

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Faculdade de Ciências e Tecnologia

PRODUTOS NATURAIS NA COVID-19

Inês Sofia Coelho Guerreiro

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

UNIVERSIDADE DO ALGARVE
Faculdade de Ciências e Tecnologia

PRODUTOS NATURAIS NA COVID-19

Inês Sofia Coelho Guerreiro

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação de:
Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel

PRODUTOS NATURAIS NA COVID-19

Declaração de autoria de trabalho

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.

(Inês Sofia Coelho Guerreiro)

Copyright© Inês Sofia Coelho Guerreiro

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

Concluída mais uma etapa importante na minha vida, em que sem a ajuda de muitos não teria sido possível, aproveito para expressar o meu maior e sincero agradecimento.

Aos meus pais, um agradecimento especial por nunca me deixarem desistir, por todos os abraços, palavras reconfortantes e todo o amor que me deram ao longo da minha caminhada.

A cada familiar, um grande obrigado por todo o apoio e força que me deram para levar esta etapa até ao fim, tudo o que sou hoje se deve a vocês. Agradecer também aos meus pequenos, que sem saberem proporcionaram-me momentos tão felizes.

Aos meus amigos, por fazerem parte da família que eu escolhi, um obrigado não é suficiente para todo o apoio que me deram nas piores fases da minha vida, pela amizade e momentos felizes, pelos convívios, pelas gargalhadas e lágrimas, assim como por compreenderem a minha ausência ao longo destes anos de curso.

Às minhas parceiras desta jornada, um especial agradecimento por tornarem isto mais fácil, por serem a minha âncora, por todas as gargalhadas, por toda a motivação, pela união e força.

Às minhas madrinhas e afilhadas de praxe quero agradecer por me terem recebido e escolhido para fazer parte da vida académica, tornaram esta vivência especial.

A toda a equipa da Farmácia Comunitária Santos Pinto, bem como do Centro Hospitalar Universitário do Algarve – Unidade de Portimão, onde tive a oportunidade de estagiar, o meu obrigada pela maneira como fui recebida e pelos ensinamentos da profissão.

Por último, mas não menos importante, quero agradecer à Professora Doutora Maria da Graça Costa Miguel, por ter aceite ser minha orientadora, pela disponibilidade e pelos conhecimentos transmitidos.

RESUMO

No final do ano de 2019, surgiram os primeiros casos de COVID-19, na China. Esta doença é provocada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2 e pode resultar numa infeção respiratória grave.

Num curto espaço de tempo, observou-se que esta doença se transmitia facilmente entre os indivíduos, através de gotículas de saliva ou secreção nasal libertadas quando um indivíduo tosse ou espirra, de tal forma que acabou por atingir diversos países, tendo sido classificado pela Organização Mundial de Saúde como pandemia. No entanto, a ausência de terapêuticas aprovadas para tratamento desta doença representa uma ameaça para a Saúde Pública, sendo por isso urgente desenvolver agentes anti-SARS-CoV-2.

No combate a esta pandemia, vários países têm realizado diversos estudos e ensaios clínicos a fim de descobrir compostos ativos capazes de atuar sobre o SARS-CoV-2, focando-se no alívio sintomático (atualmente conseguido com recurso a agentes terapêuticos comumente utilizados contra outras infeções virais), inibição do ciclo da replicação viral, aumento da resposta imunitária e alívio “da tempestade de citocinas” provocada pela COVID-19. Por outro lado, também a prevenção da infeção é importante. Neste sentido, tem-se optado pelo método atualmente mais eficaz para prevenir doenças infecciosas, a vacinação.

Na procura de novas estratégias terapêuticas, a fitoterapia não deve ser esquecida, uma vez que os produtos naturais possuem uma ampla atividade farmacológica e são geralmente menos tóxicos do que os medicamentos convencionais. Nos estudos já realizados, fármacos vegetais têm demonstrado ser promissores na inibição ou interrupção da proliferação deste agente infeccioso.

Posto isto, a presente monografia pretende, através de uma revisão bibliográfica aprofundada, recolher informações sobre o potencial de plantas e produtos naturais para inibir o novo coronavírus SARS-CoV-2, destacando os compostos mais promissores para a pesquisa e desenvolvimento da cura desta doença.

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, tratamento, produtos naturais

ABSTRACT

At the end of 2019, the first cases of COVID-19 appeared in China. This disease is caused by the new coronavirus SARS-CoV-2 and can culminate in a severe respiratory infection.

In a short period of time, it was observed that this disease was transmitted easily between individuals, through droplets of saliva or nasal discharge released when an individual coughs or sneezes, so much so that it ended up reaching many countries, having been classified by the World Health Organization as a pandemic. Nevertheless, the absence of approved medications for the treatment of this disease poses as a threat to the Public Health, which makes the development of anti-SARS-CoV-2 agents urgent.

In the fight against this pandemic, many countries have performed several studies and clinical trials in order to discover active compounds capable of acting against SARS-CoV-2, focusing on symptomatic treatment (presently obtained with therapeutic agents used against other viral infections), inhibition of the viral replication cycle, enhancement of the immune response and relief of “the cytokine storm” brought by COVID-19. On the other hand, preventing the infection is also important. In this sense, the preferred method has been the one that’s currently most effective in the prevention of infectious diseases, the vaccination.

While searching for new therapeutic strategies, phytotherapy mustn’t be forgotten, since natural products have a broad pharmacological activity and are generally less toxic than conventional drugs. In studies carried out until now, herbal medicines have proved to be promising in the inhibition or interruption of this infectious agent’s proliferation.

Hereupon, the present dissertation intends to, through an in-depth literature review, collect information regarding the potential of plants and natural products to inhibit the new coronavirus SARS-CoV-2, highlighting the most promising compounds in the search and development of the cure for this disease.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, treatment, natural products

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE TABELAS	vii
LISTA DE SIGLAS.....	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. A COVID-19	3
2.1. Modo de Transmissão	3
2.2. Sinais e Sintomas	4
2.3. Período de incubação	4
2.4. Epidemiologia da COVID-19	4
2.5. Diagnóstico laboratorial	6
2.6. Classificação taxonómica do novo coronavírus	7
2.7. Características estruturais de SARS-CoV-2.....	8
2.8. Replicação do vírus	9
2.9. Resposta Imune	10
3. DESENVOLVIMENTO DE VACINAS.....	12
3.1. Tipos de vacinas.....	12
3.1.1. Vacinas inativadas.....	12
3.1.2. Vacinas vivas atenuadas.....	13
3.1.3. Vacinas de vetor viral.....	13
3.1.4. Vacinas de subunidade.....	13
3.1.5. Vacinas de DNA.....	13
3.1.6. Vacinas de mRNA.....	14
3.2. Vacinas COVID-19 autorizadas e recomendadas para uso na União Europeia	15
3.2.1. Vacina COMIRNATY®	15
3.2.2. Vacina Spikevax.....	15

3.2.3. Vacina Janssen	16
3.2.4. Vacina Vaxzevira	17
4. TRATAMENTO	18
4.1. Medicamentos antivirais aprovados ou em avaliação para o tratamento de COVID-19	19
4.1.1. Remdesivir	19
4.1.2. Cloroquina ou Hidroxicloroquina e/ou Azitromicina	20
4.1.3. Lopinavir e ritonavir	20
4.1.4. Anticorpos monoclonais anti-SARS-CoV-2	21
4.1.5. Inibidores de Interleucina - 1	21
4.1.6. Inibidores de Interleucina – 6	21
4.1.7. Molnupiravir	22
4.1.8. Paxlovid	23
5. PRODUTOS NATURAIS	24
5.1. Inibição da ligação da proteína S ao recetor ACE2	24
5.2. Inibição da síntese e replicação de RNA	25
5.2.1. Inibição da protease semelhante a 3-quimiotripsina (3CL ^{pro})	26
5.2.2. Inibição da protease semelhante à papaína (PL ^{pro})	30
5.2.3. Inibição da RNA polimerase RNA-dependente (RdRp)	31
5.2.4. Inibição da helicase	31
6. CONCLUSÃO	32
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Evolução do valor de índice $R(t)$ em Portugal adaptado de (19).....	6
Figura 2.2. Esquema de classificação da taxonomia do coronavírus adaptado de (5).	7
Figura 2.3. Organização esquemática do genoma do coronavírus adaptado de (22).	9
Figura 2.4. Ciclo replicativo do SARS-CoV-2 nas células hospedeiras adaptado de (22).	10

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1. Quadro resumo das principais vantagens e desvantagens de cada tipo de vacinas adaptado de (30)..... 14

Tabela 4.1. Recomendações segundo as guidelines americanas definidas pelo NIH no tratamento de doentes hospitalizados ou não hospitalizados com COVID-19 adaptado de (44)..... 19

LISTA DE SIGLAS

3CL^{pro} – Protease semelhante a 3-quimiotripsina (do inglês *3-chymotrypsin-like protease*)

ACE2 – Enzima conversora de angiotensina 2 (do inglês *angiotensin-converting enzyme 2*)

ATPase – Adenosinatrifosfatase

COVID-19 – Doença por coronavírus 2019

DNA – Ácido desoxirribonucleico (do inglês *deoxyribonucleic acid*)

EMA – *European Medicines Agency*

EUA – Estados Unidos da América

FDA – *Food and Drug Administration*

HCoV-229E – Coronavírus humano 229E

HCoV-OC43 – Coronavírus humano OC43

HIV – Vírus da imunodeficiência humana

IFN – Interferão

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IL-6 – Interleucina-6

IL-1 – Interleucina-1

INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

IV - Intravenosa

MERS-CoV – Coronavírus da síndrome respiratória do oriente médio

M^{pro} – Protease principal

mRNA – RNA mensageiro

NIH – *National Institutes of Health*

NSPs – Proteínas não estruturais (do inglês *non-structural proteins*)

OMS – Organização Mundial de Saúde

ORFs – Estruturas de leitura aberta (do inglês *open reading frame*)

PCR – Reação em cadeia da polimerase (do inglês *polymerase chain reaction*)

PL^{pro} – Protease semelhante a papaína (do inglês *papain-like protease*)

pp1a – Poliproteína 1a

pp1b – Poliproteína 1b

R₀ - Número básico de reprodução

R(t) - Número efetivo de reprodução

RdRp - RNA polimerase RNA- dependente

RE – Retículo endoplasmático

RNA – Ácido Ribonucleico (do inglês *ribonucleic acid*)

RTC – Complexo de replicação e transcrição viral

SAC - S-alilcisteína

SARS-CoV – Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave

SARS-CoV-2 – Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2

SC - Subcutânea

TMPRSS2 - Protease transmembranar serina 2

TNF – Fator de necrose tumoral

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, enfrentamos um grave problema de saúde pública, a nível global, devido ao novo coronavírus, pertencente à família *Coronaviridae*. A 31 de dezembro de 2019, na China, surgiram os primeiros casos relatados como sendo uma pneumonia de etiologia desconhecida no momento. A Organização Mundial de Saúde (OMS) foi notificada em relação ao número total de pacientes infetados com esta pneumonia que haviam frequentado um mercado de marisco e animais vivos em Wuhan, levando a identificar este local como possível foco do surto, que foi posteriormente encerrado para desinfecção (1).

Os doentes apresentavam sintomas que são bastante frequentes em doenças respiratórias, como a constipação ou a gripe no inverno. Contudo, em alguns casos, a sintomatologia apresentada carecia de cuidados médicos, dado a sua gravidade (1,2).

Após estudos e isolamento do agente causador da doença, chegou-se à conclusão de que esta pneumonia é de etiologia viral. Posteriormente, a 12 de janeiro de 2020, foi determinada a sequência genómica do agente etiológico, uma importante ferramenta para o conhecimento clínico e desenvolvimento de intervenções terapêuticas (2,3).

A OMS designou o novo coronavírus como síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) e a sua doença associada como a doença coronavírus 2019 (COVID-19). Por se tratar de uma doença altamente infecciosa, os esforços para conter o vírus foram insuficientes, verificando-se a sua transmissão de região para região, de continente para continente. Posto isto, a OMS classificou a COVID-19 como pandemia, apelando ao estabelecimento de medidas de contenção para reduzir o número de infeções, nomeadamente o uso de máscaras, distanciamento físico e isolamento social (4,5).

