudos realizados, salienta-se um que identificou compostos extraídos de *Aspergillus terreus*, e a partir deles tentaram identificar potenciais inibidores de alvos terapêuticos na Covid-19. (148,158)

Nesse estudo, escolheu-se este fungo devido à sua grande abundância em diversos locais dos oceanos, uma vez que tolera condições extremas como altas temperaturas, elevada salinidade e elevada alcalinidade. *Aspergillus terreus* é um fungo

saprotrófico da família Trichocomaceae, com capacidade para crescer em ambientes marinhos, terrestres, em poeiras ou em alimentos. Este fungo oportunista desencadeia inúmeras doenças fúngicas, como aspergilose pulmonar ou bronquite alérgica. Na sua constituição encontram-se os seguintes compostos: alcaloides, policetonas, terpenos e linhanos. Desta forma, o objetivo dos estudos tem sido o de encontrar quais os bioativos com atividade antiviral e anti-inflamatória e respetivos mecanismos de ação. (158,159)

Através de uma análise de acoplamento molecular, num estudo *in silico*, destacaram-se 4 compostos isolados do fungo com afinidade à principal protease para o processo replicativo do SARS-CoV-2, a M^{pro}. Os compostos foram: butirolactona I, butirolactona II, terretonina e 4-hidroxi-3-(3-metilbut-2-enil) benzaldeído. No entanto, os metabolitos com melhores valores no *docking* molecular foram a butirolactona II (neolinhanos) e a terretonina (meroterpenoide policetónico). Só a butirolactona I (neolinhanos) apresentou atividade anti-inflamatória pois foi a única que inibiu eficazmente a libertação de elastase dos neutrófilos. A elastase é secretada em grandes quantidades pelos neutrófilos, em situações de inflamação, o que pode causar a morte dos tecidos do hospedeiro. (158)

Este estudo é importante para abrir portas sobre uma nova área potencial para desenvolver uma eficaz terapêutica contra o SARS-CoV-2. Contudo, as conclusões retiradas do estudo é um começo porque há a necessidade de investigara em pormenor, para comprovar/corroborar esta informação e identificar novos fungos com potencialidade. (158)

6.5. Cianobactérias marinhas

As cianobactérias marinhas são amplamente encontradas em diferentes habitats, como em recifes de corais, comunidades epífitas (plantas desenvolvem-se sobre outras plantas), comunidades epilíticas (seres vivos crescem sobre um lugar rochoso), comunidades endolíticas (organismo capaz de crescer no interior de uma rocha entre os grãos de minerais) e esteiras microbianas (comunidades microbianas que crescem horizontalmente criando um estratificado). Estas caracterizam-se por serem filamentosas e fotossintéticas, pelo que possui funções ecológicas como proteção contra radiação UV, dissuasão alimentar, alelopatia e sinalização. A sua principal função é a

fixação de azoto e oxigénio que são essenciais para o ecossistema aquático. Atualmente, já se identificaram diversos compostos isolados de cianobactérias que mostraram propriedades farmacológicas. (160,161)

A abundância de cianobactérias e as suas propriedades farmacológicas (antibacteriana, antifúngica, anticancerígena, imunossupressora, anti-inflamatória e antioxidante) são os fatores que levaram a comunidade científica a investigar melhor sobre este organismo, na época da pandemia. Assim, os metabolitos extraídos das cianobactérias marinhas mais estudados foram as lectinas, polissacarídeos e cianopeptídeos. (161)

Nos estudos realizados, percebeu-se que as lectinas são proteínas com capacidade de interação reversível com hidratos de carbono presentes no envelope viral. A lectina cianovirina-N com 101 aminoácidos, mostrou afinidade com a proteína *spike* do vírus, ou seja, bloqueia a ligação do vírus com a célula hospedeira. Relativamente ao polissacárido com atividade antiviral contra o SARS-CoV-2, é o espirulano de cálcio que bloqueia a entrada do vírus na célula hospedeira, pois este mostrou afinidade com o recetor ACE2. A microginina é um cianopeptídeo que mostrou, também, afinidade pelo recetor ACE2. Para além de que outros dois cianopeptídeos demonstraram capacidade inibitória da protease M^{pro} e da PL^{pro}, que são o depsipeptídeo criptoficina 52 e o alcalóide desoxicilindrospermopsina. (161,162)

Excluindo estes estudos que comprovaram a eficácia destes metabolitos no tratamento da Covid-19, existem outros compostos que podem ter potencial, mas ainda não há estudos específicos para o SARS-CoV-2. Contudo, o facto de várias lectinas terem atividade antiviral contra alguns vírus, por exemplo a microvirina suprime a infeção viral provocada pelo vírus da hepatite C ou a citovirina mostrou propriedades antivirais contra o HIV, pode ser uma base robusta para se levar a cabo estudos de atividade anti SARS-CoV-2. (162)

6.5.1. *Nostoc ellipsosporum*

Nostoc ellipsosporum são cianobactérias marinhas que pertencem à família Nostocaceae, que são amplamente conhecidas pela sua potencialidade na área da biofarmácia e biotecnologia. O interesse por este organismo acresce devido ao facto

desta cianobactéria possuir mecanismo que tolera escassez de água, uma vez que a sua atividade metabólica pode ficar inativa durante um período longo até reidratar-se. Para o crescimento e desenvolvimento correto da *Nostoc ellipsosporum*, em laboratórios de biotecnologia, é necessário controlar as condições de luz, pH, fonte de carbono e fonte azoto para que o rendimento da produção dos metabolitos com interesse seja maior. (163)

Num estudo *in silico* através de *docking* molecular, a lectina cianovirina-N (Figura 6.22) mostrou atividade antiviral contra o SARS-CoV-2, visto que bloqueia a proteína *spike* do vírus e, assim não ocorre a ligação do vírus com a célula hospedeira. (161)

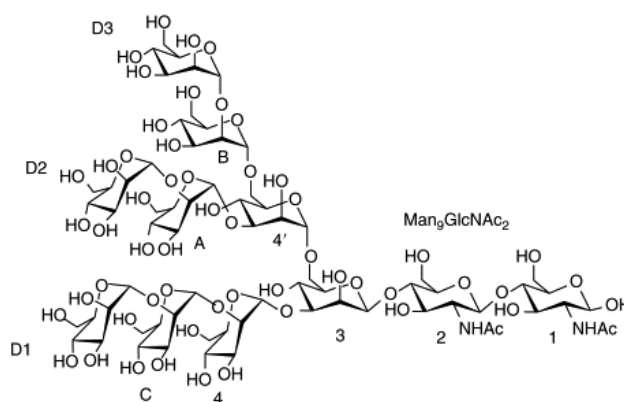


Figura 6.22 Estrutura da cianovirina-N

6.5.2. *Arthrospira platensis*

A cianobactéria marinha *Arthrospira platensis* é membro da família Phoridiaceae, pelo que apresenta uma morfologia filamentosa e helicoidal. Esta cianobactéria é gram-negativa e o seu habitat nativo caracteriza-se por ser em água salina, com acesso a luz solar pois é fotoautotófica obrigatória. Portanto, não consegue crescer na escuridão, mas consegue tolerar ambientes alcalinos com valores de pH entre 8,5 a 11. Com a mudança das condições de habitat, esta adota uma morfologia diferente, isto é, converte-se em forma reta. Atualmente, é das cianobactérias que já são aceites, pela FDA (do inglês *Food and Drug Administration*), os seus compostos em formulações de suplementos, pelo que se refere a ingestão e a dose recomendada é de 3 a 10 g por dia. (164)

Com a descoberta dos seus metabolitos com propriedades farmacológicas, durante a pandemia realizou-se estudos *in vitro* e concluíram que a espirulano de cálcio (Figura 6.23) tem atividade antiviral potencial para o tratamento da Covid-19, por interação com o recetor ACE2, impedindo a formação do complexo proteína *spike* do vírus com este recetor presente na célula hospedeira. (161)

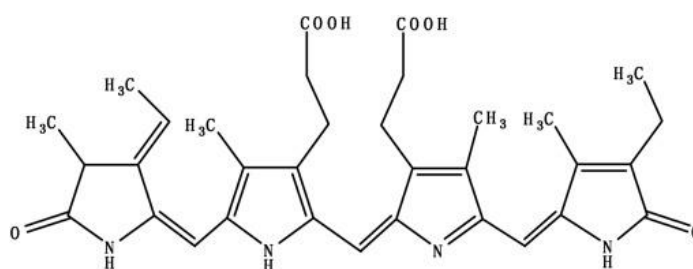


Figura 6.23 Estrutura da espirulano de cálcio

6.5.3. *Microcystis ichthyoblade*

Microcystis ichthyoblade é uma cianobactéria da família Microcystaceae. Regra geral, são cianobactérias que crescem em colónias flutuantes que em conjunto desenham esferas irregulares, mas as subcolónias possuem uma cor azul-esverdeada, uma forma esférica e distribuem-se em larga escala em mucilagem hialina. (165)

