

O Potencial dos Ácidos Resínicos na Descoberta de Novos Fármacos Antimicrobianos

>
Vânia M. Moreira

Harnessing the Power of Resin Acids for Antimicrobial Drug Discovery. *Resin acids are by-products of the human forestry industry available in considerable amounts at a global scale, which conversion into added value products, including drugs to treat human illnesses, is highly desirable from the circular economy perspective. Research into the medicinal chemistry of resin acids is a current topic in search of ways to improve their potency and physicochemical properties through chemical derivatization. The medicinal properties of the resins that comprise them in treating infected chronic wounds drew attention towards the resin acids as antimicrobial compounds since very early on. In a context where resistance to antimicrobials is recognized worldwide as one of the most dangerous threats imposed on human health, these commercially available tricyclic compounds may have a fundamental role in the development of innovative therapies. This article highlights the utility of the resin acids for discovering novel antimicrobial drugs, based on a brief anthology of the chemical derivatization and optimization work that has been part of this article's author research activity.*

Os ácidos resínicos são subprodutos da atividade humana de exploração florestal, obtidos em volume considerável à escala mundial, cuja conversão em produtos de valor acrescentado, incluindo fármacos, é desejável do ponto de vista da economia circular. A investigação da química medicinal dos ácidos resínicos é um tema atual, onde se procura melhorar a sua potência e propriedades físico-químicas através da derivatização química. As propriedades medicinais das resinas que os contém, na reparação e cicatrização de feridas infetadas, chamaram desde cedo a atenção para o potencial dos ácidos resínicos como compostos antimicrobianos. Num contexto em que a resistência aos fármacos antimicrobianos tradicionais é reconhecida globalmente como uma das ameaças mais prementes à saúde humana, estes compostos tricyclicos disponíveis comercialmente poderão vir a ter um papel fundamental no desenvolvimento de novas terapias. Este artigo demonstra a utilidade dos ácidos resínicos na descoberta de novos fármacos antimicrobianos, ilustrada numa breve antologia do trabalho de derivatização química e otimização realizada no âmbito da atividade de investigação da autora deste artigo.

1. Origem e importância dos ácidos resínicos

Os ácidos resínicos são ácidos orgânicos encontrados na fração não volátil da oleoresina de muitas espécies de coníferas. Na natureza, a oleoresina é fundamental na proteção das árvores contra as agressões externas e as espécies invasoras. Em caso de incisão, as árvores exsudam oleoresina viscosa, que aprisiona os insetos invasores. Quando os seus componentes voláteis evaporam, deixam uma porção sólida de componentes não voláteis que fecha a ferida, promovendo a recuperação da árvore.

Da destilação da oleoresina recolhida das árvores vivas resulta uma fração volátil, chamada terebintina ou aguarrás, e outra não volátil, designada goma de colofónia, *gum rosín*, pez ou breu, onde se encontram os ácidos resínicos. A colofónia tem sido historicamente usada no fabrico de tintas, colas, vernizes, borrachas, adesivos, cosméticos (batons, rímel, protetores solares, ceras depilatórias), bem como nas indústrias farmacêutica (suturas, selantes e fitas dentárias) e alimentar (pastilhas elásticas) [1,2].

Atualmente, os maiores exportadores mundiais de colofônia são a China, o Brasil, a Índia e a Indonésia [2]. Na Europa, as coníferas ocupam cerca de 46% das florestas, com predomínio na taiga dos países nórdicos Finlândia, Noruega e Suécia.