Os primeiros casos de infeção por coronavírus em humanos surgiram em 1960 (HCoV-229E e HCoV-OC43). Porém, nessa altura, estes casos foram inicialmente considerados como sendo uma constipação, tendo-se verificado posteriormente a relação causal entre a infeção por coronavírus e a doença respiratória (5). Atualmente, sabe-se que existem 7 coronavírus capazes de provocar infeções respiratórias nos humanos, destacando-se o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e SARS-CoV-2, responsáveis por grandes surtos virais associados a perda de vidas humanas no mundo

(6). O primeiro surto de SARS-CoV surgiu em 2002 na China, enquanto o surto de MERS-CoV foi identificado pela primeira vez na Arábia Saudita em 2012. Em ambos os casos, os vírus adquiriram alterações genéticas, o que lhes permitiu encontrar novos hospedeiros (5,7).

À luz do que acontece nos nossos dias, instalou-se um problema de saúde pública que, por sua vez, deu origem a problemas económicos. Desta forma, é notável a fragilidade do mundo em lidar com uma pandemia tão massiva, como as provocadas por SARS-CoV e SARS-CoV-2 (5).

O surgimento da pandemia COVID-19 levou a que fossem realizados vários estudos na tentativa de encontrar compostos capazes de inibir ou interromper a proliferação do SARS-CoV-2. O tratamento geralmente preconizado está direcionado para o alívio dos sintomas (8,9). Assim sendo, a maioria das estratégias terapêuticas tem por base no reaproveitamento de agentes terapêuticos já existentes e utilizados contra outras infeções virais, focando-se também na inibição do ciclo de replicação viral, aumento da imunidade inata e alívio da “tempestade de citocinas” provocada por COVID-19 (10).

No tratamento de várias doenças virais, para além do recurso a medicamentos antivirais, é também comum o uso de plantas medicinais, como por exemplo a *Glycyrrhiza glabra* L., que possui benefícios para o controlo da replicação viral. Da mesma forma, a fitoterapia pode constituir uma ferramenta para a prevenção ou tratamento da infeção causada pelo SARS-CoV-2 (11).

Posto isto, a presente dissertação tem como objetivo compreender o mecanismo e ciclo viral do SARS-CoV-2, bem como explorar as possíveis alternativas terapêuticas naturais para o combate a esta doença ou no alívio dos sintomas, quer em associação com a terapia convencional ou não.

2. A COVID-19

A COVID-19 é a designação atribuída à doença coronavírus 2019, provocada pelo coronavírus SARS-CoV-2, que pode resultar numa infeção respiratória grave como a pneumonia, mas também afetar os sistemas imunológico, gastrointestinal, nervoso e renal (6,12).

2.1. Modo de Transmissão

Por se tratar de um vírus zoonótico, o coronavírus tem a capacidade de se transmitir de animais para humanos, bem como entre humanos. A transmissão do SARS-CoV-2 entre humanos ocorre essencialmente através de aerossóis e gotículas de secreções respiratórias expelidas quando uma pessoa infetada tosse ou espirra. Esta transmissão ocorre normalmente a partir de um contacto próximo (até 2 metros de distância) com uma pessoa infetada. Contudo o vírus pode-se propagar por distâncias maiores ou permanecer no ar mais tempo. A transmissão do vírus pode ainda ocorrer através de objetos e superfícies contaminadas, no entanto, não é viável no meio ambiente durante muito tempo (5,13).

Para além de ser transmitido através do contacto com pessoas que apresentam sintomatologia característica da infeção por SARS-CoV-2, o vírus pode também ser transmitido por indivíduos que não apresentam sintomas ou assintomáticas (7).

O risco de contágio por indivíduos sintomáticos é maior nos dias imediatamente anteriores ao aparecimento de sintomas e alguns dias após o mesmo, pois a carga viral presente nas suas secreções respiratórias é mais elevada. Uma vez que o vírus se propaga facilmente entre indivíduos, o risco de infeção é tanto maior quanto maior a proximidade entre pessoas e a duração do contacto entre as mesmas. Consequentemente, os locais sobrelotados ou mal ventilados, bem como as habitações com maior número de pessoas, apresentam maior dificuldade em manter o distanciamento o que, por sua vez, aumenta o risco de transmissão do vírus (7,14).

2.2. Sinais e Sintomas

Os sintomas da COVID-19 podem ser confundidos com os sintomas de uma gripe ou constipação, uma vez que se trata de infecções respiratórias agudas (12).

Como referido anteriormente, as pessoas infetadas podem ser assintomáticas ou, em contrapartida, podem apresentar alguns sinais e sintomas, nomeadamente febre (temperatura ≥ 38.0 °C), tosse, falta de ar ou dificuldade em respirar, cefaleias, dor muscular, perda do olfato ou paladar, náuseas ou vômitos e diarreia. Em situações mais graves, o vírus pode conduzir à morte ou a complicações sérias como a pneumonia grave com insuficiência respiratória aguda, insuficiência renal e de outros órgãos (12,13).

O risco de morte em pessoas com COVID-19 aumenta com a idade, em pessoas fumadoras ou com problemas respiratórios, ou ainda com outras doenças crónicas que comprometem o seu sistema imunitário (7).

2.3. Período de incubação

O período de incubação corresponde ao tempo decorrido entre a exposição ao vírus e o aparecimento de sintomas, sendo para o SARS-CoV-2 considerado um período de 2 a 14 dias, com um período médio de incubação de 5 dias (15).

2.4. Epidemiologia da COVID-19

A palavra epidemiologia tem origem nas palavras gregas *epi*, que significa sobre, *demos*, que significa “população”, e *logos*, que significa “estudo de”. Ou seja, a epidemiologia é o estudo de casos e/ou condições de saúde, bem como a sua distribuição e determinantes, numa determinada população. Faz também parte desta ciência a aplicação destes estudos para o controlo de problemas de saúde (16).

Como a doença COVID-19 se tornou rapidamente num grave problema de saúde pública sobrecarregando os hospitais com o aumento do número de pessoas infetadas e

com o aumento do número de mortos devido à sua elevada transmissibilidade entre indivíduos foi necessário recorrer a medidas de contenção do vírus.

A nível mundial foram notificados à OMS, a 3 de dezembro de 2021, 263 563 622 casos confirmados de COVID-19, incluindo 5 232 562 óbitos (17).

Em Portugal, o primeiro caso de COVID-19 foi reportado a 2 de março de 2020, onde foram, mais precisamente, 2 casos registados. Até ao dia 5 de dezembro de 2021 foram registados 1 166 787 casos confirmados de COVID-19, de onde 61 363 são casos ativos, 1 086 887 são casos recuperados e 18 537 óbitos (18).

O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) tem elaborado relatórios semanais, desde o início da pandemia, onde apresentam as estimativas da curva epidémica da infeção por SARS-CoV-2 e as estimativas dos parâmetros de transmissibilidade, a nível nacional (19).

Para isso, é utilizado a metodologia *Nowcasting*, que consiste na correção da curva epidémica de SARS-CoV-2 para o atraso de notificações de casos confirmados. Posto isto, e com base no relatório de 10 de dezembro de 2021, após a correção da curva epidémica estima-se que até ao dia 5 de dezembro de 2021 tenham ocorrido 1 178 893 casos (19).

O relatório também apresenta a estimativa dos parâmetros epidemiológicos número básico de reprodução (R_0) e número efetivo de reprodução ($R(t)$). O R_0 é um indicador de transmissibilidade da infeção e deve ser calculado na fase inicial da epidemia, quando ainda não existem medidas de contenção do vírus implementadas ou atrasos na notificação. Assim, o R_0 estimado foi de 2,02 (podendo variar entre 1,92 – 2,11 com uma confiança de 95%) baseado na curva epidémica até ao dia 16 de março de 2020. Relativamente ao $R(t)$, este consiste no “número médio de casos secundários resultantes de um caso infetado, medido em função do tempo”, assim este parâmetro deve ser analisado ao longo do tempo em que a epidemia decorre, medindo a transmissão ao longo do tempo. Neste caso, a estimativa do $R(t)$ variou entre 0,8 e 2,12, desde o surgimento da epidemia de COVID-19, revelando que houve alturas em que se observou um decréscimo aquando se implementaram medidas de contenção do vírus, por exemplo, e alturas em que ocorria um aumento do $R(t)$ após período de épocas festivas (Figura 2.1) (19).

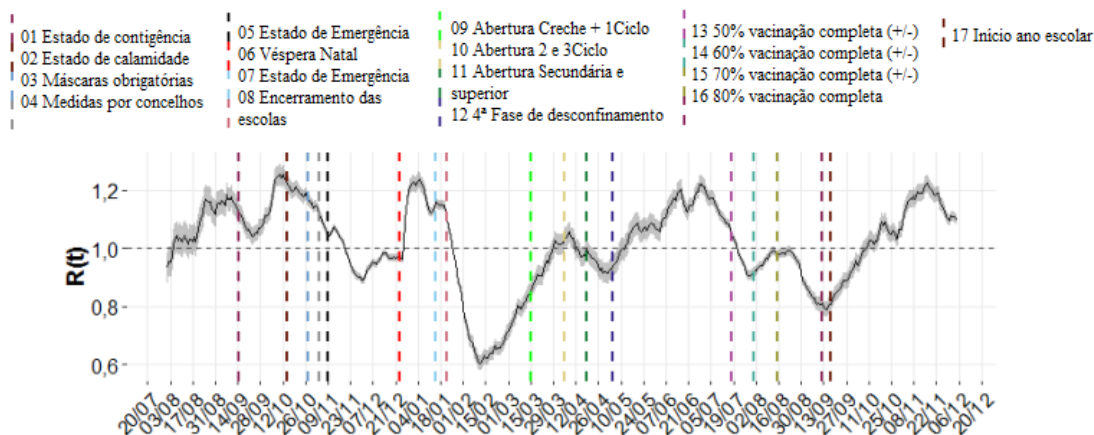


Figura 2.1. Evolução do valor de índice $R(t)$ em Portugal adaptado de (19).

2.5. Diagnóstico laboratorial

A infeção por SARS-CoV-2 é diagnosticada laboratorialmente através da deteção do genoma viral em amostras biológicas colhidas com zaragatoa ao nível das mucosas nasal, nasofaríngea ou da garganta. Esta deteção laboratorial é efetuada usando a metodologia de amplificação dos ácidos nucleicos, através da reação em cadeia da polimerase (PCR do inglês *polymerase chain reaction*) (13,20).

Os protocolos para esta reação de amplificação ficaram disponíveis logo assim que se teve conhecimento da sequência do genoma viral, permitindo a obtenção de resultados com elevado grau de sensibilidade e especificidade (20).

Face ao surto de COVID-19 também se passou a utilizar outro método de testagem, nomeadamente, o teste rápido de antígeno, que permite identificar a presença de proteínas específicas do vírus SARS-CoV-2. As vantagens deste teste são o seu baixo custo e a rapidez na obtenção da resposta. Contudo, é um teste menos sensível do que os testes PCR e funcionam melhor com cargas virais elevadas, ou seja, nos primeiros cinco dias após o início dos sintomas. Ainda assim, é um ótimo método para identificar rapidamente as pessoas com infeção por SARS-CoV-2.

Como alternativa à deteção do genoma viral, é também possível fazer-se o diagnóstico através de pesquisa de anticorpos presentes no soro do indivíduo. A sorologia permite detetar os anticorpos produzidos contra antígenos, neste caso, o vírus SARS-

CoV-2. Esta detecção de imunoglobulina M (IgM) e de imunoglobulina G (IgG) tem como vantagens um custo mais baixo que o diagnóstico anterior e, em alguns casos, a detecção do genoma viral é mais rápida. Todavia, não é um método de diagnóstico adequado para a fase aguda inicial da infecção, pois os anticorpos só são detetáveis, na sua maioria, após 14 dias (7,20).