Na sua constituição é possível identificar diversos peptídeos que mostraram ter atividade antiviral num estudo *in silico*, tanto contra o vírus influenza como para o SARS-CoV-2. E como tal, a microginina (Figura 6.24) bloqueia o recetor ACE2 e tanto o depsipeptídeo criptoficina 52 como o alcaloide desoxicilindrospermopsina inibem a protease M^{PRO} e a PLpro. Desta forma, a utilização de tais compostos bioativos no tratamento da Covid-19 irá ocorrer inibindo a entrada do vírus na célula e a sua replicação viral. (162)

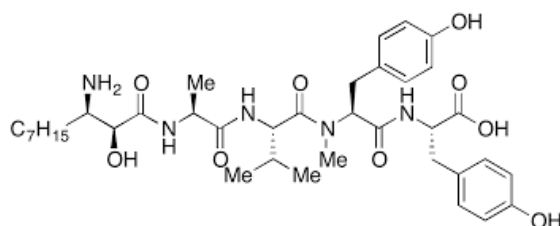


Figura 6.24 Estrutura da microginina

7. Utilização de plantas numa perspetiva de prevenção da Covid-19

A publicação das medidas preventivas da Covid-19, por parte da OMS, teve um grande impacto na população mundial. Rapidamente a sociedade adotou a higiene regular das mãos, manter o distanciamento físico e utilização de máscaras. No entanto, no início da pandemia, os fabricantes de desinfetantes para as mãos não estavam preparados para a procura elevada e, por conseguinte, a escassez do desinfetante no mercado ocorreu durante um determinado período. Nesse intervalo de tempo a necessidade de colmatar a escassez era tão elevada, que as farmacêuticas como as indústrias químicas, as cervejarias e as perfumarias passaram a produzir desinfetante de forma não convencional. (166)

A produção não convencional, promoveu a descoberta de plantas com propriedades semelhantes aos excipientes habituais na formulação original, logo estes mantêm a funcionalidade do desinfetante. Para que o desinfetante seja eficiente é necessário que haja um teor elevado de álcool, portanto na formulação é essencial existir concentrações entre 60% a 95% de álcool como antisséptico. Os restantes excipientes da formulação têm que ter propriedades viscosificante, emoliente, tampão, conservante, corante e fragância. Para o efeito emoliente, a glicerina ou o propilenoglicol são os excipientes usuais, mas identificou-se que o gel de aloe vera é um potencial substituto. Tanto os excipientes habituais como a aloe vera são humectantes com a função de retardar a evaporação de água, ou seja, diminuem o ressecamento da pele provocado pelas concentrações elevadas de álcool que incitam a fricção na pele. Para além da propriedade emoliente, a aloe vera mostrou conferir firmeza à formulação. Por outro lado, o óleo essencial da árvore australiana de chá (*Melaleuca alternifolia*) já era um excipiente recorrente em determinados desinfetantes utilizados em ambiente hospitalar. Diversos estudos realizados antes da pandemia, já identificaram o potencial antiviral desta planta contra a o vírus influenza. O metabolito principal deste óleo essencial é o terpinen-4-ol, que demonstrou capacidade de impedir o processo de entrada do vírus influenza na célula hospedeira. Portanto, com esta informação já documentada, a produção não convencional de desinfetantes também recorreu a esta planta. (166–168)

No entanto, as orientações da OMS também se debruçaram pela realização de uma alimentação saudável à semelhança da dieta mediterrânica, ou seja, aconselhou a

população ingerir alimentos fresco e não processados. Esta orientação tem por base os diversos estudos que indicam que a alimentação correta e rica em vegetais, reflete na otimização e potencia o sistema imunitário. Desta forma, a alimentação aconselhada deve ser rica em vitamina C, mas para tal é necessário ingerir frutas como laranja ou kiwi, como também refeições que incluam vegetais, por exemplo beringela, beterraba, brócolos, espinafres ou couve-flor. Para além, de se destacar uma planta rica em vitamina C como tem um efeito sobre os interferões. A planta é a *Curcuma longa* que em adição às suas atividades antivirais e anti-inflamatórias já referidas nesta dissertação, também aumenta a síntese de interferões que iram ativar a imunidade inata do hospedeiro. Na literatura explica-se que o composto desta planta, a curcumina, tem um efeito sobre os interferões em diversas doenças virais, incluindo a Covid-19. Estudos apontam que a solução para reduzir a letalidade causado pela Covid-19, é através da estimulação da produção interferões para que a resposta do sistema imunitário consiga amenizar a gravidade da infeção viral. Por outro lado, desde o início da Medicina Tradicional Chinesa que indica que o alho, pimenta preta e alcaçuz são necessários para prevenir surtos de doenças, sendo que a Covid-19 não é uma exceção. *Allium sativum* possui na sua constituição um bioativo, a alicina, que para além de diminuir a produção de citocinas inflamatórias também atua nas células do sistema imunitário. Então, a alicina ao aumentar a síntese de células T CD4+, células dendríticas e macrófagos promove que a resposta do sistema imunitário esteja preparada quando o organismo for exposto ao SARS-CoV-2. Já *Piper longum* tem o composto, a piperina, que otimiza a imunidade inata porque ativa a atividade fagocítica dos fagócitos. Por fim, o alcaçuz também demonstrou atividade imunomoduladora, uma vez que o extrato de alcaçuz aumenta a fagocitose, eleva as concentrações das imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) e promove a expressão de células T, CD40, CD86 e MHC-II, e assim a resposta imunitária é melhorada. (58,169–173)

8. Vantagens da utilização das plantas e produtos marinhos para o tratamento da Covid-19

A fitoterapia foi essencial para o desenvolvimento da medicina atual, contudo ao longo dos anos tem caído em desuso. Atualmente continua a existir países com uma cultura enraizada para a utilização de plantas e produtos marinhos como tratamento de

diversas doenças, no entanto há um aumento exponencial pela procura de terapias alternativas em países que não possuem tal cultura. Como tal, o aumento da procura por tais terapêuticas traz uma vantagem associada, uma vez que se torna para os investigadores e os produtores uma área de interesse porque haverá um retorno financeiro adequado aos gastos realizados até à comercialização. (12,26)

O desenvolvimento de novas moléculas sintéticas demora cerca de 15 anos, são passo que os produtos naturais têm a vantagem de só ser necessário isolar bioativos, testar as suas atividades farmacológicas e perceber a forma de administração mais eficaz e segura. (174)

Por outro lado, a ampla diversidade quer em plantas quer em produtos marinhos é elevada, para além de cada organismo conter um ou mais compostos biologicamente ativos com atividade farmacológica contra o SARS-CoV-2, tal como podemos verificar em todos os exemplos apresentados ao longo desta dissertação. Portanto, a escassez de recursos naturais não é uma limitação para a investigação de novas soluções terapêuticas contra a Covid-19. (12,26)

Relativamente à eficácia do mecanismo de ação das plantas e dos produtos marinhos em relação aos medicamentos antivirais utilizados no tratamento da Covid-19 (remdesivir, favipiravir, ribavirina, entre outros), os produtos naturais destacaram-se nos testes *in vitro*. Um exemplo que se encontra na literatura é a griffithsina extraída de algas que possui eficácia antiviral contra um amplo espectro de coronavírus, incluindo o SARS-CoV-2. Esta vantagem surge pelo facto de os produtos naturais possuírem diversos mecanismos de ação, uma vez que podem mostrar atividade antiviral ao inibir a ligação do vírus à célula hospedeira como ao suprimir a replicação viral, afinidade por diversos alvos terapêuticos, capacidade de neutralizar a autofagia celular, otimização do sistema imunitário do hospedeiro, efeito sinérgico quando associados com fármacos sintéticos. (12,174)

De forma a comprovar o efeito terapêuticos dos produtos naturais no tratamento da Covid-19, a comunidade científica no decorrer da pandemia realizou várias revisões sistemáticas dos diversos estudos. Com a base de dados dos estudos elegíveis criada durante 2 anos de pandemia, através de meta-análise realizada por uma determinada revisão, concluíram que 80% dos produtos naturais estão associados ao tratamento da febre, 73% são relacionados à melhoria da tosse, 39% dos produtos naturais diminuíram

a fadiga, 49% deles têm responsabilidade na melhoria das manifestações torácicas, 78% diminuíram a síntese da IL-6 e 93% são responsáveis pela diminuição dos valores séricos da proteína C reativa. Assim, esta revisão notou que os doentes positivos ao SARS-CoV-2 que realizavam terapêuticas com plantas ou produtos marinhos tiveram uma recuperação significativa, logo a fitoterapia ou à base de produtos marinhos não é uma opção a descartar. Semelhantes conclusões foram também retiradas em outras revisões realizadas, por exemplo numa outra verificou que é evidente que a associação de fitoterapia ou produtos marinhos no tratamento da Covid-19, melhorou os padrões de sintomatologia, marcadores inflamatórios, aceleração da melhoria das lesões pulmonares e diminuição da taxa de mortalidade. (175,176)

Outra vantagem destacada pela literatura, é risco baixo das plantas e produtos marinhos causarem reações adversas. Nas mesmas revisões mencionadas acima, da base de dados de cada um houve poucas notificações de efeitos adversos, pelo que os distúrbios gastrointestinais foram os mais comuns, como diarreia e náuseas. (175,176)