Os ácidos resínicos presentes na colofônia são, assim, subprodutos da atividade humana de exploração florestal, que podem ser obtidos em volume considerável à escala mundial. A conversão destes resíduos da atividade florestal em produtos de valor acrescentado, incluindo fármacos, é altamente desejável porque impulsiona a economia circular. De facto, o interesse na elucidação das estruturas químicas dos ácidos resínicos remonta à década de 1930, devido ao seu enorme potencial enquanto matérias-primas de baixo custo no fabrico de uma ampla gama de produtos de uso humano [3,4]. O interesse nas suas propriedades medicinais é ainda mais remoto. Já desde a época de da Vinci que a colofônia era incluída em cataplasmas para o tratamento de lesões da pele, tendo sido documentado o seu uso no tratamento da psoríase, problemas urinários, bronquite, fraturas ósseas, tinhas e reumatismo [1,5-7]. Contudo, a colofônia é um alérgeno de contacto, estando bem documentadas várias situações de desenvolvimento de dermatite de contacto após exposição e também de asma ocupacional causada por produtos contendo colofônia [8,9]. Esta toxicidade tem sido essencialmente atribuída aos produtos de oxidação que se formam durante o seu processamento.

2. Os ácidos resínicos presentes na colofônia

Atualmente, a produção anual mundial de colofônia ultrapassa o milhão de toneladas, um valor que se tem mantido estável nas últimas décadas, refletindo o seu enorme valor para a indústria [2]. Apesar de ser possível obter colofônia por outras duas vias diferentes, nomeadamente por extração da madeira (*wood rosin*) e por destilação do *Tall Oil* bruto oriundo do processo *kraft* (*Tall oil rosin*), a goma de colofônia é líder, representando 60% do mercado total de resinas.

A colofônia é sólida e quebradiça, com uma aparência vítrea e coloração que pode variar de praticamente incolor a amarelada ou castanho-escura. É insolúvel em água e apenas solúvel em alguns solventes orgânicos. Na sua composição química complexa, destacam-se os ácidos resínicos, representando cerca de 95% em peso, que são maioritariamente diterpenóides do tipo abietano e pimarano (Figura 1), sendo os restantes constituintes materiais neutros [10]. Esta composição depende não só da espécie de árvore de onde foi obtida, mas também da sua localização geográfica e do seu historial de exposição térmica, uma vez que os ácidos resínicos do tipo abietano isomerizam a temperaturas elevadas.

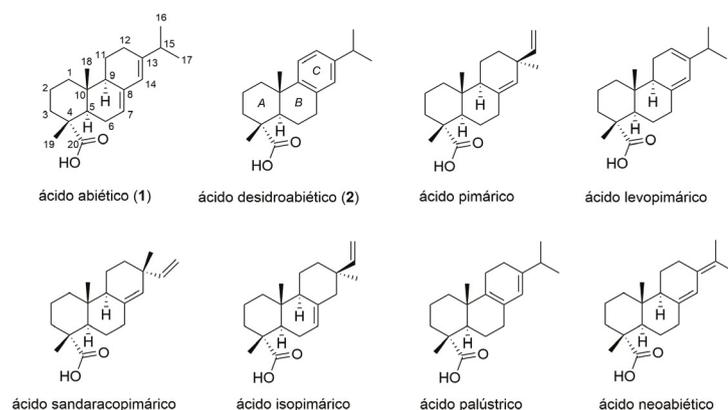


Figura 1 - Principais ácidos resínicos presentes na colofônia.

Os abietanos, onde se incluem os ácidos resínicos, são diterpenóides tricíclicos, contendo 20 átomos de carbono, em que três anéis de seis átomos estão fundidos, com substituintes alquilo nos carbonos 4, 10 e 13 (Figura 1). Nas plantas, são sintetizados em cascatas de reações enzimáticas envolvendo ciclases e quatro unidades de isopreno, a partir do precursor pirofosfato de geranylgeranilo [11]. Os abietanos são apolares e insolúveis em água. O ácido desidroabietico **2** apresenta uma estabilidade química adicional em relação aos restantes ácidos da colofônia por conter um anel aromático (anel C), o que tem facilitado grandemente a exploração das propriedades biológicas dos seus derivados semissintéticos [12-15].