2.6. Classificação taxonómica do novo coronavírus

O coronavírus pertence à família *Coronaviridae* que, por sua vez, pertence à ordem *Nidovirales* (Figura 2.2). Esta família divide-se em duas subfamílias, *Toronavirinae* e *Coronavirinae*, incluindo esta última 4 géneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. Os dois primeiros géneros são patogénicos para os mamíferos, enquanto os gama e delta coronavírus provocam doenças graves em aves (5,6).

Os betacoronavírus, que são patogénicos para o ser humano, podem provocar infeções ao nível do trato respiratório, mas também podem surgir manifestações intestinais e neurológicas (7).

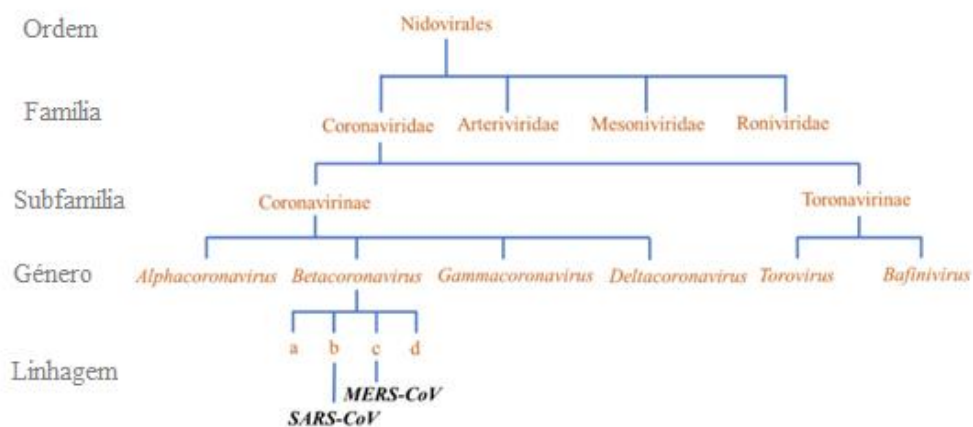


Figura 2.2. Esquema de classificação da taxonomia do coronavírus adaptado de (5).

2.7. Características estruturais de SARS-CoV-2

Os coronavírus são vírus de ácido ribonucleico (RNA do inglês *ribonucleic acid*) de cadeia positiva. A sua estrutura consiste num núcleo de RNA protegido por um invólucro com glicoproteínas de superfície, através das quais se ligam aos recetores das células-alvo, que lhe conferem uma forma semelhante a uma coroa. Estes vírus possuem envelope, forma esférica, com uma dimensão entre 120-160 nm de diâmetro. No que diz respeito ao genoma viral, este é linear, não segmentado, de cadeia simples e no sentido positivo com 27-32 kb de tamanho, sendo por isso, o maior genoma de todos os vírus em RNA (5,6).

O RNA genómico apresenta duas grandes estruturas de leitura aberta (ORFs do inglês *open reading frame*; ORF1a e ORF1b), que ocupam dois terços de todo o comprimento do genoma (Figura 2.3), e codificam duas poliproteínas 1a e 1b (pp1a, pp1b). Estas poliproteínas, por sua vez, codificam 15-16 proteínas não estruturais (NSPs do inglês *non-structural proteins*) necessárias para a formação do complexo de replicação e transcrição viral (RTC) (21,22). A NSP3 codifica a protease semelhante a papaína ou *papain-like protease* (PL^{pro}) e a NSP5 codifica a protease semelhante a 3-quimiotripsina ou *3-chymotrypsin-like protease* (3 CL^{pro}), cuja função destas proteases consiste na clivagem de polipeptídeos e também no bloqueio da resposta imune inata do hospedeiro (9,21,22). Além disso, existem outras ORFs responsáveis pela codificação das proteínas estruturais: a glicoproteína *spike* (S) é responsável por reconhecer os recetores da célula hospedeira; a proteína de membrana (M) pela formação do virião; a proteína do envelope (E) é responsável pela montagem e libertação dos viriões; e por último, a proteína do nucleocapsídeo (N) que está envolvida no empacotamento do genoma de RNA. Existem, ainda, outras proteínas acessórias, codificadas por diferentes genes, que são específicas para o SARS-CoV-2 (22).

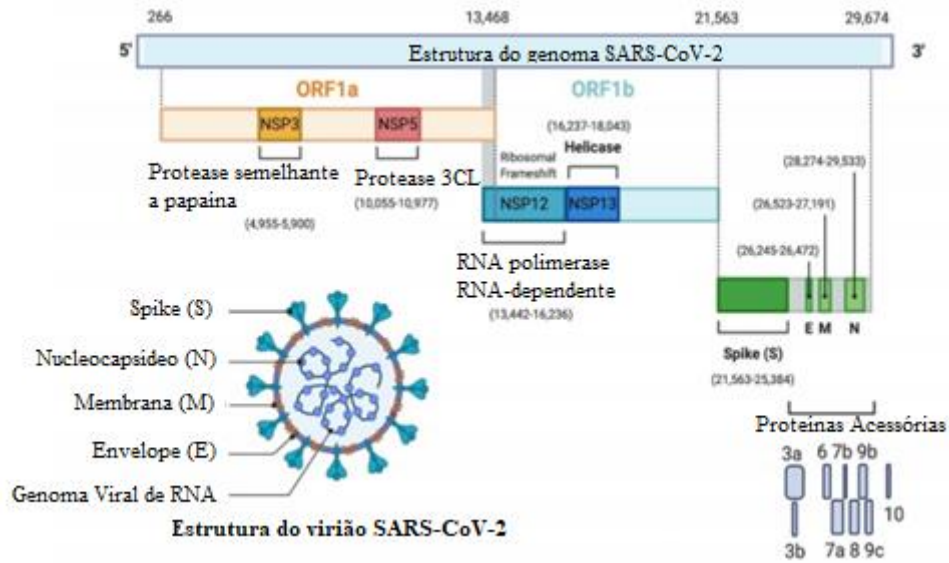


Figura 2.3. Organização esquemática do genoma do coronavírus. ORF: estrutura de leitura aberta; NSP: proteínas não estruturais. Adaptado de (22).

2.8. Replicação do vírus

O coronavírus SARS-CoV-2 infeta as células epiteliais brônquicas, pneumócitos e células do trato respiratório superior (21). Esta infecção ocorre quando a proteína *spike* do SARS-CoV-2 se liga por meio de um recetor específico presente na superfície celular do hospedeiro, a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2 do inglês *angiotensin-converting enzyme 2*). Para favorecer a fusão e a entrada viral, após a ligação da glicoproteína S à ACE2, esta proteína é clivada proteoliticamente pela protease transmembranar serina 2 (TMPRSS2) em duas subunidades, S1 facilita a ligação viral através do seu domínio de ligação ao recetor e S2 medeia a fusão das membranas virais e celulares, levando à entrada do vírus no hospedeiro por endocitose (22,23).

Após a entrada do vírus na célula hospedeira, o RNA viral é libertado no citoplasma ficando livre para ser transcrito e replicado pela RNA polimerase RNA-dependente (RdRp) (Figura 2.4). Esta replicase viral realiza a cópia da cadeia de RNA viral positiva (+) originando a cadeia negativa (-) que, por sua vez, serve de modelo para alguns RNAs mensageiros (mRNAs) subgenômicos e para a replicação do genoma viral. A tradução dos mRNAs subgenômicos origina a síntese de várias proteínas virais estruturais e enzimas. Por fim, ocorre a montagem do virião através da passagem das

proteínas pelo retículo endoplasmático (RE) e complexo de Golgi para que passem para as vesículas de Golgi, sendo posteriormente transportados para a membrana plasmática e libertados por exocitose (21,22,24).

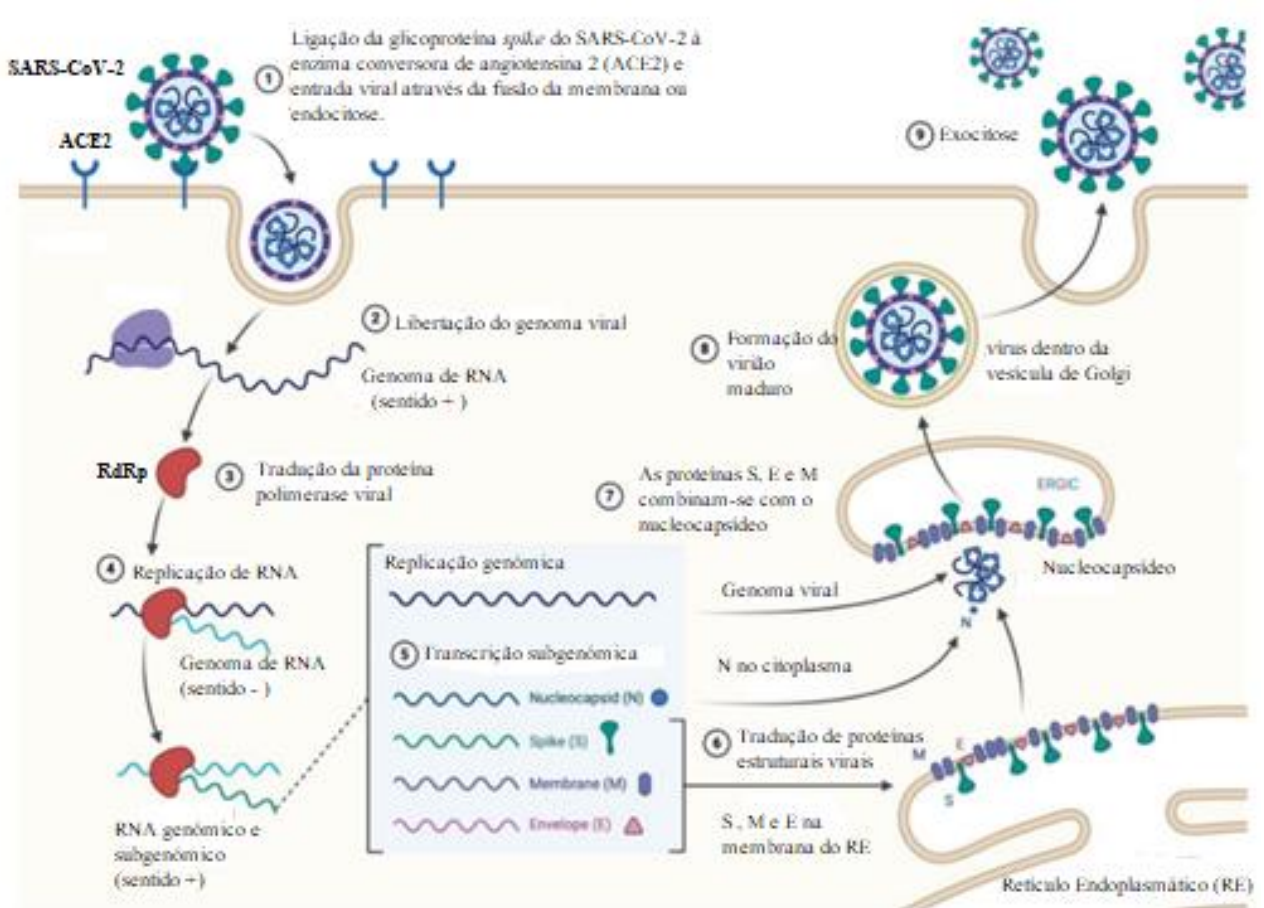


Figura 2.4. Ciclo replicativo do SARS-CoV-2 nas células hospedeiras. ACE2: enzima conversora de angiotensina 2; RdRp: RNA polimerase RNA – dependente. Adaptado de (22).

2.9. Resposta Imune

As infeções virais induzem no hospedeiro respostas imunes inatas e adquiridas. A imunidade inata é desencadeada logo após a infeção, consistindo numa resposta rápida contra uma grande variedade de agentes patogénicos. No entanto, não confere ao hospedeiro uma imunidade duradoura, nem específica. Em contrapartida, a imunidade adquirida consiste numa resposta específica, com produção de anticorpos e células T específicos para o agente patogénico, tem um início mais tardio e contribui para o combate a infeções posteriores pelo mesmo agente (25).