O conjunto de vantagens que a fitoterapia ou terapia com produtos marinhos acarreta, permitem que o benefício para a saúde dos doentes seja elevado e, para além disso, o custo dos tratamentos não são elevados, logo a relação custo-benefício é vantajosa. (12)

9. Limitações da utilização das plantas e produtos marinhos para o tratamento da Covid-19

Regra geral, a descoberta de novas terapêuticas traz sempre associado as vantagens como as limitações, mas os prós têm que compensar os contras para que esta solução terapêutica seja viável. Portanto, a fitoterapia e a terapia recorrendo a produtos marinhos não é exceção à regra e possui limitações na descoberta de produtos naturais, como por exemplo: não existir uma sequência de procedimentos de investigação padronizados a serem seguidos por todos, para que haja uma uniformização no decurso da pesquisa; a complexidade dos produtos naturais é uma dificuldade acrescida para os processos de isolamento dos compostos bioativos; a não uniformização da investigação provoca que alguns estudos indiquem que determinado produto natural tem eficácia para uma patologia, mas não é explícito pormenorizadamente o mecanismo de ação, o que descredibiliza as conclusões retiradas dos estudos; não existe a obrigatoriedade de

realizar uma lista de documentos para que seja acreditado aquela terapêutica como eficaz e segura, portanto, é o oposto do que se sucede nos medicamentos sintéticos. A uniformização na área da descoberta de produtos naturais, que é referida, não foi estabelecida devido ao facto de a fitoterapia ter caído em desuso, portanto no ápice da medicina tradicional a sociedade não tinha a cultura de regulamentar, e só recentemente é que está a crescer novamente esta área de investigação. No entanto, na Europa existe um Comité dos Medicamentos à Base de Plantas, pertencente à Agência Europeia do Medicamento (EMA), que já publicou diretrizes com objetivo de harmonizar a legislação. (26)

Durante o processo de fabrico, apesar do avanço da tecnologia auxiliar na extração dos compostos bioativos e na sua devida purificação, continuam a ser processos morosos e caros. Por outro lado, a produção controlada dos produtos marinhos, como a de algas, é um processo complexo e caro. Para colmatar esta limitação, especialistas estão unidos em desenvolver fotobiorreatores otimizados ao nível do controlo de condições ambientais e eficazes para a produzir grandes quantidades de algas com qualidade. Portanto, se a procura destes produtos naturais não continuar a ser exponencial, não será compensatório a produção deste porque não há retorno financeiro. (12,177)

10. Conclusão e perspectivas futuras

A Covid-19 foi a doença que deixou muitas marcas na geração atual, desde a perda de pessoas próximas, sequelas que continuam após contrair o SARS-CoV-2 ou por distúrbios psicológicos devido ao confinamento social. O novo coronavírus mostrou à sociedade que não estava preparada para uma pandemia, tal como a comunidade científica percebeu as suas limitações para desenvolver soluções terapêuticas. Contudo, atualmente, a OMS considerou que esta infeção viral não é mais uma emergência para a saúde pública. Mas para alcançar este controlo da doença a nível mundial, foi necessário um grande esforço por parte da população para seguir todas as regras de mitigação impostas pelos governos de cada país, que eram o reflexo dos conselhos publicados pela OMS. No entanto, durante os diversos picos de casos positivos à Covid-19, também aumentavam as taxas de internamentos e de mortes.

Para a comunidade científica estes tempos foram um desafio global, que colocou à prova as suas capacidades de trabalharem em conjunto de forma a alcançar o mais rapidamente possível tratamentos viáveis e vacinas para imunizar a população mundial. Para além da limitação já conhecida por eles, que era o desenvolvimento de novos medicamentos demorava cerca de 15 anos, os investigadores encontraram outra durante o decorrer da pandemia, visto que, o vírus sofreu diversas mutações originando variantes mais contagiosas. A maioria das investigações foi ao nível de moléculas sintéticas, mas uma minoria estudou a possibilidade de recorrer à fitoterapia, uma vez que já existia uma robusta base de informações que documentavam propriedades antivirais antigas, bem como recorrer aos produtos marinhos, fonte inesgotável de novos produtos com atividade biológica.

Assim, nesta dissertação o principal objetivo foi expor exemplos de plantas e produtos marinhos que foram estudados durante a pandemia e mostraram atividade antiviral contra o SARS-CoV-2 e atividade anti-inflamatória. Ambos os grupos de produtos naturais podem ser promissores nos tratamentos para a Covid-19, porque os seus metabolitos bioativos possuem mecanismo de ação sobre os principais alvos terapêuticos, tal como os fármacos sintéticos. Resumindo, os compostos isolados inibiam alvos como: protease M^{pro}, a LPpro, TMPRSS2, proteína *spike*, recetor ACE2, citocinas inflamatórias, entre outros. Ao suprimir tais alvos, as consequências era o bloqueio do reconhecimento da célula hospedeira por parte do vírus, impedimento do vírus entrar na célula hospedeira, bloqueio da replicação viral ou diminuição do processo da cascata de inflamação. No entanto, a limitação desta monografia foi o facto da área dos produtos marinhos com atividade antiviral ser menos investigada comparativamente aos produtos de origem vegetal, de facto, desde os primórdios da civilização que o ser humano recorre às plantas para os mais diversos fins, incluindo o do tratamento de doenças, ao contrário, dos produtos marinhos com efeito terapêuticos, cuja investigação tem apenas algumas dezenas de anos.

Com todos estes dados científicos é expectável que haja um novo olhar para a potencialidade dos produtos marinhos e da fitoterapia, tanto para tratamento como para prevenção da Covid-19. O que realmente aconteceu, apesar de ser uma pequena fração da comunidade científica, foi o aumento exponencial da investigação no recurso a estes tratamentos isoladamente ou em associação a fármacos sintéticos antivirais. Este crescimento é notório quando alguns autores realizaram revisões através de meta-análise

e verificaram eficácia e baixa taxa de efeitos adversos. Para além disso, existem outras vantagens realçadas, como grande disponibilidade de uma elevada diversidade de plantas e produtos marinhos ou uma boa relação de custo-benefício, logo torna esta área mais credível para ser introduzida no fluxograma de tratamento da Covid-19.

No entanto, os prós e contras existem em todas as situações e como tal, quer na fitoterapia quer nos produtos marinhos há limitações ao nível da harmonização do processo de investigação como na parte económica da tecnologia necessária para o fabrico. Contudo, já existe esforços para tentar ultrapassar tais desvantagens, uma vez que a o comité da EMA responsável publicou regulamentação com intuito de harmonizar e existe desenvolvimento de novas tecnologias eficazes, mas que compensei o custo associado a elas. Desta forma, se colmatarem as limitações, as vantagens superam as limitações e, assim a aplicação de terapêuticas com produtos naturais não é descartada.

Numa perspetiva futura, o facto de a pandemia estar controlada, não significa que não continua a existir casos positivos à Covid-19 que necessitem de tratamento, para além de que pode surgir novas variantes perigosas que as vacinas não imunizam contra essa estirpe. Então, a necessidade de continuar a otimizar e atualizar o fluxograma do tratamento da doença, por isso as opções de terapêuticas com plantas e produtos marinhos são uma solução que está a ganhar cada vez mais força.

11. Referências bibliográficas

1. Ferreira M. Jornal Público. 2023. OMS decretou o fim da pandemia de covid-19 como emergência sanitária global [Internet]. Maia: Jornal Público. 2023 [acedido a 04/04/2023]. Disponível em: <https://www.publico.pt/2023/05/05/ciencia/noticia/oms-decretou-fim-pandemia-covid19-2048599>
2. OMS. Advice for the public: Coronavirus disease (COVID-19) [Internet]. Genebra: Organização Mundial da Saúde. 2023 [acedido a 04/04/2023]. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>
3. Jeong Y, Wi Y, Park H, Lee J, Kim S, Lee K. Current and emerging knowledge in COVID-19. *Radiology*, 2023, 306(2), doi: 10.1148/radiol.222462.
4. OMS. Coronavirus disease (COVID-19) [Internet]. Genebra: Organização Mundial da Saúde. 2023 [acedido a 06/04/2023]. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/coronavirus#tab=tab_1
5. EMA. List of critical medicines for COVID-19 public health emergency (PHE) under Regulation (EU) 2022/23 [Internet]. Amsterdão: Agência Europeia do Medicamento. 2023 [acedido a 05/04/2023]. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/list-critical-medicines-covid-19-public-health-emergency-phe-under-regulation-eu-2022/123-obsolete_en.pdf
6. Kim S. COVID-19 Drug Development. *Journal Microbiology Biotechnology*, 2022, 32(1), 1–5.
7. Sánchez F, Martínez-Sellés M, García J, Guillén S, Rodríguez-Artalejo F, Ruiz-Galiana J, Cantón R, Ramos P, et al. Insights for COVID-19 in 2023. *Revista española de quimioterapia*, 2023, 36(2), 114–24.
8. Infarmed. Terapêuticas farmacológicas disponíveis para a Covid-19. [Internet]. Lisboa: Infarmed. 2023. [acedido a 05/04/2023]. Disponível em: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/terapeuticas-farmacologicas-disponiveis-para-a-covid-19>
9. Infarmed. COVID-19/ Retirada do pedido de AIM do Molnupiravir (Lagevrio). [Internet]. Lisboa: Infarmed. 2023. [acedido a 06/09/2023]. Disponível em: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/rss-noticias/-/asset_publisher/zQws9cSRmjar/content/id/8954289
10. Lui G, Guaraldi G, Lui G. Drug treatment of COVID-19 infection. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*, 2023, 29(3), 174–83.
11. Rashedi R, Samieefar N, Masoumi N, Mohseni S, Rezaei N. COVID-19 vaccines mix-and-match: The concept, the efficacy and the doubts. *Journal of Medical Virology*, 2022, 94, 1294–9.
12. Alsenani F. Potential natural candidates in the treatment of coronavirus infections. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2021, 28, 5704–13.
13. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 2020, 85, 104502. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104502
14. Hao Y, Wang Y, Wang M, Zhou L, Shi J, Cao J, Wang Y. The origins of COVID-19 pandemic: A brief overview. *Transboundary and Emerging Diseases*, 2022, 1-17.