3. Os ácidos resínicos e o desenvolvimento de novos antimicrobianos

3.1. Atividade antibacteriana e antibiofilme

No norte da Finlândia, a resina de abeto é usada desde há séculos para tratar, com sucesso, feridas crónicas infetadas [16]. Foram reconhecidas desde cedo as suas propriedades antimicrobianas, cicatrizantes e reparadoras. Desde 2002, uma equipa de investigadores e médicos levou a cabo estudos mais profundos, que incluíram ensaios clínicos com uma pomada de resina de abeto da Noruega, no tratamento de feridas cirúrgicas complicadas [17]. O ensaio prospetivo, randomizado e controlado, demonstrou que a pomada de resina é superior ao mel medicinal na promoção da cicatrização das feridas, tendo potência antibacteriana equivalente. Outro ensaio clínico revelou ainda que a pomada de resina sara úlceras de pressão infetadas e não infetadas melhor do que os pensos convencionais usados na prática clínica (Figura 2) [18].

Já em 1991, Soderberg *et al.* sugeriam que os ácidos abietico **1** e desidroabietico **2** (Figura 1), como componentes maioritários da fração não volátil das resinas, seriam os responsáveis pelas suas propriedades antimicrobianas [19,20]. Sabe-se atualmente que ambos

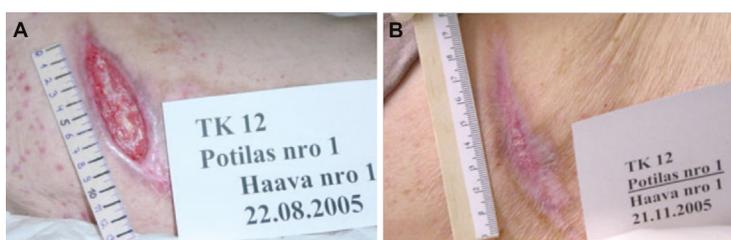


Figura 2 - Úlcera de pressão no grande trocânter antes (A) e depois (B) de tratamento com pomada de resina, por três meses (ensaio prospectivo randomizado número 160/2004). Adaptado de [18].

têm ainda a capacidade de afetar estirpes bacterianas resistentes aos antibióticos tradicionais [21,22]. A título de exemplo, o ácido desidroabiético **2** tem atividade bactericida sobre o *Staphylococcus epidermidis*, que é um dos mais importantes patógenos implicados nas infecções sistêmicas nosocomiais geradas pelo uso recorrente de cateteres vasculares [21], e o ácido abiético **1** sobre o *Staphylococcus aureus* resistente à metilicina (MRSA), sendo capaz de aumentar a suscetibilidade de estirpes resistentes à oxacilina [22].

A resistência aos antimicrobianos (RAM) representa hoje uma enorme ameaça à saúde humana a nível mundial e requer a ação de todos os setores do governo e da sociedade. Apenas em 2019, as infecções resistentes mataram cinco milhões de pessoas no mundo e está previsto morrer uma pessoa a cada três segundos em 2050, se nada se fizer para reverter este fenómeno [23]. A RAM acontece sempre que os antibióticos que conhecemos deixam de ser eficazes contra as infecções que costumavam tratar. É um fenómeno que ocorre naturalmente, resultando geralmente de alterações genéticas nas bactérias. Infelizmente, para todos os antibióticos atualmente conhecidos, sem exceções, já existem estirpes resistentes e nenhum método para reverter este fenómeno. Para resolver este problema, o desenvolvimento de novos antimicrobianos é fundamental e urgente.