A infecção por SARS-CoV-2 pode expressar-se clinicamente de diversas formas: desde assintomática, até formas graves e fatais de COVID 19 que exigem cuidados hospitalares. Na maioria dos casos, após o período de incubação, o hospedeiro desenvolve alguns sintomas, sendo por esta altura que se dá a resposta imune de forma a resistir e eliminar a infecção, seguindo-se de uma fase de convalescença e cura. Esta última fase está associada ao desenvolvimento de anticorpos neutralizantes cuja função é evitar reinfeções (6,20). Contudo, caso a resposta imunológica inicial não seja eficaz, segue-se uma disseminação da infecção para os pulmões, onde o vírus infeta as células epiteliais das mucosas alveolares. Por conseguinte, instala-se uma pneumonia, que é uma forma moderada a grave de COVID-19 (6,20).

O processo de replicação viral leva à destruição das células epiteliais e induz um aumento da resposta imune do hospedeiro contra a infecção viral através da ativação de monócitos, macrófagos e células dendríticas, resultando na libertação de mediadores pró-inflamatórios, como o fator de necrose tumoral (TNF)- α , interleucina 6 (IL-6), interferão (IFN) entre outros. Estes mediadores amplificam a resposta pró-inflamatória levando à “tempestade de citocinas”: em condições fisiológicas, as citocinas regulam a resposta inflamatória e mantêm o equilíbrio, mas em condições patológicas pode ocorrer um descontrolo da resposta pró-inflamatória, sendo libertada uma quantidade excessiva de mediadores o que, por sua vez, pode provocar danos e inflamação tecidulares, caracterizando-se, assim, como as formas graves de COVID-19, ou ainda provocar falência de múltiplos órgãos, levando à morte (6,26).

A variedade de mecanismos patogénicos ao longo da infecção obriga a que a intervenção direcionada à inibição da replicação viral seja o mais precoce possível. Quanto mais tardia for, menor será o seu efeito perante as formas severas de COVID-19 (25).

3. DESENVOLVIMENTO DE VACINAS

As vacinas constituem o método mais eficaz para prevenção das doenças infecciosas, na medida em que representam uma estratégia mais económica e conduzem a uma menor morbidade e mortalidade, comparativamente aos tratamentos. Apesar de nas últimas duas décadas, terem surgido três coronavírus humanos ameaçando a saúde global, quando surgiu a infeção pelo novo coronavírus não existia ainda vacinas aprovadas para os coronavírus humanos. Desta forma, há esforços contínuos para desenvolver uma vacina eficaz contra a infeção por SARS-CoV-2 (27,28).

A descoberta da sequência genómica deste vírus possibilitou o desenvolvimento e aplicação de novas tecnologias na produção de vacinas eficazes contra o novo coronavírus. A estatística diz-nos que em cada cinco vacinas que chegam aos ensaios clínicos, apenas uma é bem sucedida. Desta forma, quanto maior for o número de vacinas em desenvolvimento, maior será a probabilidade de, pelo menos, uma ser eficaz e segura para a população (10,28,29).

3.1. Tipos de vacinas

As estratégias abordadas no desenvolvimento de vacinas são várias: vacinas inativadas, vivas atenuadas, vetor viral, subunidade, ácido desoxirribonucleico (DNA do inglês *deoxyribonucleic acid*) e mRNA (Tabela 3.1).

3.1.1. Vacinas inativadas

As vacinas inativadas são compostas pelo microrganismo inativado através do uso de agentes químicos, calor ou radiação. Estas vacinas têm como vantagem a ausência total do poder infeccioso do agente, uma vez que o vírus perdeu a capacidade de se multiplicar no organismo vacinado. Porém, as suas características imunológicas mantêm-se, isto é, conferem proteção contra a doença, sem a provocar no hospedeiro (30,31).

A desvantagem está no facto da vacina induzir uma resposta imunitária menor, havendo necessidade de associar adjuvantes ou proteínas transportadoras ou de administração múltipla (mais do que uma dose), por forma a melhorar a resposta imunitária (30,31).

Dada a urgência no desenvolvimento de vacinas eficazes para o SARS-CoV-2, as vacinas inativadas podem constituir uma boa alternativa, por já se ter alguma experiência com vacinas deste tipo na prevenção de outras doenças virais (32).

3.1.2. Vacinas vivas atenuadas

Uma vacina viva atenuada utiliza o vírus vivo. Todavia, o seu poder infeccioso está enfraquecido devido à exclusão ou mutação da parte patogénica do genoma viral (31). O vírus vivo atenuado mantém a sua capacidade de multiplicação no organismo do hospedeiro vacinado, sem causar doença, e induz uma resposta imunitária adequada e mais duradoura. Contudo, estas vacinas apresentam algum risco em pacientes imunocomprometidos (30,31).

3.1.3. Vacinas de vetor viral

As vacinas de vetor viral consistem na introdução de material genético viral no hospedeiro, com vista à produção de proteínas específicas capazes de desencadear uma resposta imunológica, através de um vírus seguro ou vetor (29,32).

3.1.4. Vacinas de subunidade

As vacinas de subunidades são constituídas apenas por partes muito específicas (as subunidades) de um vírus, cujo sistema imunológico precisa reconhecer. Essas subunidades podem ser proteínas. Este tipo de vacinas é mais fácil de produzir e constitui uma alternativa mais segura, comparativamente às vacinas tradicionais. Contudo, não se consegue garantir a memória imunológica, sendo necessário utilizar adjuvantes para aumentar a resposta imunológica (28,29,32).

3.1.5. Vacinas de DNA

As vacinas de DNA são compostas por genes ou fragmentos do microrganismo, que codificam um ou mais antígenos virais utilizando plasmídeos de DNA como vetor.

Estas vacinas são mais estáveis e de fácil administração quando comparadas com as vacinas de mRNA, no entanto, quando ocorre a integração do vetor no genoma do hospedeiro existe a possibilidade de ocorrerem mutações (28).

3.1.6. Vacinas de mRNA

As vacinas de mRNA não precisam de atingir o núcleo da célula, pois já incluem mRNA capaz de codificar um antígeno da proteína em específico, tendo isto como vantagem em relação às vacinas de DNA. Comparativamente às vacinas tradicionais, estas vacinas são rápidas de produzir e de segura administração (28,33).

Tabela 3.1. Quadro resumo das principais vantagens e desvantagens de cada tipo de vacinas adaptado de (30).

Tipo de Vacina	Vantagem	Desvantagem
<i>Vacina Inativada</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Incapacidade do microrganismo se multiplicar; - Ausência total do poder infeccioso do agente. 	<ul style="list-style-type: none"> - Resposta imunitária induzida é menor; - Requer associação de adjuvantes, proteínas transportadoras ou de administração de mais doses.
<i>Vacina Viva Atenuada</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Poder infeccioso enfraquecido; - Imunidade mais duradoura; - Geralmente, basta administrar uma dose. 	<ul style="list-style-type: none"> - Perfil de reações adversas geralmente mais presente; - Risco de o microrganismo voltar para uma forma patogênica, por ocorrência de mutação.
<i>Vacina de Vetor Viral</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Introdução do material genético viral no hospedeiro com recurso a um vírus ou vetor. 	<ul style="list-style-type: none"> - Sistema imunitário pode criar uma defesa contra o vetor utilizado; - Processo de produção muito complexo e dispendioso.
<i>Vacina de Subunidade</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Utilização de partes específicas de um vírus para serem reconhecidos pelo sistema imunitário; - Fácil produção; - Alternativa segura; 	<ul style="list-style-type: none"> - Reduzida memória imunológica; - Requer associação de adjuvantes.
<i>Vacina de DNA</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Utilização de genes ou fragmentos do microrganismo que codificam o antígeno viral. 	<ul style="list-style-type: none"> - Probabilidade de ocorrer mutações.
<i>Vacina de mRNA</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Não requer atingir o núcleo da célula, já é composta por mRNA capaz de codificar um antígeno da proteína em específico; - Produção mais rápida 	<ul style="list-style-type: none"> - Requer cuidados no transporte e armazenamento.

3.2. Vacinas COVID-19 autorizadas e recomendadas para uso na União Europeia

3.2.1. Vacina COMIRNATY®

A vacina COMIRNATY® (BNT162b2), desenvolvida pela BioNTech e Pfizer, trata-se de uma vacina de mRNA autorizada para administração em indivíduos com 5 anos ou mais para prevenir a doença COVID-19. Esta vacina é administrada em duas doses com um intervalo de 21 dias, sendo para os indivíduos com 12 anos ou mais administrado 30 microgramas por dose (0,3 ml) e nas crianças dos 5 aos 11 anos administrado 10 microgramas por dose (0,2 ml). É possível administrar-se uma terceira dose (dose reforço) a pessoas com 5 anos ou mais, cujo sistema imunitário está comprometido gravemente, pelo menos, 28 dias após a segunda dose. Podendo-se também administrar uma dose reforço a pessoas com 18 anos ou mais, pelo menos, 6 meses após a segunda dose (34).

A função do mRNA consiste na orientação da síntese da proteína *spike*, uma vez que esta proteína é necessária para o vírus SARS-CoV-2 entrar nas células do hospedeiro. Assim, quando esta vacina é administrada ocorre a produção da proteína *spike* que, por sua vez, é reconhecida pelo sistema imunológico como um corpo estranho, despoletando a produção de anticorpos e ativação das células T, por forma a eliminá-la. Posteriormente, se a pessoa vacinada entrar em contacto com o vírus SARS-CoV-2, o seu sistema imunológico reconhecerá a proteína viral e estará pronto para defender o organismo (34).

Após a administração da vacina, a permanência do mRNA no organismo do hospedeiro é limitada. Porém, o seu sistema imunológico terá “memória” para ativar a resposta imune face ao contacto com o vírus (34).

3.2.2. Vacina Spikevax

A vacina Spikevax (mRNA-1273), conhecida anteriormente como vacina MODERNA, trata-se também de uma vacina de mRNA, cujo mecanismo de ação é igual ao que foi referido no tópico anterior. Esta vacina, por sua vez, é administrada em duas doses com um intervalo de 28 dias e em pessoas com 12 anos ou mais. Cada dose (0,5ml) administrada contém 100 microgramas de mRNA. Nesta vacina também se pode administrar uma dose reforço a indivíduos com sistema imunológico comprometido

grave, pelo menos 28 dias a contar da segunda dose. Sendo possível administrar a pessoas com 18 anos ou mais, pelo menos, após 6 meses da segunda dose como um reforço adicional (35,36).

Esta vacina em comparação com a anterior, para além de apresentar diferença na dose administrada, possui também uma distinção face ao seu armazenamento, uma vez que esta vacina pode ser conservada a -25°C e -15°C até sete meses, enquanto a vacina da Pfizer tem de ser conservada a temperaturas de congelação, nomeadamente entre -90°C e -60°C durante nove meses, podendo dificultar o transporte dessa vacina para determinadas regiões do mundo (36,37).

3.2.3. Vacina Janssen

A vacina Janssen de Johnson & Johnson é composta por um vetor recombinante, não replicante de adenovírus humano tipo 26, modificado para conter o gene necessário à produção da proteína S do SARS-CoV-2. A vacina é administrada numa dose única a pessoas com 18 anos ou mais (38,39).

A *European Medicines Agency* (EMA), a meados de novembro, começou a avaliar um pedido de uso relativo à administração de uma dose de reforço, pelo menos dois meses após a primeira dose, em indivíduos com 18 anos ou mais (40).

O mecanismo de ação desta vacina consiste no transporte do gene do SARS-CoV-2 através do vetor adenovírus para as células do hospedeiro que foi vacinado. As suas células utilizam esse gene e produzem a proteína S, que é reconhecido pelo sistema imunitário da pessoa como um antigénio estranho, ocorrendo como nas outras vacinas a produção de anticorpos e ativação das células T para combater esta proteína. É de salientar, que o adenovírus usado na composição da vacina não tem capacidade para se replicar e causar doença no hospedeiro (38).