15. Umakanthan S, Sahu P, Ranade A, Bukelo M, Rao J, Abrahao-Machado L, Dahal S, Kumar H, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate Medical Journal*, 2020, 96(1142), 753–8.
16. Wit E, Doremalen N, Falzarano D, Munster V. SARS and MERS: Recent insights into emerging coronaviruses. *Natural Reviews Microbiology*, 2016, 14(8), 523–34.
17. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang S. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infection, Genetics and Evolution*, 2020, 85, 104502. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104502
18. Chen X, Zhang G, Hao S, Bai L, Lu J. Similarities and differences of early pulmonary CT features of pneumonia caused by SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV: Comparison based on a systemic review. *Chinese Medical Sciences Journal*, 2020, 35(3), 254–61.
19. Khan M, Adil S, Alkhathlan H, Tahir M, Saif S, Khan M, Khan S. COVID-19: A global challenge with old history, epidemiology and progress so far. *Molecules*, 2021, 14(2), 738–54.
20. Yuan Y, Jiao B, Qu L, Yang D, Liu R. The development of COVID-19 treatment. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14, doi: 10.3389/fimmu.2023.1125246.
21. Chilamakuri R, Agarwal S. Covid-19: characteristics and therapeutics. *Cells*, 2021, 10(2), 1–29.
22. Alqathama A, Ahmad R, Alsaedi R, Alghamdi R, Abkar E, Alrehaly R, Abdalla A. The vital role of animal, marine, and microbial natural products against COVID-19. *Pharmaceutical Biology*, 2022, 60(1), 509–24.
23. Yang H, Rao Z. Structural biology of SARS-CoV-2 and implications for therapeutic development. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(11), 685–700.
24. Yadav R, Chaudhary J, Jain N, Chaudhary P, Khanra S, Dhamija P, Sharma A, Kumar A, et al. Role of structural and non-structural proteins and therapeutic targets of SARS-CoV-2 for COVID-19. *Cells*, 2021, 10, 821. doi: 10.3390/cells10040821
25. Alqathama A, Ahmad R, Alsaedi R, Alghamdi R, Abkar E, Alrehaly R, Abdalla A. The vital role of animal, marine, and microbial natural products against COVID-19. *Pharmaceutical Biology*. 2022, 60(1), 509–24.
26. Thomford N, Senthebane D, Rowe A, Munro D, Seele P, Maroyi A, Dzobo K. Natural products for drug discovery in the 21st century: Innovations for novel drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(6), 1578. doi: 10.3390/ijms19061578
27. Perera W, Liyanage J, Dissanayake K, Gunathilaka H, Weerakoon W, Wanigasekara D, Fernando W, Perera B, et al. Antiviral potential of selected medicinal herbs and their isolated natural products. *BioMed Research International*, 2021, 2021, 1-18.
28. Mohan S, Taha M, Makeen H, Alhazmi H, Bratty M, Sultana S, Ahsan W, Najmi A, et al. Bioactive natural antivirals: An updated review of the available plants and isolated molecules. *Molecules*, 2020, 25(21), 4878. doi: 10.3390/molecules25214878
29. Prasad G, Trimurtulu G, Reddy K, Naidu M. Analytical study of kuberaksha/kantaki karanja patra churna [*Caesalpinia Bonduc* (L.) Roxb. leaf powder]. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*, 2010, 31(2), 251. doi: 10.4103/0974-8520.72410

30. He W, Baysal C, Gómez M, Huang X, Alvarez D, Zhu C, Perera A, Bennaser P, et al. Contributions of the international plant science community to the fight against infectious diseases in humans—part 2: Affordable drugs in edible plants for endemic and re-emerging diseases. *Plant Biotechnology Journal*, 2021, 19(10), 1921–36.
31. Yi M, Lin S, Zhang B, Jin H, Ding L. Antiviral potential of natural products from marine microbes. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 207, 112790. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112790
32. Moghadamtousi S, Nikzad S, Kadir H, Abubakar S, Zandi K. Potential antiviral agents from marine fungi: an overview. *Marine Drugs*, 2015, 13(7), 4520–38.
33. Riccio G, Ruocco N, Mutalipassi M, Costantini M, Zupo V, Coppola D, Pascale D, Lauritano C. Ten-year research update review: Antiviral activities from marine organisms. *Biomolecules*, 2020, 10(7), 1–36.
34. Gogineni V, Schinazi R, Hamann M. Role of marine natural products in the genesis of Antiviral agents. *Chemical Reviews*, 2015, 115(18), 9655–706.
35. Minagawa. K, Kouzuki S, Kamigauchi T, Yoshimoto J, Kawamura Y, Tani H, Iwata T, Terui Y, et al. Stachyflin and acetylstachyflin, novel anti-influenza A virus substances, produced by *Stachybotrys* sp. RF-7260. *The journal of antibiotics*, 2002, 55(2), 155-164.
36. Jeong G, Khan S, Tabassum N, Khan F, Kim Y. Marine-bioinspired nanoparticles as potential drugs for multiple biological roles. *Marine Drugs*, 2022, 20(8), 527. doi: 10.3390/md20080527
37. Khanna K, Kohli S, Kaur R, Bhardwaj A, Bhardwaj V, Ohri P, Sharma A, Ahmad A, et al. Herbal immune-boosters: substantial warriors of pandemic Covid-19 battle. *Phytomedicine*, 2021, 85, 153361. doi: 10.1016/j.phymed.2020.153361
38. Jamal Q. Antiviral potential of plants against COVID-19 during outbreaks—an update. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(21), 13564. doi: 10.3390/ijms232113564
39. Anand A, Balamuralikrishnan B, Kaviya M, Bharathi K, Parithathvi A, Arun M, Senthilkumar N, Velayuthaprabhu S, et al. Medicinal plants, phytochemicals, and herbs to combat viral Pathogens Including SARS-CoV-2. *Molecules*, 2021, 14(2), 738–54.
40. Kulkarni S, Dhir A. *Withania somnifera*: an indian ginseng. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 2008, 32(5), 1093–105.
41. Paul S, Chakraborty S, Anand U, Dey S, Nandy S, Ghorai M, Saha S, Patil M, et al. *Withania somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha): a comprehensive review on ethnopharmacology, pharmacotherapeutics, biomedical and toxicological aspects. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2021, 143, 112175. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112175
42. Gaurav H, Yadav D, Maurya A, Yadav H, Yadav R, Shukla A, Sharma M, Gupta V, et al. Biodiversity, biochemical profiling, and pharmaco-commercial applications of *Withania somnifera*: a review. *Molecules*, 2023, 28(3), 1208. doi: 10.3390/molecules28031208
43. Sapra L, Bhardwaj A, Azam Z, Madhry D, Verma B, Rathore S, Srivastava R. Phytotherapy for treatment of cytokine storm in COVID-19. *Frontiers in Bioscience – Landmark*, 2021, 26(5), 51–75.