Já desde o início dos anos 2000 que se estabeleceu inequivocamente que as bactérias não existem isoladamente (planctónicas), mas sim em comunidade, especialmente quando aderem a superfícies, em estruturas chamadas biofilmes [24-26]. Nos biofilmes, as bactérias ficam rodeadas por uma matriz espessa de substâncias poliméricas extracelulares que produzem e as protegem de agressões externas, incluindo dos antibióticos. É importante realçar que as bactérias nos biofilmes sofrem maiores taxas de mutação e transferem, por isso, mais facilmente genes de resistência [27,28]. Os biofilmes estão implicados em cerca de 80% das infecções humanas com pior prognóstico, incluindo periodontites, otites, fibrose cística, infecções do trato urinário, osteomielites e infecções associadas ao uso prolongado de dispositivos médicos [29]. Contudo, não existem quaisquer fármacos aprovados que atuem diretamente sobre biofilmes e o tratamento destas

infecções é frequentemente feito com *cocktails* de antibióticos, exacerbando o problema da resistência.

Um dos aspetos mais relevantes da atividade antibacteriana dos ácidos resínicos, demonstrada experimentalmente [30-32], é a sua capacidade de inibir a formação de biofilmes pelas bactérias planctónicas, e em especial de os afetar quando já estão estabelecidos. Em contrapartida, nas mesmas condições experimentais, os antibióticos convencionais não têm a capacidade de afetar biofilmes já estabelecidos, mesmo se forem usados em concentrações muito elevadas, que seriam impraticáveis num cenário clínico. Acresce ainda que a formação de biofilmes pelas bactérias tem sido apontada como um dos fatores que mais contribui para diminuir a sensibilidade das bactérias aos antibióticos, ou seja, para promover o aparecimento de estirpes resistentes [27,28]. As bactérias dos biofilmes chegam a ser entre 10 a 1000 vezes mais resistentes à ação dos antibióticos do que as bactérias isoladas (planctónicas).

Numa tentativa de caracterizar esta translação do papel ecológico dos ácidos resínicos em novos compostos antimicrobianos para o tratamento de patologias humanas, foram estudadas as propriedades antimicrobianas e antibiofilme do ácido desidroabiético **2** [30]. No ensaio da atividade antibiofilme (Tabela 1), a capacidade de um composto de inibir a sua formação é dada pelo paradigma "Pre", em que suspensões bacterianas contendo o composto são monitorizadas para averiguar se formam biofilmes e a viabilidade dos mesmos. Este tipo de ensaio correlaciona-se com a atividade antimicrobiana do composto, expressa na forma de MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*), avaliada nas células isoladas (planctónicas), uma vez que se o composto matar as bactérias, elas não poderão formar um biofilme. Em contrapartida, a capacidade de um composto afetar um biofilme já formado é dada pelo paradigma "Post", em que é permitido às bactérias formar primeiro o biofilme antes de qualquer contacto com o composto. Um parâmetro importante é o "fold", que representa o número de vezes que é necessário aumentar a concentração de um composto para que este passe a afetar significativamente os biofilmes já formados, dando uma indicação da sua seletividade para afetar biofilmes em relação às bactérias planctónicas.

O estudo realizado mostrou que o ácido desidroabiético **2** é capaz de prevenir a formação de biofilmes em concentrações micromolares ("pre"), mas mais significativamente, de reduzir a viabilidade e a biomassa de biofilmes já formados ("post"), algo impossível de atingir com a penicilina G (PenG) e a vancomicina (Van), ainda que a uma concentração de 400 µM (Tabela 1). O ácido desidroabiético **2** foi o mais seletivo a impactar a viabilidade e biomassa dos biofilmes de estirpes de *S. aureus*, sendo bem tolerado por linhas celulares de mamíferos.

Tabela 1 - Atividade antimicrobiana e antibiofilme do composto **2** e dos compostos híbridos mais representativos (Figura 3), no modelo *S. aureus* ATCC 25923. Adaptado de [30,31].