3.2.4. Vacina Vaxzevira

A vacina Vaxzevira, ou comumente conhecida como Vacina AstraZeneca, é constituída por um único vetor recombinante de adenovírus de chimpanzé não replicante (ChAdOx1) que codifica a proteína S do vírus SARS-CoV-2. Esta vacina é administrada em duas doses, devendo a segunda dose administrar-se entre 4 a 12 semanas após a primeira dose (41).

Após a administração da vacina, ocorre a expressão da proteína S do SARS-CoV-2 que desencadeia as respostas de células T e B que produzem anticorpos neutralizantes, podendo contribuir para a proteção contra a doença COVID-19 (41).

4. TRATAMENTO

Até hoje, continua a não existir nenhuma terapia antiviral específica disponível para tratar as lesões respiratórias provocadas pelo coronavírus. A maioria das estratégias terapêuticas estudadas para o tratamento da COVID-19 consistem no reaproveitamento de medicamentos, que foram aprovados e usados no combate de outras doenças infecciosas, através de ensaios clínicos que se podem consultar em [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov). O reaproveitamento de agentes terapêuticos acaba por ser uma estratégia mais eficaz e económica (10,42).

O tratamento para COVID-19 passa por dois momentos, ou seja, se o indivíduo infetado com SARS-CoV-2 se encontrar num estado inicial da infeção, a abordagem terapêutica mais benéfica passa por combater diretamente o novo coronavírus através de fármacos cujo alvo seja qualquer uma das enzimas necessárias na replicação viral ou interferindo com a entrada viral nas células hospedeiras. Por outro lado, se o doente já se encontrar num estado mais avançado da doença, uma vez que ocorreu um descontrolo na resposta imune face à infeção pelo SARS-CoV-2, a terapêutica mais benéfica passa pelo uso de imunossuppressores ou anti-inflamatórios (10,43,44).

Tendo a infeção por SARS-CoV-2 é necessário decidir, caso a caso, quais os doentes que não se justifica intervenção médica ou quais requerem hospitalização. Relativamente aos doentes com COVID-19 ligeira as recomendações passam pelo tratamento de sintomas com recurso a antipiréticos, analgésicos ou antitússicos de venda livre para a febre, cefaleia, mialgias e tosse (44).

Segundo as *guidelines* americanas definidas pelo *National Institutes of Health* (NIH), recomenda-se o uso de anticorpos monoclonais anti-SARS-CoV-2 a doentes com COVID-19 leve a moderada que não estão hospitalizados, ou seja, não estão em internamento, mas que têm alto risco de progredir para doença grave. Esta recomendação consiste na administração de bamlanivimab e etesevimab via infusão intravenosa (IV) ou casirivimab com indevimab por infusão IV ou por injeção via subcutânea (SC), onde só se opta pela administração via SC se a via infusão IV não for possível (Tabela 4.1). Nestes pacientes, não se recomenda o uso de dexametasona ou outros glucocorticoides sistémicos (44).

Relativamente a doentes hospitalizados com COVID-19 grave e que necessitam de oxigénio suplementar, o remdesivir é o único medicamento aprovado atualmente pelo *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento desta doença. Assim que os pacientes recuperem e estejam habilitados a receber alta hospitalar ou não precisem de oxigénio é recomendado parar a terapêutica com remdesivir (44).

Tabela 4.1. *Recomendações segundo as guidelines americanas definidas pelo NIH no tratamento de doentes hospitalizados ou não hospitalizados com COVID-19 adaptado de (44).*

<i>Situação do Paciente</i>	<i>Recomendações</i>
<i>Não requer hospitalização ou oxigénio suplementar</i>	Bamlanivimab 700 mg + etesevimab 1400 mg infusão IV.
	Casirivimab 600 mg + imdevimab 600 mg infusão IV ou injeção via SC.
	Sotrovimab 500 mg infusão IV.
	<u>Não se recomenda</u> o uso de dexametasona ou outro glucocorticoide sistémico.
<i>Hospitalizado e requer oxigénio suplementar</i>	Remdesivir (por exemplo, em pacientes que requerem oxigénio suplementar mínimo).
	Dexametasona + remdesivir (por exemplo, em pacientes que necessitam de quantidades crescentes de oxigénio suplementar).
	Dexametasona (quando a combinação com remdesivir não pode ser usada ou não está disponível).

4.1. Medicamentos antivirais aprovados ou em avaliação para o tratamento de COVID-19

4.1.1. Remdesivir

Remdesivir é um pró-fármaco e análogo da adenosina. A sua atividade antiviral consiste na inibição da síntese de RNA viral, através da ligação deste medicamento à RdRp, pondo fim à transcrição do genoma viral antecipadamente (27).

Nos Estados Unidos da América do Norte (EUA), administrou-se este medicamento antiviral ao primeiro doente identificado com a infeção por SARS-CoV-2 (27,42).

Remdesivir foi estudado em vários ensaios clínicos para o tratamento de COVID-19, sendo nestes estudos que as recomendações da *guideline* de NIH se basearam e permitiram a aprovação da FDA para o uso do remdesivir para o tratamento da COVID-19 em pacientes adultos que estejam hospitalizados (44).

4.1.2. Cloroquina ou Hidroxicloroquina e/ou Azitromicina

A FDA não recomenda o uso de cloroquina ou hidroxicloroquina e/ou azitromicina para o tratamento de COVID-19 (44).

Tanto a cloroquina como a hidroxicloroquina podem ser utilizadas para a prevenção ou tratamento da malária. Ambos os medicamentos inibem a infeção através do aumento do pH endossómico que é necessário na fusão entre o vírus e a membrana da célula hospedeira (27,42).

A azitromicina é um antibiótico com propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias. Num estudo *in vitro*, usou-se azitromicina em combinação com hidroxicloroquina, demonstrando-se um efeito sinérgico no combate a SARS-CoV-2. Contudo, não há dados suficientes para tirar conclusões sobre o benefício desta combinação na redução do risco da doença COVID-19. Tanto a hidroxicloroquina como a azitromicina prolongam o intervalo QT o que pode ser muito perigoso em doentes com COVID-19 (25,44).

4.1.3. Lopinavir e ritonavir

Lopinavir e ritonavir são inibidores de proteases, isto é, inibem as proteases de SARS-CoV-2 responsáveis pela clivagem proteolítica da replicação viral. A combinação oral destes agentes foi aprovada pela FDA para o tratamento do vírus da imunodeficiência humana (HIV) (27,45).

Lopinavir e Ritonavir foram estudados em pacientes com COVID-19 e os ensaios clínicos não demonstraram benefícios clínicos no uso destes inibidores de proteases. Desta forma, as *guidelines* referidas não recomendam o uso de lopinavir e ritonavir para o tratamento de COVID-19 (44).

4.1.4. Anticorpos monoclonais anti-SARS-CoV-2

Os anticorpos monoclonais anti-SARS-CoV-2 têm como alvo terapêutico a proteína S, demonstrando assim, um benefício clínico no tratamento da COVID-19.

Como abordado anteriormente, três destes agentes terapêuticos receberam autorizações de uso de emergência da FDA para o tratamento de COVID-19 leve a moderada em doentes não hospitalizados com a infecção por SARS-CoV-2 que apresentam elevado risco de agravar o seu estado clínico (44).

- Bamlanivimab + etesevimab
- Casirvimab + imdevimab
- Sotrovimab

4.1.5. Inibidores de Interleucina - 1

Anakinra é um antagonista do recetor de IL-1 humano recombinante usado na artrite reumatoide. A sua ação consiste na inibição das citocinas pró-inflamatórias IL-1 α e IL-1 β , bloqueando assim a sinalização de IL-1 (25).

Não há evidência científica suficiente relativamente à eficácia e segurança de anakinra no tratamento de COVID-19 que permitam recomendar a favor ou contra o uso deste agente para o tratamento de COVID-19 (25,44).

4.1.6. Inibidores de Interleucina – 6

Os anticorpos monoclonais direcionados contra as principais citocinas inflamatórias constituem outra classe potencial de terapêuticas adjuvantes para o tratamento da COVID-19 (45).

A FDA aprovou o uso de dois exemplos de inibidores da IL-6, nomeadamente sarilumab e tocilizumab (anticorpos monoclonais do recetor anti-IL-6) em doentes hospitalizados com COVID-19 que apresentam inflamação sistémica e que requerem oxigénio suplementar, seja por meio de alto fluxo ou ventilação não invasiva ou por ventilação mecânica invasiva, não sendo assim, recomendado o uso destes anticorpos monoclonais fora de ensaios clínicos (44).

4.1.7. Molnupiravir

Uma vez que as alternativas terapêuticas utilizadas até ao momento na COVID-19 são fármacos administrados por via IV ou por injeção, significa que um indivíduo só tem acesso a essas mesmas terapias em ambiente hospitalar. Desta forma, é crucial desenvolver um agente antiviral oral (46).

Face a isto, a empresa farmacêutica Merck & Co. em parceria com Ridgeback Biotherapeutics, anunciaram o desenvolvimento de um medicamento antiviral oral, que por sua vez, está a ser avaliado pela EMA para autorizar a introdução no mercado (47).

Molnupiravir é um agente antiviral oral que atua na enzima RdRp, tal como o remdesivir. No entanto, remdesivir interrompe precocemente a cadeia de RNA viral, enquanto molnupiravir possui um mecanismo de ação diferente. Este fármaco impede que o vírus se multiplique no organismo através da introdução de mutações no RNA viral durante a replicação. Estas mutações passarão o limite tolerado biologicamente, tornando-se assim letal para o vírus, provocando a morte do mesmo (46,47). Contudo, existe a hipótese dessas mutações também serem produzidas na célula hospedeira, ou seja, existir a possibilidade de se incorporar ao DNA, levanto questões relativas à segurança deste medicamento. No entanto, para que isso não seja tão provável de ocorrer propõe-se a utilização do molnupiravir duas vezes ao dia por cinco dias (46).

Os dados disponibilizados até agora demonstraram que o molnupiravir foi bem tolerado e considerado seguro, reduzindo o risco de hospitalização ou morte em aproximadamente 50%, em adultos com COVID-19 leve ou moderado não hospitalizados com risco de evoluir para um estado grave da doença (46,48).

4.1.8. Paxlovid

A Pfizer desenvolveu um agente antiviral oral para combater a COVID-19 que está a ser revisto pela EMA para autorizar o seu pedido de autorização de introdução no mercado (49).

O paxlovid é uma combinação do antiviral experimental PF-07321332 da Pfizer e uma dose baixa de ritonavir. Este agente antiviral oral demonstrou interromper a replicação de SARS-CoV-2 no hospedeiro, através da ligação deste à enzima 3CL^{pro} (50).

Os dados demonstraram que o paxlovid tem capacidade de reduzir o risco de hospitalização ou morte quando se inicia o tratamento três ou cinco dias após o início dos sintomas em adultos com COVID-19 leve ou moderado que não estão hospitalizados, mas apresentam um elevado risco de agravar a doença (49,50).

A vantagem deste fármaco assim como do molnupiravir é que como ambos são administrados por via oral, podem ser administrados em casa quando o paciente se encontra na fase inicial da infeção, permitindo assim que pessoas com casos leves ou moderados de COVID-19 sejam tratados mais cedo, evitando a progressão da doença e ajudando a evitar os cuidados hospitalares.

5. PRODUTOS NATURAIS

Os efeitos terapêuticos de fontes naturais, como é o caso das plantas, foram reconhecidos há muitos anos e desde então têm sido utilizadas no combate a várias doenças, uma vez que os compostos naturais apresentam atividade farmacológica, nomeadamente, atividade antibacteriana, antiviral, anti-inflamatória, antioxidante, antienvelhecimento, entre outras (51). Assim, desde o surto de COVID-19, têm sido estudadas várias plantas medicinais com resultados promissores na inibição ou interrupção da proliferação deste agente infeccioso (11,52).