44. Soleymani S, Naghizadeh A, Karimi M, Zarei A, Mardi R, Kordafshari G, Esmaealzadeh N, Zargarani A. COVID-19: general strategies for herbal therapies. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 2022, 27, 1-18.
45. Sharma P, Kumar L, Goswami Y, Pujani M, Dikshit M, Tandon R. The aqueous root extract of *Withania somnifera* ameliorates LPS-induced inflammatory changes in the in vitro cell-based and mice models of inflammation. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 14, 1139654. doi: 10.3389/fphar.2023.1139654
46. Kashyap V, Dhasmana A, Yallapu M, Chauhan S, Jaggi M. *Withania somnifera* as a potential future drug molecule for COVID-19. *Future Drug Discovery*, 2020, 2(4), doi: 10.4155/fdd-2020-0024
47. Saggam A, Limgaokar K, Borse S, Chavan-Gautam P, Dixit S, Tillu G, Patwardhan B. *Withania somnifera* (L.) Dunal: opportunity for clinical repurposing in COVID-19 management. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12, doi: 10.3389/fphar.2021.623795.
48. Selvam K, Payyappallimana U, Ravikumar K, Venkatasubramanian P. Can guduchi (*Tinospora cordifolia*), a well-known ayurvedic hepato-protectant cause liver damage? *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 2023, 14(1), 100658. doi: 10.1016/j.jaim.2022.100658
49. Sharma P, Dwivedee B, Bisht D, Dash A, Kumar D. The chemical constituents and diverse pharmacological importance of *Tinospora cordifolia*. *Heliyon*, 2019, 5(9), doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e02437.
50. Jena S, Munusami P, Chanda K. Computationally approached inhibition potential of *Tinospora cordifolia* towards COVID-19 targets. *Virus Disease*, 2020, 32(1), 65–77.
51. Singh R, Singh A, Kaur H, Batra G, Sarma P, Kaur H, Bhattacharyya A, Sharma A, et al. Promising traditional Indian medicinal plants for the management of novel coronavirus disease: a systematic review. *Phytotherapy Research*, 2021, 35(8), 4456–84.
52. Kulkarni A, Hanchanale P, Prakash V, Kalal C, Sharma M, Kumar K, Bishnu S, Kulkarni A, et al. *Tinospora cordifolia* (giloy)-induced liver injury during the COVID-19 pandemic-multicenter nationwide study from India. *Hepatology Communications*, 2022, 6(6), 1289- 1300.
53. Nnamani I, Tolu-Akinnawo O, Dufera R, Akintunde A, Maliakkal B. *Tinospora cordifolia* (guduchi/giloy)-induced liver injury: a case review. *Cureus*, 2023, doi: 10.7759/cureus.39793.
54. Batiha G, Beshbishy A, El-Mleeh A, Abdel-Daim M, Devkota H. Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of *Glycyrrhiza glabra* L. (fabaceae). *Biomolecules*, 2020, 10(3), 352, doi: 10.3390/biom10030352
55. Pastorino G, Cornara L, Soares S, Rodrigues F, Oliveira M. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): a phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy Research*, 2018, 32(12), 2323–39.
56. Bailly C, Vergoten G. Glycyrrhizin: an alternative drug for the treatment of COVID-19 infection and the associated respiratory syndrome? *Pharmacology and Therapeutics*, 2020, 214, 107618. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107618
57. Abraham J, Florentine S. Licorice (*Glycyrrhiza glabra*) extracts-suitable pharmacological interventions for covid-19? a review. *Plants*, 2021, 10(12), 2600. doi: 10.3390/plants10122600

58. Bisht D, Rashid M, Arya R, Kumar D, Chaudhary S, Rana V, Sethiya N. Revisiting liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) as anti-inflammatory, antivirals and immunomodulators: Potential pharmacological applications with mechanistic insight. *Phytomedicine Plus*, 2022, 2(1), 100206. doi: 10.1016/j.phyplu.2021.100206
59. Tesfaye A. Revealing the therapeutic uses of garlic (*Allium sativum*) and its potential for drug discovery. *Scientific World Journal*, 2021, 2021, 1-7.
60. Alam M, Hoq M, Uddin M. Medicinal plant *Allium sativum* = a review. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 2016, 4(6), 72–9.
61. Batiha G, Beshbishy A, Wasef L, Elewa Y, Al-Sagan A, El-Hack M, et al. Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): a review. *Nutrients*, 2020, 12(3), doi: 10.3390/nu12030872
62. Pandey P, Khan F, Kumar A, Srivastava A, Jha N. Screening of potent inhibitors against 2019 novel coronavirus (Covid-19) from *Allium sativum* and *Allium cepa*: an in silico approach. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2021, 11(1), 7981–93.
63. Pandey R, Pandey R, Shukla SS, Pandey P. A review on corona virus and treatment approaches with *Allium sativum*. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 7(1), 159. doi: doi.org/10.1186/s43094-021-00310-7
64. Unuofin J, Masuku N, Paimo O, Lebelo S. Ginger from farmyard to town: nutritional and pharmacological applications. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12 doi: 10.3389/fphar.2021.779352.
65. Gupta S, Sharma A. Medicinal properties of *Zingiber officinale* Roscoe – a review. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2014, 9(5), 124–9.
66. Liu Y, Liu J, Zhang Y. Research Progress on Chemical Constituents of *Zingiber officinale* Roscoe. *BioMed Research International*. 2019, doi: 10.1155/2019/5370823.
67. Haridas M, Sasidhar V, Nath P, Abhithaj J, Sabu A, Rammanohar P. Compounds of *Citrus medica* and *Zingiber officinale* for COVID-19 inhibition: in silico evidence for cues from Ayurveda. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 7(1), 13. doi: 10.1186/s43094-020-00171-6
68. Sheikh H, Zakaria N, Majid F, Zamzuri F, Fadhline A, Hairani M. Promising roles of *Zingiber officinale* roscoe, *Curcuma longa* L., and *Momordica charantia* L. as immunity modulators against COVID-19: a bibliometric analysis. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2023, 14, 100680. doi: 10.1016/j.jafr.2023.100680
69. Salehi B, Stojanović-Radić Z, Matejić J, Sharifi-Rad M, Kumar N, Martins N, Sharifi-Rad J. The therapeutic potential of curcumin: A review of clinical trials. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2019, 163, 527–45.
70. Zeng L, Yu G, Hao W, Yang K, Chen H. The efficacy and safety of *Curcuma longa* extract and curcumin supplements on osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Bioscience Reports*, 2021, 41(6), doi: 10.1042/BSR20210817.
71. Fuloria S, Mehta J, Chandel A, Sekar M, Rani N, Begum M, Subramanian V, Chidambaram K, et al. A comprehensive review on the therapeutic potential of *Curcuma longa* Linn. in relation to its major active constituent curcumin. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13, doi: 10.3389/fphar.2022.820806.
72. Dosoky N, Setzer W. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Curcuma* species. *Nutrients*, 2018, 10(9), 1196. doi:10.3390/nu10091196

73. Dourado D, Freire D, Pereira D, Amaral-Machado L, Alencar É, Barros A, Egito E. Will curcumin nanosystems be the next promising antiviral alternatives in COVID-19 treatment trials? *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2021, 139, 111578. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111578
74. Kuba K, Imai Y, Rao S, Gao H, Guo F, Guan B, Huan Y, Yang P, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nature Medicine*, 2005, 11(8), 875–879.
75. Fu Y, Ho W, Kang N, Tsai M, Wu J, Huang L, Weng C. Pharmaceutical prospects of curcuminoids for the remedy of COVID-19: truth or myth. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13, doi: 10.3389/fphar.2022.863082
76. Tan X, Poulouse E, Raveendran V, Zhu B, Stechschulte D, Dileepan K. Regulation of the expression of cyclooxygenases and production of prostaglandin i 2 and e 2 in human coronary artery endothelial cells by curcumin. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2011, 62(1), 21-28.
77. Didehdar M, Chegini Z, Tabaeian S, Razavi S, Shariati A. Cinnamomum: the new therapeutic agents for inhibition of bacterial and fungal biofilm-associated infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2022, 12, doi: 10.3389/fcimb.2022.930624.
78. Farooq F, Hussain Z, Hanief MI, Fida Z. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*); a brief review of the culinary spice with its potential therapeutic indications. *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2023, 10(6), 2349- 8870.
79. Wang J, Su B, Jiang H, Cui N, Yu Z, Yang Y, Sun Y. Traditional uses, phytochemistry and pharmacological activities of the genus *Cinnamomum* (Lauraceae): a review. *Fitoterapia*, 2020, 146, 104675. doi: 10.1016/j.fitote.2020.104675
80. Xie Z, Li Y, Liu Z, Zeng M, Moore J, Gao B, Wu X, Sun J, et al. Bioactive compositions of Cinnamon (*Cinnamomum verum* J. Presl) extracts and their capacities in suppressing SARS-CoV-2 spike protein binding to ACE2, inhibiting ACE2 and scavenging free radicals. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 2023, 71(12), 4890-4900.
81. Yakhchali M, Taghipour Z, Mirabzadeh Ardakani M, Alizadeh Vaghasloo M, Vazirian M, Sadrai S. Cinnamon and its possible impact on COVID-19: the viewpoint of traditional and conventional medicine. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2021, 143, 112221. doi: 10.1016/j.biopha.2021.112221
82. Bag S, Mondal A, Banik A. Exploring tea (*Camellia sinensis*) microbiome: insights into the functional characteristics and their impact on tea growth promotion. *Microbiological Research*, 2022, 254, 126890. doi: 10.1016/j.micres.2021.126890
83. Saeed M, Naveed M, Arif M, Kakar M, Manzoor R, El-Hack M, Alagawany M, Tiwari R, et al. Green tea (*Camellia sinensis*) and l-theanine: medicinal values and beneficial applications in humans—A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 95, 1260–75.
84. Mahmood T, Akhtar N, Khan B. The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis*' tea. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4(19), 2028–33.
85. Koch W, Zagórska J, Marzec Z, Kukula-Koch W. Applications of tea (*Camellia sinensis*) and its active constituents in cosmetics. *Molecules*, 2019, 24(23), 4277. doi: 10.3390/molecules24234277
86. Dinda B, Dinda S, Dinda M. Therapeutic potential of green tea catechin, (-)-epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG) in SARS-CoV-2 infection: major interactions with