Composto	<i>S. aureus</i> ATCC 25923			Células HL	
	Biofilmes (IC ₅₀ , μM)		Fold ^a	Bactérias planctônicas	
	Pre	Post		MIC ^b (μM)	LC ₅₀ ^c (μM)
2	27,8	112,8	4	70	106,4
4e	35,5	108,7	3	50	--
4i	37,4	98,2	3	70	--
4j	33,2	86,1	3	60	--
4f	9,4	27,9	3	15	^d
7f	60,6	145,3	2	100	--
PenG	0,13	57% a 400 μM	--	0,12	--
Van	0,71	25% a 400 μM	--	2,7	--

^a Fold = IC₅₀(Post)/IC₅₀(Pre); ^b MIC = concentração inibitória mínima, correspondente à mais baixa concentração de composto capaz de inibir o crescimento visível de uma estirpe de bactérias; ^c LC₅₀ = concentração letal 50%, correspondente à concentração de composto que mata 50% da população de células em estudo; ^d sem efeito na viabilidade das células HL (pulmão humano) em concentrações até 100 μM.

Com o objetivo de melhorar a potência do ácido desidroabiético **2**, foi concebida uma estratégia de hibridização com aminoácidos ligados no anel A [31], com base em literatura que mostrava a capacidade de vários D-aminoácidos causarem a desagregação de biofilmes em algumas estirpes bacterianas [33]. A biblioteca de híbridos foi construída maioritariamente por meio de reações de acoplamento de vários ésteres alquílicos de aminoácidos ao ácido carboxílico do anel A mediadas por uma carbodiimida, seguidas de desproteção dos respetivos ésteres em meio básico e de modificações no anel B dos derivados produzidos (Figura 3).

A primeira ronda de síntese, em que foram usados L-aminoácidos apolares, revelou que o composto mais promissor continha o aminoácido fenilalanina **4e** (Figura 3-I), aquele de cadeia lateral apolar mais volumosa e aromática, e que a presença do ácido carboxílico livre se revelou fundamental para a atividade dos compostos,

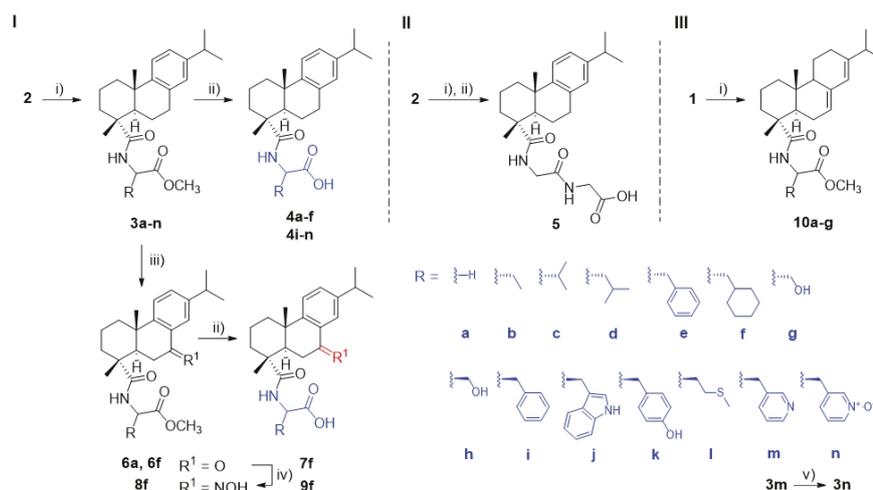
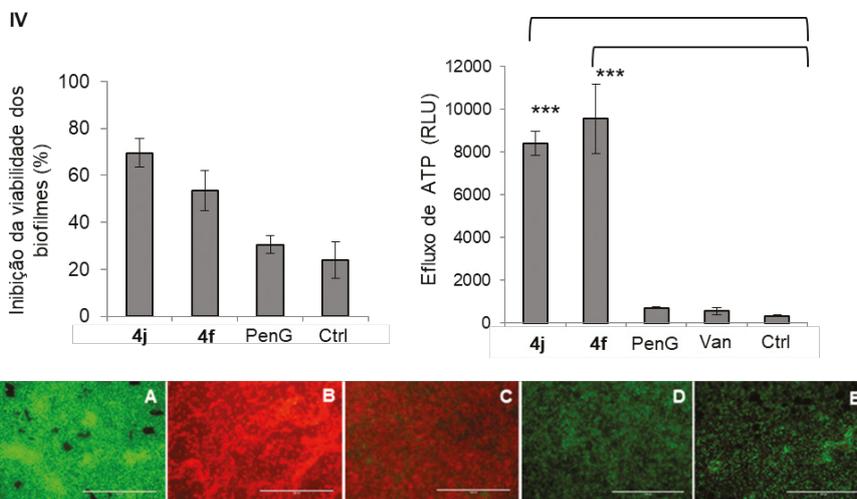