Os compostos naturais podem ser uma alternativa aos medicamentos convencionais e também podem exercer atividade anti-SARS-CoV-2 atuando nas diferentes etapas do ciclo de vida do vírus e tendo em conta as diferentes proteínas virais e as do hospedeiro, como a PL^{pro}, 3CL^{pro}, RdRp, helicase, glicoproteína S, recetor ACE2 e TMPRSS2 (11,51). Para além disto, outra estratégia importante na prevenção e controlo desta infeção consiste na estimulação do sistema imunológico. Assim, quando o vírus se encontra na fase de incubação, a resposta imune terá de ser eficiente para eliminá-lo evitando a sua replicação nas células hospedeiras (52).

5.1. Inibição da ligação da proteína S ao recetor ACE2

A infeção viral inicia-se com a fixação do vírus às células hospedeiras oportunas. Esta fixação ocorre através da interação entre a glicoproteína S do vírus SARS-CoV-2 ao recetor de superfície ACE2 da célula hospedeira. Desta forma, a glicoproteína S tem um papel fundamental na ligação, fixação e entrada viral, sendo também responsável pela progressão da doença, por conseguinte a glicoproteína S é dada como um alvo potencial para o fármaco (9,52,53).

Várias experiências têm sido realizadas com o objetivo de avaliar a atividade inibitória e os efeitos das plantas medicinais sobre a proteína S e a interação com o recetor ACE2 (9). Exemplos de compostos obtidos de diversas plantas selecionadas destacam-se a emodina, obtida de *Rheum officinale* Baill. e *Polygonum multiflorum*, baicalina obtida de *Scutellaria baicalensis* Georgi e luteolina obtida de *Veronica thymoides* P.H.Davis, que demonstraram inibir o domínio S1 da ligação da proteína S ao recetor ACE2 (52,53).

Para além destes compostos naturais referidos, menciona-se também a planta *Curcuma longa* L., ou mais usualmente conhecida como açafrão, pertencente à família *Zingiberaceae*. O açafrão apresenta diversos benefícios terapêuticos contra várias doenças como fibrose pulmonar, problemas respiratórios graves, infeções pulmonares, doenças cardiovasculares, doenças metabólicas e doenças hepáticas (54,55).

A curcumina, composto polifenólico natural, trata-se do principal composto bioativo presente no rizoma de *Curcuma longa* L. e confere-lhe as propriedades farmacológicas. Este composto bioativo demonstrou possuir propriedades antifibróticas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e imunomoduladoras (26,54). Este composto natural é sugerido como um candidato a agente terapêutico para o tratamento de SARS-CoV-2, pois a curcumina consegue modificar a estrutura da proteína de superfície dos vírus, bloqueando assim a entrada do vírus e a proliferação do mesmo. Através de resultados de estudos de *docking* molecular demonstrou-se que a curcumina se liga aos recetores alvo (proteases de SARS-CoV-2, glicoproteína S e recetor ACE2), podendo inibir a entrada do vírus (55,56).

Outra abordagem terapêutica promissora consiste no uso de inibidores de TMPRSS2, uma vez que a protease também está envolvida na entrada do vírus, pois cliva proteoliticamente a glicoproteína S em duas subunidades permitindo a ligação e a fusão do vírus à célula hospedeira (11). Verificou-se que uma formulação padronizada de flavonoides composta por luteolina, quercetina e kaempferol possuíam a capacidade de suprimir a expressão de TMPRSS2. O estudo realizado demonstrou que, mesmo em baixas concentrações, os efeitos biológicos destes três flavonoides exibiam um efeito sinérgico. Contudo, a eficácia e a segurança destes compostos no tratamento da COVID-19 ainda são insuficientes (11).

5.2. Inibição da síntese e replicação de RNA

No combate à COVID-19 é apropriado encontrar potenciais moléculas bioativas naturais com capacidade de inibição das principais enzimas necessárias à replicação do SARS-CoV-2, nomeadamente a 3CL^{pro} e a PL^{pro}, para acelerar o desenvolvimento de medicamentos eficazes contra SARS-CoV-2. Contudo, é importante encontrar também

substâncias que inibam outras enzimas essenciais nesta replicação, como a helicase e RdRp (53).

5.2.1. Inibição da protease semelhante a 3-quimiotripsina (3CL^{pro})

A enzima 3CL^{pro} é bastante importante na tradução do genoma viral através do processo proteolítico das poliproteínas, sendo por este motivo também designada como a protease principal (M^{pro}), assim dada a sua importância na replicação de SARS-CoV-2 várias têm sido as plantas estudadas de forma a encontrar compostos com capacidade de inibição a esta enzima, podendo surgir como candidatos para a prevenção ou tratamento da COVID-19 (52).

Flavonoides como apigenina, herbacetina, pectolarina, puerarina, rhoifolina e quercetina demonstraram inibir a atividade da enzima 3CL^{pro} de SARS-CoV-2. A apigenina é um composto bioativo presente em muitas espécies vegetais, como por exemplo em *Matricaria recutita* L. e para além de atividade antiviral possui propriedades antiplaquetárias e anticancerígenas. A herbacetina (flavonol), obtida de *Meconopsis paniculata* (D. Don) Prain, tem demonstrado potencial no tratamento da obesidade e perda óssea. Pectolarina (flavona) proveniente de *Cirsium* spp. possui propriedades anti-inflamatória e analgésica. A quercetina (flavonol) obtida a partir de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze também possui várias atividades farmacológicas, incluindo atividade anti-inflamatória e anticancerígena (52).

Uma das plantas chinesas bastante usada para prevenir SARS-CoV durante o surto desta doença foi *Isatis indigotica* Fortune. Os principais constituintes da raiz de *I. indigotica* são alcaloides, sendo indigo (alcaloide) e indirubina (alcaloide) os compostos identificados como promissores na inibição da protease 3CL^{pro} de SARS-CoV (57).

Destacam-se ainda outros produtos naturais, nomeadamente o alho, o alcaçuz e os produtos de abelha na inibição da enzima 3CL^{pro} de SARS-CoV-2.

Allium sativum L., alho, pertence à família *Liliaceae* e trata-se de uma planta que foi bastante utilizada, durante séculos, como um remédio tradicional em várias condições patológicas (26,58). Deste modo, ao longo dos anos tem se vindo a estudar bastante este produto natural por possuir diversas propriedades biológicas, tais como propriedades

antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, antivirais, protetoras cardiovasculares e imunomoduladoras (58).

O alho tem na sua composição compostos de enxofre e aminoácidos não voláteis, que lhes conferem as propriedades medicinais. Estes compostos bioativos são aliina, alicina, *S*-alilcisteína (SAC), ajoenos, 1,2-vinilditina, alixina e sulfitos, tais como dialil-, metilalil- e dipropil mono-, di-, tri- e tetra-sulfitos, que são formados após a decomposição de tiosulfatos (59). Para além destes compostos, o alho é rico em vitaminas (complexo B, vitamina A e C), antioxidantes, minerais, flavonoides, saponinas e proteínas (59).

Através de uma abordagem de *docking* molecular e num estudo *in silico* os compostos bioativos do alho foram analisados. O composto aliina demonstrou melhor eficácia contra a proteína alvo (M^{pro}), podendo ser então uma boa alternativa para ser usada como agente terapêutico para o tratamento de COVID-19 (60,61).

O estudo *in silico* é uma abordagem baseada no encaixe molecular, identificando as interações não covalentes entre a proteína recetora e as moléculas do ligante. Desta forma, a ferramenta computacional analisa o modo de interação recetor-ligante para o local de ligação estabelecido e a afinidade ou força da associação entre ligante e proteína é estabelecida através da energia de ligação. Por conseguinte, seleciona-se o composto baseando-se na menor energia de ligação contra a proteína recetora específica (60). Esta análise de *docking* molecular mostrou que de seis compostos bioativos provenientes do alho, apenas o composto aliina revelou ser o melhor agente com capacidade inibitória da enzima, uma vez que apresentou menor energia de ligação (-5,24 Kcal/mol), sugerindo que se possa tratar de um potencial agente terapêutico antiviral, cujos efeitos colaterais serão mínimos na prevenção de COVID-19 (60). Contudo, são necessários realizar mais estudos experimentais *in vitro* e *in vivo* para confirmar a ação antiviral deste composto bioativo no tratamento desta doença.

Glycyrrhiza glabra L. é uma espécie pertencente à família *Fabaceae* e é designado comumente como alcaçuz. A raiz desta planta contém várias substâncias químicas, no entanto, a que é de maior interesse é a glicirrizina (ou ácido glicirrízico), uma saponina triterpenóide, que é bastante estudada em virtude das suas propriedades farmacológicas (26). Esta planta é muito utilizada no tratamento de doenças respiratórias e na tosse, para

além de efeitos expetorantes e antitússicos, também possui propriedades anti-inflamatórias, hepatoprotetoras, anticancerígenas e antivirais (26,62).

O alcaçuz, para além da glicirrizina, tem ainda na sua composição flavonoides, cumarinas e outros compostos fenólicos (63).

A glicirrizina é um potente agente anti-inflamatório pela capacidade de suprimir os níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, e TNF- α) resultantes de uma resposta imune excessiva à lesão pulmonar aguda induzida por lipopolissacarídeo num modelo animal (26,64). Esta resposta imune excessiva é semelhante à resposta que ocorre contra a COVID-19, e por este motivo, a glicirrizina tem potencial para ser usado na melhoria dos danos pulmonares e inflamação associados à infeção, devido os seus efeitos anti-inflamatórios (26,63).

Relativamente à sua atividade antiviral e à possibilidade de se utilizar o alcaçuz no combate à COVID-19, existem estudos que demonstram que a glicirrizina inibe a ligação do vírus às células-alvo, para além de ser benéfica no controlo da replicação viral (65). Num estudo de *docking* molecular é possível observar que a glicirrizina, liquiritigenina (flavanona) e glabridina (isoflavano) (compostos bioativos de *G. glabra* L.) são capazes de inibir a atividade enzimática de M^{pro} ligando-se fortemente ao seu sítio ativo (26). Neste estudo, estes compostos bioativos foram comparados a fármacos de controlo, nomeadamente ao lopinavir e ritonavir, sendo demonstrado que a glicirrizina tem a energia de afinidade de ligação negativa mais elevada do que as moléculas de controlo com -8.0 Kcal/mol. Para além disto, também se demonstrou que a glicirrizina forma várias interações com a M^{pro} de SARS-CoV-2, podendo formar um complexo com a protease, o que por sua vez provoca inibição da atividade catalítica dessa mesma protease (65). Assim, é possível concluir que a glicirrizina é o melhor composto bioativo do alcaçuz e que pode ser um candidato a fármaco contra SARS-CoV-2. Contudo, isso tem de ser confirmado com estudos *in silico*, *in vivo* e *in vitro* (65).

Os produtos de abelha, nomeadamente mel, pólen, própolis, cera de abelha e geleia real têm demonstrando atividade antiviral contra agentes infecciosos que provocam problemas respiratórios graves (66). Além disso, estes compostos naturais possuem vários benefícios para o sistema imunitário, uma vez que estão envolvidos na indução da produção de anticorpos e na estimulação do sistema imunitário (66).

O mel é um composto açucarado produzido pelas abelhas melíferas (*Apis mellifera*) a partir do néctar das flores ou de secreções obtidas de outras partes das plantas, no qual as abelhas vão extrair, transformar, combinar e armazenar na colmeia. Para além do elevado valor nutricional, o mel tem também efeitos terapêuticos contra várias patologias por possuir uma grande diversidade de propriedades farmacológicas, tais como antibacterianas, anti-inflamatórias, antioxidantes, antidiabéticas, antivirais, antifúngicas e cicatrizantes (66,67).

Algumas das características do mel (sabor, aroma e cor) variam consoante as abelhas que o produzem bem como o tipo e origem das flores e as condições ambientais. No geral, todos os tipos de mel são compostos maioritariamente por açúcares, apresentando também aminoácidos, flavonoides, ácidos orgânicos, ácidos fenólicos, minerais, vitaminas e compostos voláteis. Os flavonoides mais abundantes no mel são quercetina, luteolina, kaempferol e crisina (68).

Relativamente à própolis, esta é uma resina natural produzida pelas abelhas sendo constituída por secreções salivares, cera, pólen e matérias vegetais. A própolis possui também uma vasta gama de atividades farmacológicas, nomeadamente propriedades anti-inflamatórias, antisséticas, antioxidantes, antibacterianas, imunomoduladoras e antivirais (69).