- host/virus proteases. *Phytomedicine Plus*, 2023, 3(1), 100402. doi: 10.1016/j.phyplu.2022.100402
87. Liu S, Wang W, Ke J, Zhang P, Chu G, Bao G. Discovery of *Camellia sinensis* catechins as SARS-CoV-2 3CL protease inhibitors through molecular docking, intra and extra cellular assays. *Phytomedicine*, 2022, 96, 153853. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153853
 88. Chmurzynska A, Singh R, Zhang F. Causal associations of tea intake with COVID-19 infection and severity. *Frontiers in Nutrition*, 2023, doi: 10.3389/fnut.2022.1005466.
 89. Tallei T, Fatimawali, Niode N, Idroes R, Zidan B, Mitra S, Celik I, Nainu F et al. A Comprehensive Review of the Potential Use of Green Tea Polyphenols in the Management of COVID-19. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 2021, 1-13.
 90. Salehi B, Zakaria Z, Gyawali R, Ibrahim S, Rajkovic J, Shinwari Z, Khan T, Ozleyen A, et al. Piper species: a comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules*, 2019, 24(7), 1364. doi: 10.3390/molecules24071364
 91. Kumar S, Kamboj J, Suman, Sharma S. Overview for various aspects of the health benefits of *Piper longum* linn. Fruit. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 2011, 4(2), 134–140.
 92. Carsono N, Tumilaar S, Kurnia D, Latipudin D, Satari M. A Review of bioactive compounds and antioxidant activity properties of Piper species. *Molecules*, 2022, 27, 6774. doi: 10.3390/molecules27196774
 93. Joshi T, Sharma P, Mathpal S, Pundir H, Baht V, Chandra S. In silico screening of natural compounds against COVID-19 by targeting Mpro and ACE2 using molecular docking. *European Review for Medical Pharmacology Sciences*, 2020, 24, 4529-4536.
 94. Kim N, Do J, Bae J, Jin H, Kim J, Inn K, Inn K, Oh M, et al. Piperlongumine inhibits neuroinflammation via regulating NF- κ B signaling pathways in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglia cells. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2018, 137(2), 195–201.
 95. Cohen M. Tulsi - *Ocimum sanctum*: a herb for all reasons. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 2014, 5(4), 251–9.
 96. Pandey G, Madhuri S. Pharmacological activities of *Ocimum sanctum* (Tulsi): a review. Article in *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2010, 5(1), 61-66.
 97. Sankhalkar S, Vernekar V. Quantitative and qualitative analysis of phenolic and flavonoid content in *moringa oleifera* lam and *Ocimum tenuiflorum* L. *Pharmacognosy Research*, 2016, 8(1), 16–21.
 98. Jindal D, Rani V. In silico studies of phytoconstituents from *Piper longum* and *Ocimum sanctum* as ACE2 and TMRSS2 inhibitors: strategies to combat COVID-19. *Applied Biochemistry Biotechnology*, 2023, 195(4), 2618–35.
 99. Paidi R, Jana M, Raha S, McKay M, Sheinin M, Mishra R, Pahan K. Eugenol, a Component of Holy Basil (*Tulsi*) and Common Spice Clove, Inhibits the Interaction Between SARS-CoV-2 Spike S1 and ACE2 to Induce Therapeutic Responses. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, 2021, 16(4), 743–55.
 100. Choudhury S, Bashyam L, Manthapuram N, Bitla P, Kollipara P, Tetali S. *Ocimum sanctum* leaf extracts attenuate human monocytic (THP-1) cell activation. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 154(1), 148–55.

101. Alqathama A, Ahmad R, Alsaedi R, Alghamdi R, Abkar E, Alrehaly R, Abdallac A. The vital role of animal, marine, and microbial natural products against COVID-19. *Pharmaceutical Biology*, 2022, 60(1), 509–24.
102. Panggabean J, Adiguna S, Rahmawati S, Ahmadi P, Zainuddin E, Bayu A, Putra M. Antiviral activities of algal-based sulfated polysaccharides. *Molecules*, 2022, 27 (4), 1178.
103. Chhetri B, Tedbury P, Sweeney-Jones A, Mani L, Soapi K, Manfredi C, Sorscher S, Sarafianos S, et al. Marine natural products as leads against SARS-CoV-2 infection. *Journal of Natural Products*, 2022, 85(3), 657–65.
104. Khalifa S, Shedid E, Saied E, Jassbi A, Jamebozorgi F, Rateb M, Du M, Kai G, et al. Cyanobacteria—from the oceans to the potential biotechnological and biomedical applications. *Marine Drugs*, 2021, 19(5), 241. doi: 10.3390/md19050241
105. Hamoda A, Fayed B, Ashmawy N, El-Shorbaji A, Hamdy R, Soliman S. Marine sponge is a promising natural source of anti-SARS-CoV-2 scaffold. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12, 666664. doi: 10.3389/fphar.2021.666664
106. Gunathilaka M. Utilization of marine seaweeds as a promising defense against COVID-19: a mini-review. *Marine Biotechnology*, 2023, 25(3), 415-427.
107. Michalak I, Chojnacka K. Algae as production systems of bioactive compounds. *Engineering in Life Sciences*, 2015, 160–76.
108. Gunathilaka T, Samarakoon K, Ranasinghe P, Peiris L. Antidiabetic potential of marine brown algae - a mini review. *Journal of Diabetes Research*, 2020, 2020, 1-13.
109. Bharathi M, Sivamaruthi B, Kesika P, Thangaleela S, Chaiyasut C. In silico screening of bioactive compounds of representative seaweeds to inhibit SARS-CoV-2 ACE2-bound omicron B.1.1.529 spike protein trimer. *Marine Drugs*, 2022, 20(2), 148. doi: 10.3390/md20020148
110. Catarino M, Amarante S, Mateus N, Silva A, Cardoso S. Brown algae phlorotannins: a marine alternative to break the oxidative stress, inflammation and cancer network. *Foods*, 2021, 10(7), 1478. doi: 10.3390/foods10071478
111. Echave J, Otero P, Garcia-Oliveira P, Munekata P, Pateiro M, Lorenzo J, Simal-Gandara J, Prieto M. Seaweed-derived proteins and peptides: promising marine bioactives. *Antioxidants*, 2022, 11(1), 176. doi: 10.3390/antiox11010176
112. Kwon P, Oh H, Kwon S, Jin W, Zhang F, Fraser K, Hong J, Linhardt R. Sulfated polysaccharides effectively inhibit SARS-CoV-2 in vitro. *Cell Discovery*, 2020, 6, 50. doi: 10.1038/s41421-020-00192-8
113. Tamama K. Potential benefits of dietary seaweeds as protection against COVID-19. *Nutrition Reviews*, 2021, 79(7), 814–23.
114. Yim S, Kim I, Warren B, Kim J, Jung K, Ku B. Antiviral activity of two marine carotenoids against sars-cov-2 virus entry in silico and in vitro. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(12), 6481. doi: 10.3390/ijms22126481
115. Hathaway D, Pandav K, Patel M, Riva-Moscoso A, Singh B, Patel A, Min M, Sana M, et al. Omega 3 fatty acids and COVID-19: A comprehensive review. *Infection and Chemotherapy*, 2020, 52(4), 478–95.
116. Narayanan N, Nair D. Vitamin B12 may inhibit RNA-dependent-RNA polymerase activity of nsp12 from the SARS-CoV-2 virus. *IUBMB Life*, 2020, 72(10), 2112–20.