Figura 3 - I-III. Biblioteca de derivados dos ácidos resínicos **1** e **2**, com base na estratégia de hibridização com aminoácidos. Condições reacionais: i) EDC, HOBT, DIPEA, éster alquílico de aminoácido, solvente, t. a.; ii) NaOH, THF:MeOH, 0 °C → t. a.; iii) CrO₃, EtOAc, HOAc, 50 °C; iv) H₂NOH·HCl, piridina, etanol, 100 °C; v) *m*-CPBA, CHCl₃, 0 °C → t. a. Ac = acetilo; Et = etilo; *m*-CPBA = ácido *m*-cloroperoxibenzóico; DIPEA = *N,N*-diisopropiletilamina; DMF = *N,N*-dimetilformamida; EDC = 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida; HOBT = *N*-hidroxibenzotriazole; MeOH = metanol; t. a. = temperatura ambiente; THF = tetra-hidrofurano. IV. Alterações da viabilidade e efluxo de ATP em biofilmes de *S. aureus* em resposta à exposição aos compostos **4j** (100 μM), **4f** (100 μM), penicilina G (400 μM) e vancomicina (400 μM), ao fim de 1 h. As imagens de microscopia de fluorescência mostram as alterações na permeabilidade da membrana nos biofilmes formados após exposição aos mesmos tratamentos. ****p* < 0,001 (comparado com biofilmes não tratados). Adaptado de [31,34].



uma vez que os respectivos ésteres alquílicos eram todos inativos. O alongamento da cadeia lateral peptídica no derivado **5** (Figura 3-II) também não demonstrou benefício para a atividade antibiofilme. Na segunda ronda de síntese explorou-se a possibilidade de usar D-aminoácidos, que gozam de melhor estabilidade metabólica, em substituição dos respetivos L-enantiómeros, verificando-se que a atividade antibiofilme do derivado da D-fenilalanina **4i** era comparável à obtida com o composto **4e**. Contudo, as modificações químicas com maior expressão na atividade dos compostos resultaram da ab-rogação da aromaticidade da fenilalanina por síntese do derivado **4f** a partir da L-ciclo-hexilalanina, e do derivado do D-triptofano **4j**. O composto **4f**, com baixo potencial citotóxico, foi capaz de prevenir a formação de biofilmes, não só na estirpe *S. aureus* ATCC25923, mas também na *S. aureus* Newman e na *S. epidermidis*, sendo necessárias concentrações entre três e seis vezes mais elevadas para reduzir a viabilidade e biomassa de biofilmes já estabelecidos (Tabela 1). Estudos mecanísticos revelaram ainda que a ação dos compostos **4f** e **4j** nos biofilmes já formados é rápida, resultando em perda da sua viabilidade com comprometimento das membranas das bactérias dos biofilmes, avaliada pelo efluxo significativo de ATP e desenvolvimento de coloração vermelha pelo iodeto de propídeo (Figura 3-IV).