O pólen é colhido pelas abelhas a partir de plantas com flores, sendo utilizado como alimento por estes insetos. Este material vegetal é rico em proteínas, aminoácidos, açúcares, lípidos, minerais, vitaminas, fitoesteróis e flavonoides (66).

Todos estes produtos apícolas têm na sua composição substâncias, como kaempferol, crisina ou quercetina, que possuem atividade antiviral e desta forma, com potencial para bloquear a entrada do vírus na célula, inibindo a enzima 3CL^{pro} ou até fortalecendo o sistema imunitário, uma vez que podem funcionar como agentes imunomoduladores, isto é, como possuem propriedades antioxidantes capazes de inibir o *stress* oxidativo decorrente da interrupção dos danos celulares, promovem, por outro lado, a proliferação e ativação de linfócitos T e B. Contudo, são necessários mais ensaios clínicos para avaliar o possível efeito dos produtos apícolas face à COVID-19 (66,70).

5.2.2. Inibição da protease semelhante à papaína (PL^{pro})

A protease PL^{pro} consiste noutra enzima que desempenha um papel na codificação das poliproteínas de SARS-CoV-2. Esta protease em específico liberta NSP1, NSP2 e NSP3 que são essenciais na correção viral, como é também antagonista da imunidade inata da célula hospedeira (52).

Através de uma pesquisa de compostos naturais com o intuito de encontrar potenciais inibidores da enzima PL^{pro} de SARS-CoV-2 identificou-se o gengibre. *Zingiber officinale* Roscoe é uma planta da família *Zingiberaceae*, que é tanto utilizada como especiaria na culinária, como usada para fins medicinais, desde a antiguidade. Esta é dotada de propriedades farmacológicas como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, anticancerígenas, neuroprotetoras, antidiabéticas, protetor cardiovascular, protetor respiratório e antiemético (26,71).

O gengibre é constituído por várias substâncias químicas, nomeadamente, compostos fenólicos, terpenos, polissacáridos, lípidos, ácidos orgânicos e fibras puras. Os principais compostos bioativos do gengibre responsáveis pelas suas propriedades farmacológicas são os gingeróis, chogaóis e paradóis, como o 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol e 6-chogaol (26,71,72).

O gengibre também tem sido analisado e estudado quanto ao seu potencial antiviral contra a doença COVID-19. Um estudo revelou que o extrato de rizoma de gengibre tem maior afinidade para a protease PL^{pro} de SARS-CoV-2, protease esta que é bastante importante na replicação do novo coronavírus (26,73). Em outro estudo *in silico* foi também demonstrado que os compostos bioativos desta planta tinham uma elevada afinidade com a proteína S do vírus e também com o recetor ACE2 do hospedeiro (26). Por estes motivos, o gengibre demonstrou interessante enquanto agente terapêutico natural para tratar a COVID-19, todavia são necessários mais estudos.

Relativamente à atividade anti-inflamatória também foi necessário estudar os efeitos desta planta, por isso foi administrado gengibre numa dose de 1000 mg/kg, dando-se uma redução dos níveis de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6 e TNF- α) como também ocorreu a proteção de danos a nível pulmonar em murganhos. Diferentes frações de gengibre exibiram potencial para inibir a migração e ativação de monócitos, macrófagos

e neutrófilos. Portanto, sugere-se que o gengibre possui potencial para tratar a infecção viral suprimindo a inflamação induzida pela infecção viral (26).

5.2.3. Inibição da RNA polimerase RNA-dependente (RdRp)

É importante encontrar agentes antivirais cuja função consista na inibição da enzima RdRp, uma vez que esta enzima é importante na replicação viral e transcrição de vírus de RNA de cadeia positiva, como os coronavírus (53). Há exemplos naturais como a teaflavina obtida de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze ou a planta *Gnidia lamprantha* Gilg que possui gnidicina e gniditrina (ésteres diterpênicos), que possuem atividade antiviral contra o vírus SARS-CoV-2 ao inibir a RdRp (52).

5.2.4. Inibição da helicase

A enzima helicase também é um bom alvo terapêutico, pois o vírus SARS-CoV-2 precisa desta enzima para converter a cadeia dupla de RNA em cadeia simples e desta forma, dar-se a transcrição e replicação do genoma viral. Assim, esta enzima é também importante na replicação e proliferação do vírus, sendo por esse motivo, um bom alvo para os agentes antivirais (52).

Há diversos compostos naturais que foram relatados como fortes inibidores da helicase de SARS-CoV-2, nomeadamente miricetina e escutelarina (flavonoides) que demonstraram inibir a helicase ao afetar a atividade ATPase (adenosinatrifosfatase) (57). Outros compostos também com grande efeito inibitório da atividade da helicase de SARS-CoV-2 é a hesperidina, obtida de espécies de *Citrus* spp., e a rutina, obtida de *Ruta graveolens* L. (52).

6. CONCLUSÃO

A COVID-19 é uma doença que surgiu de forma inesperada e trouxe vários problemas para os quais não se tinha conhecimento. Apesar de ter ocorrido outros surtos virais anteriores a este, não existiam métodos para controlar a rapidez com que o vírus se propagava entre os indivíduos, acabando por atingir outros países tornando-se assim, num problema de saúde pública.

Desde o primeiro caso de COVID-19 que se tornou urgente compreender melhor esta doença, a sua etiologia, o ciclo de vida do novo coronavírus, conhecer as semelhanças e as diferenças face aos outros dois surtos virais, assim como desenvolver agentes anti-SARS-CoV-2 e vacinas para combater e reduzir o aumento elevado na morbidade e mortalidade provocado pela doença a nível mundial.

Após dois anos do surgimento deste novo coronavírus, já existem vacinas disponíveis para a prevenção da COVID-19 grave e estão mais em desenvolvimento, no entanto, faltam medicamentos antivirais eficazes para combater esta doença infecciosa. É importante que estes métodos estejam ao alcance de todos a nível mundial, para assim conseguir-se alcançar a imunidade e tratamento para esta doença.

A fitoterapia pode contribuir para o combate desta doença, pois as plantas medicinais apresentam vastos efeitos terapêuticos, cujos compostos naturais são promissores para a inibição ou interrupção da proliferação de SARS-CoV-2.

O farmacêutico, como profissional de saúde tem um papel ativo junto da população, possuindo uma função importantíssima no auxílio da saúde do utente, em especial durante esta pandemia em que vivemos. Dada a falta de conhecimento por trás do aparecimento desta nova doença, foram surgindo diversas informações ao longo dos dias, algumas fidedignas e outras não, recaindo sobre o farmacêutico a responsabilidade de fornecer a evidência científica mais atual aos utentes.

Face às dificuldades que os hospitais e cuidados de saúde primários passavam, a maioria dos utentes recorria em primeiro lugar junto de um farmacêutico, revelando a confiança que têm junto desse profissional de saúde. Desta forma, ao longo destes últimos dois anos, foram vários os farmacêuticos que ajudaram os doentes nas medidas de prevenção da transmissão do SARS-CoV-2, ensinando procedimentos que os utentes devem adotar para se protegerem, como por exemplo, o distanciamento social, uso de

máscara e permanência em casa sempre que possível, bem como alertar os doentes face aos sintomas da doença e no procedimento que devem tomar em caso de suspeita de infeção.

O farmacêutico pode contribuir na saúde do doente através de aconselhamentos ao nível de medidas não farmacológicas como de terapêutica farmacológica para o alívio da sintomatologia associada à doença. Iniciou-se também a realização de testes rápidos de antígeno de SARS-CoV-2 nas farmácias, permitindo ajudar no rastreio de pessoas infetadas com esta doença, com resultados rápidos e com efeito na interrupção de cadeias de transmissão de COVID-19.

Por último, mas não menos importante, uma vez que a maioria destes doentes não se encontram com mais nenhum profissional de saúde, cabe ao farmacêutico acompanhar as suas patologias crónicas, ensinando o doente a lidar com essas mesmas doenças. Assim, o farmacêutico trabalha em conjunto com o doente no sentido de otimizar o uso do medicamento e melhorar os seus resultados em saúde.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. World Health Organization (WHO). Pneumonia of unknown cause – China [Internet]. 2020 [citado 27 de Março de 2021]. p. 1. Disponível em: <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en/>
2. World Health Organization (WHO). Novel Coronavirus (2019-nCoV) technical guidance [Internet]. 2020 [citado 27 de Março de 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>
3. Li H, Burm SW, Hong SH, Ghayda RA, Kronbichler A, Smith L, et al. A comprehensive review of coronavirus disease 2019: epidemiology, transmission, risk factors, and international responses. *Yonsei Med J.* 2021;62(1):1–11.
4. World Health Organization (WHO). WHO Director-General’s opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. WHO Director General’s speeches. 2020 [citado 9 de Abril de 2021]. p. 4. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
5. Khan M, Khan ST. COVID-19: A global challenge with old history, epidemiology and progress so far. *Moléculas.* 2021;26 (1):1–25.
6. Choudhary J, Dheeman S, Sharma V, Katiyar P, Karn SK, Sarangi MK, et al. Insights of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV-2) pandemic: a current review. *Biol Proced Online.* 2021;23(1):1–22.
7. Al-Rohaimi AH, Al Otaibi F. Novel SARS-CoV-2 outbreak and COVID19 disease; a systemic review on the global pandemic. *Genes Dis.* 2020;7(4):491–501.
8. Attia YA, Alagawany MM, Farag MR, Alkhatib FM, Khafaga AF, Abdel-Moneim AME, et al. Phytogetic products and phytochemicals as a candidate strategy to improve tolerance to coronavirus. *Front Vet Sci.* 2020;7(October):1–18.
9. Remali J, Aizat WM. A review on plant bioactive compounds and their modes of action against coronavirus infection. *Front Pharmacol.* 2021;11(January):1–13.
10. Marei HE, Althani A, Afifi N, Pozzoli G, Caceci T, Angelini F, et al. Pandemic COVID-19 caused by SARS-CoV-2: genetic structure, vaccination, and therapeutic approaches. *Mol Biol Rep.* 2021;(1–12).
11. Benarba B, Pandiella A. Medicinal plants as sources of active molecules against COVID-19. *Front Pharmacol.* 2020;11(August):1–16.
12. Serviço Nacional de Saúde. Covid-19 | SNS24 [Internet]. Covid-19. 2020 [citado 28 de Abril de 2021]. Disponível em: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/#sec-0>
13. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Novo coronavírus SARS-CoV-2 | covid-19 categoria [Internet]. [citado 28 de Abril de 2021]. Disponível em: <http://www.insa.min-saude.pt/category/areas-de-atuacao/doencas-infeciosas/novo-coronavirus-sars-cov-2-covid-19/>
14. Rauf A, Abu-izneid T, Olatunde A, Khalil AA, Alhumaydhi FA, Tufail T, et al. COVID-