117. Jahromi S, Tabriz H, Togha M, Ariyanfar S, Ghorbani Z, Naeeni S, Haghighi S, Jazayeri A, et al. The correlation between serum selenium, zinc, and COVID-19 severity: an observational study. *BMC Infectious Diseases*, 2021, 21(1), 889. doi: 10.1186/s12879-021-06617-3
118. Lee K, Jang Y, Hwang W, Kwon K, Lee W, Kim J, Kim S, Friedman M. Edible algae (*Ecklonia cava*) bioprocessed with mycelia of shiitake (*Lentinula edodes*) mushrooms in liquid culture and its isolated fractions protect mice against allergic asthma. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 2022, 22(1), 242. doi: 10.1186/s12906-022-03705-y
119. Takao S, Kumagai N, Yamano H, Fujii M, Yamanaka Y. Projecting the impacts of rising seawater temperatures on the distribution of seaweeds around Japan under multiple climate change scenarios. *Ecology and Evolution*, 2015, 5(1), 213–23.
120. Lu Y, Je J, Hwang J, Jeon Y, Ryu B. *Ecklonia cava* extract and its derivative dieckol promote vasodilation by modulating calcium signaling and pi3k/akt/enos pathway in in vitro and in vivo models. *Biomedicines*, 2021, 9(4), 438. doi: 10.3390/biomedicines9040438
121. Arunkumar M, Gunaseelan S, Aravind M, Mohankumar V, Anupam P, Harikrishnan M, Siva A, Ashokkumar B, et al. Marine algal antagonists targeting 3CL protease and spike glycoprotein of SARS-CoV-2: a computational approach for anti-COVID-19 drug discovery. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2022, 40(19), 8961–88.
122. Pengyan Z, Fuli L, Siqing C, Zhouhui L, Wenjun W, Xiutao S. Comparative ubiquitome analysis under heat stress reveals diverse functions of ubiquitination in *saccharina japonica*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(21), 1–16.
123. Zhang P, Shao Z, Jin W, Duan D. Comparative characterization of two GDP-mannose dehydrogenase genes from *Saccharina japonica* (Laminariales, Phaeophyceae). *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1), 62. doi: 10.1186/s12870-016-0750-
124. Nurkolis F, Taslim N, Qhabibi F, Kang S, Moon M, Choi J, Choi M, Park M, et al. Ulvophyte green algae *caulerpa lentillifera*: metabolites profile and antioxidant, anticancer, anti-obesity, and in vitro cytotoxicity properties. *Molecules*, 2023, 28(3), 1365. doi: 10.3390/molecules28031365
125. Jia X, Liu T, Wang X, Tang X, Jin Y. The complete mitogenome of *Caulerpa lentillifera* and its phylogenetic analysis. *Mitochondrial DNA Part B: Resource*, 2019, 4(2), 3169–70.
126. Preez R, Majzoub M, Thomas T, Panchal S, Brown L. *Caulerpa lentillifera* (Sea grapes) improves cardiovascular and metabolic health of rats with diet-induced metabolic syndrome. *Metabolites*, 2020, 10(12), 1–18.
127. Xie M, Li W, Lin H, Wang X, Dong J, Qin S, Zhao F. Difference in light use strategy in red alga between *griffithsia pacifica* and *porphyridium purpureum*. *Scientific Reports*, 2021, 11(1), 14367. doi: 10.1038/s41598-021-93696-6
128. Yang E, Boo S. Evidence for two independent lineages of *Griffithsia* (Ceramiaceae, Rhodophyta) based on plastid protein-coding *psaA*, *psbA*, and *rbcL* gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 31(2), 680–8.
129. O’Keefe B, Giomarelli B, Barnard D, Shenoy S, Chan P, McMahan J, Palmer K, Barnett B, et al. Broad-Spectrum In Vitro Activity and In Vivo Efficacy of the Antiviral Protein Griffithsin against Emerging Viruses of the Family Coronaviridae. *Journal of Virology*, 2010, 84(5), 2511–21.

130. Jafari N, Habashi M, Hashemi A, Shirazi R, Tanideh N, Tamadon A. Application of bioactive glasses in various dental fields. *Biomaterials Research*. BioMed Central Ltd, 2022, 26, 31. doi: 10.1186/s40824-022-00274-6
131. Hong L, Ding Y, Zhang W, Lin H. Chemical and biological diversity of new natural products from marine sponges: a review (2009–2018). *Marine Life Science & Technology*, 2022, 4(3), 356–72.
132. Hamoda A, Fayed B, Ashmawy N, El-Shorbagi A, Hamdy R, Soliman S. Marine Sponge is a Promising Natural Source of Anti-SARS-CoV-2 Scaffold. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12, 666664. doi: 10.3389/fphar.2021.666664
133. Coelho C, Gallo G, Campos C, Hardy L, Wurtele M. Biochemical screening for SARS-CoV-2 main protease inhibitors. *PLOS ONE*, 2020, 15(10), doi: 10.1371/journal.pone.0240079.
134. Surti M, Patel M, Adnan M, Moin A, Ashraf S, Siddiqui A, Snoussi M, Deshpande S, et al. Ilimaquinone (marine sponge metabolite) as a novel inhibitor of SARS-CoV-2 key target proteins in comparison with suggested COVID-19 drugs: designing, docking and molecular dynamics simulation study. *RSC Advances*, 2020, 10(62), 37707–20.
135. Gentile D, Patamia V, Scala A, Sciortino M, Piperno A, Rescifina A. Putative inhibitors of SARS-COV-2 main protease from a library of marine natural products: A virtual screening and molecular modeling study. *Marine Drugs*, 2020, 18(4), 225. doi: 10.3390/md18040225
136. Pokharkar O, Lakshmanan H, Zyryanov G, Tsurkan M. In silico evaluation of antifungal compounds from marine sponges against COVID-19-associated mucormycosis. *Marine Drugs*, 2022, 20(3), 215. doi: 10.3390/md20030215
137. Habener L, Hooper J, Carroll A. Chemical and biological aspects of marine sponges from the family mycalidae. *Planta Medica*, 2016, 82, 816–31.
138. White J, Patel J, Ottesen A, Arce G, Blackwelder P, Lopez J. Pyrosequencing of bacterial symbionts within *Axinella corrugata* sponges: diversity and seasonal variability. *PLOS ONE*, 2012, 7(6), doi: 10.1371/journal.pone.0038204.
139. Lopeztegui-Castillo A, Betanzos-Vega A, Formoso-García M. Abundancia y talla de esponjas comerciales (Spongiidae) en el Golfo de Batabanó, Cuba: Actualización y recomendaciones de manejo. *Journal Contribution*, 2023, 40(1), 72-85.
140. Chang Y, Tseng S, Liu L, Chou Y, Ho Y, Lu M, Su J. Cytotoxic sesterterpenoids from a sponge *Hippospongia* sp. *Marine Drugs*, 2012, 10(5), 987–97.
141. Guo J, Chiang C, Lu M, Chang W, Su J. 4-Methylenesterols from a sponge *theonella swinhoei*. *Marine Drugs*, 2012, 10(7), 1536–44.
142. Hasin O, Shoham S, Kashman Y, Ilan M, Carmeli S. Theonellamides j and k and 5-cis-apoa-theopalauamide, bicyclic glycopeptides of the red sea sponge *theonella swinhoei*. *Marine Drugs*, 2022, 20(1), 31. doi: 10.3390/md20010031
143. Tabares P, Degel B, Schaschke N, Hentschel U, Schirmeister T. Identification of the protease inhibitor miraziridine A in the Red sea sponge *Theonella swinhoei*. *Pharmacognosy Research*, 2012, 4(1), 63–6.
144. Haedar J, Uria A, Lallo S, Dibwe D, Wakimoto T. New Theonellapeptolides from Indonesian Marine Sponge *Theonella swinhoei* as Anti-Austerity Agents. *Marine Drugs*, 2022, 20(11), 661. doi: 10.3390/md20110661

145. Casertano M, Genovese M, Santi A, Pranzini E, Balestri F, Piazza L, Corso A, Avunduk S, et al. Evidence of insulin-sensitizing and mimetic activity of the sesquiterpene quinone avarone, a protein tyrosine phosphatase 1b and aldose reductase dual targeting agent from the marine sponge *dysidea avara*. *Pharmaceutics*, 2023, 15(2), 528. doi: 10.3390/pharmaceutics15020528
146. Caralt S, Bry D, Bontemps N, Turon X, Uriz M, Banaigs B. Sources of secondary metabolite variation in *Dysidea avara* (porifera: Demospongiae): The importance of having good neighbors. *Marine Drugs*, 2013, 11(2), 489–503.
147. Putnam H, Barott K, Ainsworth T, Gates R. The vulnerability and resilience of reef-building corals. *current biology*. 2017, 27(11), 528–40.
148. Singh R, Chauhan N, Kuddus M. Exploring the therapeutic potential of marine-derived bioactive compounds against COVID-19. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28, 52798–52809.
149. Khan M, Ali A, Wang Q, Irfan M, Khan A, Zeb M, Zhang Y, Chinnasamy S, et al. Marine natural compounds as potents inhibitors against the main protease of SARS-CoV-2—a molecular dynamic study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2020, 39(10), 1–11.
150. Rahman N, Basharat Z, Yousuf M, Castaldo G, Rastrelli L, Khan H. Virtual screening of natural products against type II transmembrane serine protease (TMPRSS2), the priming agent of coronavirus 2 (SARS-COV-2). *Molecules*, 2020, 25(10), 2271. doi:10.3390/molecules25102271
151. Abdelfattah M, El-Hammady M, Mostafa A, Kutkat O, Shama N, Nafie M, El-Ebeedy D, Abdel A. Identification of potential antiviral compounds from Egyptian Red Sea soft corals against Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Natural Products Research*, 2023, 17, 1-7.
152. Wirshing H, Baker A. Molecular and morphological species boundaries in the Gorgonian octocoral genus *pterogorgia* (Octocorallia: Gorgoniidae). *PLOS ONE*, 2015, 10(7): 1-16.
153. Beurmann S, Videau P, Ushijima B, Smith A, Aeby G, Callahan S, Belcaid M. Complete genome sequence of *Pseudoalteromonas* sp. strain OCN003, isolated from Kāneʻohe Bay, Oʻahu, Hawaii. *Genome Announcements*, 2015, 3(1), doi: 10.1128/genomeA.01396-14.
154. Braña A, Sarmiento-Vizcaíno A, Osset M, Pérez-Victoria I, Martín J, Pedro N, Cruz M, Díaz C, et al. Lobophorin K, a new natural product with cytotoxic activity produced by *Streptomyces* sp. M-207 associated with the deep-sea coral *Lophelia pertusa*. *Marine Drugs*, 2017, 15(5), 144. doi:10.3390/md15050144
155. Cheng Y, Ahmed A, Orfali R, Dai C, Sheu J. Briarenones A-C, New Briarellin Diterpenoids from the Gorgonian *Briareum violaceum*. *Marine Drugs*, 2019, 17(2), 120. doi:10.3390/md17020120
156. Lin Y, Lin S, Feng C, Chen P, Su Y, Li C, Yang S, Jean Y et al. Anti-inflammatory and analgesic effects of the marine-derived compound excavatolide B isolated from the culture-type Formosan gorgonian *Briareum excavatum*. *Marine Drugs*, 2015, 13(5), 2559–79.
157. Rahman M, Islam M, Shohag S, Hossain M, Shah M, Shuvo S, Khan H, Chowdhury M, et al. Multifaceted role of natural sources for COVID-19 pandemic as marine drugs. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29, 46527–50.
158. Uras I, Ebada S, Korinek M, Albohy A, Abdulrazik B, Wang Y, Chen B, Horng J, et al. Anti-inflammatory, antiallergic, and COVID-19 main protease (MPRO) inhibitory

- activities of butenolides from a marine-derived fungus *aspergillus Terreus*. *Molecules*, 2021, 26(11), 3354. doi: 10.3390/molecules26113354
159. Lass-Flörl C, Dietl A, Kontoyiannis D, Brock M. *Aspergillus terreus* Species Complex. *Clinical Microbiology Reviews*. American Society for Microbiology, 2021, 34(4), doi: 10.1128/CMR.00311-20.
 160. Tan L, Phyo M. Marine cyanobacteria: A source of lead compounds and their clinically-relevant molecular targets. *Molecules*, 2020, 25(9), 2197. doi: 10.3390/molecules25092197
 161. Khalifa S, Shedid E, Saied E, Jassbi A, Jamebozorgi F, Rateb M, Du M, Kai G, et al. Cyanobacteria—from the oceans to the potential biotechnological and biomedical applications. *Marine Drugs*, 2021, 19(5), 241. doi: 10.3390/md19050241
 162. Mazur-Marzec H, Cegłowska M, Konkel R, Pyrc K. Antiviral cyanometabolites—A review. *Biomolecules*, 2021, 11(3), 1–16.
 163. Salcedo-Reyes J, Ortiz-Moreno M, Cárdenas-Poblador J, Agredo J, Solarte-Murillo L. Modeling the effects of light wavelength on the growth of *Nostoc ellipsosporum*. *Universitas Scientiarum: Journal of the Faculty of Sciences, Pontificia Universidad Javeriana*, 2020 25(1), 113–48.
 164. ElFar O, Billa N, Lim H, Chew K, Cheah W, Munawaroh H, Balakrishnan D, Show P. Advances in delivery methods of *Arthrospira platensis* (spirulina) for enhanced therapeutic outcomes. *Bioengineered*, 2022, 13(6), 14681–718.
 165. Wood S, Crowe A, Ruck J, Wear R. New records of planktonic cyanobacteria in New Zealand freshwaters. *New Zealand Journal of Botany*, 2005, 43(2), 479–92.
 166. Berardi A, Perinelli D, Merchant H, Bisharat L, Basheti I, Bonacucina G, Cespi M, Palmieri G. Hand sanitisers amid CoViD-19: A critical review of alcohol-based products on the market and formulation approaches to respond to increasing demand. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020, 584(7), doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119431.
 167. Soleymani S, Naghizadeh A, Karimi M, Zarei A, Mardi R, Kordafshari G, Esmaealzadeh N, Zargaran A. COVID-19: general strategies for herbal therapies. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 2022, 27, 1-18.
 168. Li X, Duan S, Chu C, Xu J, Zeng G, Lam A, Zhou J, Yin Y, et al. *Melaleuca alternifolia* concentrate inhibits in vitro entry of influenza virus into host cells. *Molecules*, 2013, 18(8), 9550–66.
 169. Motti M, Tafuri D, Donini L, Masucci M, Falco V, Mazzeo F. The role of nutrients in prevention, treatment and post-coronavirus disease-2019 (COVID-19). *Nutrients*, 2022, 14(5), 1000. doi: 10.3390/nu14051000
 170. Zahedipour F, Hosseini S, Sathyapalan T, Majeed M, Jamialahmadi T, Al-Rasadi K, Banach M, Sahebkar A. Potential effects of curcumin in the treatment of COVID-19 infection. *Phytotherapy Research*, 2020, 34(11), 2911–20.
 171. Arshad M, Khan U, Sadiq A, Khalid W, Hussain M, Yasmeen A, Asghar Z, Rehana H. Coronavirus disease (COVID-19) and immunity booster green foods: a mini review. *Food Science and Nutrition*, 2020, 8(8), 3971–6.
 172. Donma M, Donma O. The effects of *allium sativum* on immunity within the scope of COVID-19 infection. *Medical Hypotheses*, 2020, 144, doi: 10.1016/j.mehy.2020.109934.

173. Mrityunjaya M, Pavithra V, Neelam R, Janhavi P, Halami P, Ravindra P. Immune-boosting, antioxidant and anti-inflammatory food supplements targeting pathogenesis of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11, doi: 10.3389/fimmu.2020.570122.
174. Zhou J, Huang J. Current findings regarding natural components with potential anti-2019-nCoV activity. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2020, 8, 589. doi: 10.3389/fcell.2020.00589
175. Chien T, Liu C, Chang Y, Fang C, Pai J, Wu Y, Chen S. Therapeutic effects of herbal-medicine combined therapy for COVID-19: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Frontiers in Pharmacology*, 2022, 13(4), 1-17.
176. Fan A, Gu S, Alemi S. Chinese herbal medicine for COVID-19: current evidence with systematic review and meta-analysis. *Journal of Integrative Medicine*, 2020, 18(5), 385–94.
177. Dolganyuk V, Belova D, Babich O, Prosekov A, Ivanova S, Katsarov D, Patyukov N, Sukhikh S. Microalgae: a promising source of valuable bioproducts. *Biomolecules*, 2020, 10(8), 1–24.

12. Fontes das figuras

Figura 5.1: <https://identify.plantnet.org/pt/k-world-flora/species/Solanum%20pseudocapsicum%20L./data>, último acesso 17/09/2023

Figura 5.3: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tinospora_cordifolia_fruits.jpg, último acesso 17/09/2023

Figura 5.5: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Glycyrrhiza_glabra_Y02.jpg, último acesso 17/09/2023

Figura 5.7: <https://pxhere.com/en/photo/1163797>, último acesso 17/09/2023

Figura 5.9:

https://www.rawpixel.com/search/ginger?page=1&sort=curated&topic_group=_topics, último acesso 17/09/2023

Figura 5.11: <https://identify.plantnet.org/pt-br/k-world-flora/species/Curcuma%20alismatifolia%20Gagnep./data>, último acesso 17/09/2023

Figura 5.13: [https://identify.plantnet.org/pt/k-world-flora/species/Cinnamomum%20camphora%20\(L.\)%20J.Presl/data](https://identify.plantnet.org/pt/k-world-flora/species/Cinnamomum%20camphora%20(L.)%20J.Presl/data), último acesso 17/09/2023

Figura 5.15: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Camellia_sinensis_flower_tea.JPG, último acesso 17/09/2023

Figura 5.17: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Piper_longum-1-papanasam-tirunelveli-India.jpg, último acesso 17/09/2023

Figura 5.18:

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Flower_of_Ocimum_tenuiflorum_plant.jpg, último acesso 17/09/2023

Figura 6.1: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Ecklonia_stolonifera_-_National_Museum_of_Nature_and_Science,_Tokyo_-_DSC07668.JPG, último acesso 17/09/2023

Figura 6.3:

<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:%E8%92%B2%E5%8F%B0%E5%B3%B6%E6%BC%81%E6%B0%91%E6%99%BE%E6%9B%AC%E6%B5%B7%E5%B8%B6.jpg>, último acesso 17/09/2023

Figura 6.5:

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Umibudou_at_Miyakojima01s3s2850.jpg, último acesso 17/09/2023

Figura 6.8: <https://www.flickr.com/photos/wildsingapore/14164754897/>, último acesso 17/09/2023

Figura 6.10: <https://en.wikipedia.org/wiki/Axinella>, último acesso 17/09/2023

Figura 6.14: <https://en.wikipedia.org/wiki/Dysidea>, último acesso 17/09/2023

Figura 6.17: <https://www.pexels.com/photo/close-up-shot-of-a-green-coral-4228436/>, último acesso 17/09/2023

Figura 6.19: <https://www.flickr.com/photos/noaphotolib/5277259739/>, último acesso 17/09/2023