- 19 pandemic : epidemiology , etiology , conventional and non-conventional therapies. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(21):1–32.
15. Erlich. COVID-19 (Novel Coronavirus) [Internet]. dynamed. 2020 [citado 28 de Agosto de 2021]. Disponível em: <https://www.dynamed.com/condition/covid-19-novel-coronavirus/>
 16. Centers for Disease Control and Prevention. Principles of Epidemiology: Lesson 1 - Section 1: definition of Epidemiology [Internet]. Cdc. 2012 [citado 4 de Maio de 2021]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/csels/dsepd/ss1978/lesson1/section1.html>
 17. World Health Organization (WHO). WHO coronavirus (COVID-19) dashboard [Internet]. WHO. 2021 [citado 6 de Dezembro de 2021]. p. 1–5. Disponível em: <https://covid19.who.int/>
 18. Direção-Geral da Saúde. Estado epidemiológico COVID19 portugal - covid 19 estamos on [Internet]. 2020 [citado 6 de Dezembro de 2021]. Disponível em: <https://covid19estamoson.gov.pt/estado-epidemiologico-covid19-portugal/>
 19. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). Evolução do número de casos de COVID-19 em Portugal: 10-12-2021 [Internet]. Relatório de Nowcasting do INSA. 2021 [citado 16 de Dezembro de 2021]. p. 1–15. Disponível em: https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2021/12/Report_covid19_20211210.pdf
 20. Azevedo-Pereira JM. SARS-CoV-2 e COVID-19: os aspetos virológicos de uma pandemia. *Rev Port Farm*. 2020;12:21–6.
 21. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, Stalder H, Thiel V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. *Nat Rev Microbiol*. 2021;19(3):155–70.
 22. Alanagreh L, Alzoughool F, Atoum M. The human coronavirus disease covid-19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. *Pathogens*. 2020;9(5):1–11.
 23. Badawi S, Ali BR. ACE2 nascence, trafficking, and SARS-CoV-2 pathogenesis: the saga continues. *Hum Genomics*. 2021;15(8):1–14.
 24. Khare P, Sahu U, Pandey SC, Samant M. Current approaches for target-specific drug discovery using natural compounds against SARS-CoV-2 infection. *Virus Res*. 2020;290(9):1–8.
 25. Rizk JG, Kalantar-Zadeh K, Mehra MR, Lavie CJ, Rizk Y, Forthal DN. Pharmac-immunomodulatory therapy in COVID-19. *Drugs*. 2020;80(13):1–26.
 26. Sapra L, Bhardwaj A, Azam Z, Madhry D, Verma B, Rathore S, et al. Phytotherapy for treatment of cytokine storm in COVID-19. *Front Biosci - Landmark*. 2021;26(5):51–75.
 27. Ahn DG, Shin HJ, Kim MH, Lee S, Kim HS, Myoung J, et al. Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and vaccines for novel coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Microbiol Biotechnol*. 2020;30(3):313–24.
 28. Malik YS, Kumar P, Ansari MI, Hemida MG, El Zowalaty ME, Abdel-Moneim AS, et al. SARS-CoV-2 Spike protein extrapolation for COVID diagnosis and vaccine development. *Front Mol Biosci*. 2021;8(July):1–14.

29. World Health Organization (WHO). The different types of COVID-19 vaccines. Who [Internet]. 2021 [citado 10 de Setembro de 2021];(April):2021. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-race-for-a-covid-19-vaccine-explained>
30. Plácido GM, Guerreiro MP. Administração de vacinas e medicamentos injetáveis por farmacêuticos. Ordem dos Farmacêuticos. 2015. 260 p.
31. Li Y Der, Chi WY, Su JH, Ferrall L, Hung CF, Wu TC. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. J Biomed Sci. 2020;27(1):1–23.
32. Zhao J, Zhao S, Ou J, Zhang J, Lan W, Guan W, et al. COVID-19: coronavirus vaccine development updates. Front Immunol. 2020;11(December):1–19.
33. Moura M, Marçal G, Garcia S, Mendonça M. DNA vaccines against COVID-19: perspectives and challenges. Life Sci. 2021;267(12):1–8.
34. European Medicines Agency (EMA). Comirnaty | European Medicines Agency [Internet]. EMA. 2021 [citado 2 de Dezembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/comirnaty>
35. European Medicines Agency (EMA). Spikevax (previously COVID-19 Vaccine Moderna) | European Medicines Agency [Internet]. Ema. [citado 13 de Novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/spikevax#product-information-section>
36. European Medicines Agency (EMA). Anexo I - Resumo das características do medicamento Spikevax, INN-COVID-19 mRNA Vaccine. EMA [Internet]. 2021 [citado 25 de Novembro de 2021]; Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-product-information_pt.pdf
37. European Medicines Agency (EMA). Anexo I - Resumo das características do medicamento Comirnaty, INN-COVID-19 mRNA vaccine. EMA [Internet]. 2021 [citado 25 de Novembro de 2021]; Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/comirnaty-epar-product-information_pt.pdf
38. European Medicines Agency (EMA). COVID-19 Vaccine Janssen | European Medicines Agency [Internet]. EMA. 2021 [citado 23 de Setembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/covid-19-vaccine-janssen>
39. European Medicines Agency (EMA). Anexo I - Resumo das características do medicamento COVID-19 Vaccine Janssen. EMA [Internet]. 2021 [citado 23 de Setembro de 2021];1–36. Disponível em: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/covid-19-vaccine-janssen-epar-product-information_pt.pdf
40. European Medicines Agency (EMA). EMA evaluating data on booster dose of COVID-19 vaccine Janssen [Internet]. European Medicines Agency. 2021 [citado 22 de Novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-evaluating-data-booster-dose-covid-19-vaccine-janssen>

41. European Medicines Agency (EMA). Vaxzevria (previously COVID-19 Vaccine AstraZeneca) | European Medicines Agency [Internet]. EMA. 2021 [citado 23 de Setembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/vaxzevria-previously-covid-19-vaccine-astrazeneca>
42. Liu X, Liu C, Liu G, Luo W, Xia N. COVID-19: Progress in diagnostics, therapy and vaccination. *Theranostics*. 2020;10(17):7821–35.
43. Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Belizna C, Selva-O’Callaghan A, Pardos-Gea J, Quintana A, et al. Immunomodulatory therapy for the management of severe COVID-19. Beyond the anti-viral therapy: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2020;19:1–9.
44. National Institutes of Health. Treatment guidelines panel. Coronavirus disease 2019 (COVID-19). Nih [Internet]. 2021;2019. Disponível em: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
45. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A review. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(18):1824–36.
46. Singh AK, Singh A, Singh R, Misra A. Molnupiravir in COVID-19: a systematic review of literature. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. 2021;15(6):12.
47. European Medicines Agency (EMA). EMA receives application for marketing authorisation for lagevrio (molnupiravir) for treating patients with COVID-19 | European Medicines Agency [Internet]. EMA. 2021 [citado 24 de Novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-receives-application-marketing-authorisation-lagevrio-molnupiravir-treating-patients-covid-19>
48. Vitiello A, Troiano V, La Porta R. What will be the role of molnupiravir in the treatment of COVID-19 infection? *Drugs Ther Perspect*. 2021;37(12):579–80.
49. European Medicines Agency (EMA). EMA starts review of Paxlovid for treating patients with COVID-19 | European Medicines Agency [Internet]. EMA. 2021 [citado 24 de Novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-starts-review-paxlovid-treating-patients-covid-19>
50. Inc. P. Pfizer’s novel COVID-19 oral antiviral treatment candidate reduced risk of hospitalization or death by 89% in interim analysis of phase 2/3 EPIC-HR study [Internet]. 2021 [citado 25 de Novembro de 2021]. Disponível em: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizers-novel-covid-19-oral-antiviral-treatment-candidate>
51. Chen W, Wang Z, Wang Y, Li Y. Natural bioactive molecules as potential agents against SARS-CoV-2. *Front Pharmacol*. 2021;12(8):1–21.
52. Shah MA, Rasul A, Yousaf R, Haris M, Faheem HI, Hamid A, et al. Combination of natural antivirals and potent immune invigorators: a natural remedy to combat COVID-19. *Phyther Res*. 2021;35(12):1–22.
53. Boozari M, Hosseinzadeh H. Natural products for COVID-19 prevention and treatment regarding to previous coronavirus infections and novel studies. *Phyther Res*.

- 2021;35(2):864–76.
54. Thota SM, Balan V, Sivaramakrishnan V. Natural products as home-based prophylactic and symptom management agents in the setting of COVID-19. *Phyther Res.* 2020;34(12):3148–67.
 55. Zahedipour F, Hosseini SA, Sathyapalan T, Majeed M, Jamialahmadi T, Al-Rasadi K, et al. Potential effects of curcumin in the treatment of COVID-19 infection. *Phyther Res.* 2020;34(11):2911–20.
 56. Shanmugarajan D, P. P, Kumar BRP, Suresh B. Curcumin to inhibit binding of spike glycoprotein to ACE2 receptors: Computational modelling, simulations, and ADMET studies to explore curcuminoids against novel SARS-CoV-2 targets. *RSC Adv.* 2020;10(52):31385–99.
 57. Ospanov M, León F, Jenis J, Khan IkA, Ibrahim MA. Challenges and future directions of potential natural products leads against 2019-nCoV outbreak. *Curr Plant Biol.* 2020;24(100180):1–10.
 58. Shang A, Cao SY, Xu XY, Gan RY, Tang GY, Corke H, et al. Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods.* 2019;8(7):1–31.
 59. Martins N, Petropoulos S, Ferreira ICFR. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chem.* 2016;211:41–50.
 60. Pandey P, Khan F, Kumar A, Srivastava A, Jha NK. Screening of potent inhibitors against 2019 novel coronavirus (Covid-19) from *Allium sativum* and *Allium cepa*: An in silico approach. *Biointerface Res Appl Chem.* 2021;11(1):7981–93.
 61. Khubber S, Hashemifesharaki R, Mohammadi M, Gharibzahedi SMT. Garlic (*Allium sativum* L.): a potential unique therapeutic food rich in organosulfur and flavonoid compounds to fight with COVID-19. *Nutr J.* 2020;19(1):20–2.
 62. Akbaş MN, Akçakaya A. COVID-19 and phytotherapy. *Bezmialem Sci.* 2020;8(4):428–37.
 63. Brendler T, Al-Harrasi A, Bauer R, Gafner S, Hardy ML, Heinrich M, et al. Botanical drugs and supplements affecting the immune response in the time of COVID-19: implications for research and clinical practice. *Phyther Res.* 2021;35(6):3013–31.
 64. Lee SA, Lee SH, Kim JY, Lee WS. Effects of glycyrrhizin on lipopolysaccharide-induced acute lung injury in a mouse model. *J Thorac Dis.* 2019;11(4):1287–302.
 65. Srivastava V, Yadav A, Sarkar P. Molecular docking and ADMET study of bioactive compounds of *Glycyrrhiza glabra* against main protease of SARS-CoV2. *Mater Today Proc.* 2020;49(8):1–9.
 66. Lima WG, Brito JCM, da Cruz Nizer WS. Bee products as a source of promising therapeutic and chemoprophylaxis strategies against COVID-19 (SARS-CoV-2). *Phyther Res.* 2021;35(2):743–50.
 67. Ali AM, Kunugi H. Propolis, bee honey, and their components protect against coronavirus disease 2019 (Covid-19): A review of in silico, in vitro, and clinical studies. *Molecules.*

- 2021;26(5):1–21.
68. Abedi F, Ghasemi S, Farkhondeh T, Azimi-Nezhad M, Shakibaei M, Samarghandian S. Possible potential effects of honey and its main components against covid-19 infection. Dose-Response. 2021;19(1):1–13.
 69. Yosri N, El-Wahed AAA, Ghonaim R, Khattab OM, Sabry A, Ibrahim MAA, et al. Antiviral and immunomodulatory properties of propolis: chemical diversity, pharmacological properties, preclinical and clinical applications, and in silico potential against sars-cov-2. Foods. 2021;10(8):1–47.
 70. Al-Hatamleh, M. A., Hatmal, M. M. M., Sattar, K., Ahmad, S., Mustafa, M. Z., Bittencourt, M. D. C., Mohamud R. Antiviral and immunomodulatory effects of phytochemicals from honey against COVID-19 : potential mechanisms of action and future directions. Molecules. 2020;25(21):1–23.
 71. Mao QQ, Xu XY, Cao SY, Gan RY, Corke H, Beta T, et al. Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*zingiber officinale roscoe*). Foods. 2019;8(6):1–21.
 72. Bode AM, Dong Z. The amazing and mighty ginger. Em: Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects: Second Edition [Internet]. CRC Press/Taylor & Francis; 2011 [citado 15 de Outubro de 2021]. p. 131–56. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92775/>
 73. Goswami D, Kumar M, Ghosh SK, Das A. Natural Product Compounds in *Alpinia officinarum* and Ginger are Potent SARS-CoV-2 Papain-like Protease Inhibitors. ChemRxiv [Internet]. 2020;1–16. Disponível em: <https://chemrxiv.org/engage/chemrxiv/article-details/60c74992842e653981db2d97>