No contexto deste estudo da atividade antimicrobiana dos derivados hibridizados com aminoácidos, foram preparados ainda os compostos **10a-g** (Figura 3-III) a partir do ácido abiético **1** [34]. O estudo confirmou a elevada seletividade destes compostos para as bactérias Gram-positivas. Contudo, o estudo destes derivados não foi continuado devido à sua menor estabilidade química quando comparada com a dos derivados com anel C aromático.

Em geral, a estratégia seguida de otimização da potência antibiofilme do ácido desidroabiético **2** foi bem-sucedida, tendo gerado compostos com melhores propriedades antimicrobianas e antibiofilme, que pela sua facilidade de preparação e purificação, poderão alavancar estudos de biofilmes *in vitro* funcionando como controlos positivos, bem como ser alvo de estudos mais específicos para elucidar os seus mecanismos de ação primários nas bactérias planctónicas e nos biofilmes. O interesse nas propriedades antibiofilme do ácido abiético **1** continua a ser um tópico atual, e outros autores têm enaltecido o seu potencial uso em odontologia, para prevenir a formação de biofilmes de *Streptococcus mutans* [35]. O efeito deste ácido resínico foi considerado equivalente ao da iodopovidona e ao do cloreto de cetilpiridínio na prevenção do estabelecimento de biofilmes de *S. mutans*, com um nível de toxicidade geral muito inferior, sugerindo que pode ser, por exemplo, incorporado em materiais de enchimento para o tratamento de cáries dentárias.

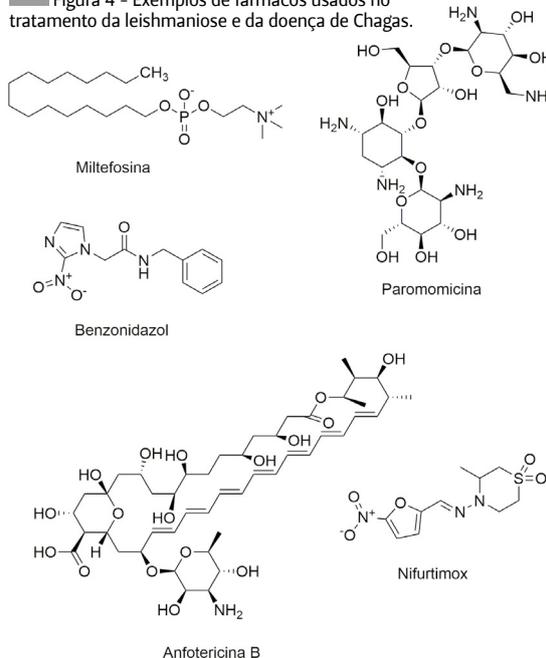
3.2. Atividade antiprotozoária

As doenças protozoárias ameaçam a saúde das populações

a nível global há décadas, estimando-se que cerca de 37 milhões de pessoas estejam infetadas com estes parasitas [36,37]. Juntamente com a malária e a amebíase, as doenças protozoárias causam aproximadamente um milhão de mortes por ano. Entre as mais letais estão as causadas pelos tripanossómidos, nomeadamente a leishmaniose [37], a doença de Chagas [38] e a tripanossomíase africana (doença do sono). Os tripanossómidos são parasitas protozoários com ciclos de vida que incluem o homem como hospedeiro, onde causam doença, e vários insetos são vetores que a transmitem [39,40]. A doença de Chagas é causada pelo *Trypanosoma cruzi*, a leishmaniose por várias espécies de *Leishmania* e a doença do sono pelo *Trypanosoma brucei*.

A leishmaniose tem três apresentações diferentes de entre as quais a visceral que, se não tratada, é fatal. As outras duas são a mucocutânea, com lesão completa ou parcial das membranas mucosas do nariz, garganta e boca, e a cutânea, que causa lesões na pele em partes expostas do corpo que quando saram deixam cicatrizes muito evidentes. O tratamento da leishmaniose assenta nos compostos de antimónio que são mal tolerados e em combinações de fármacos incluindo a miltefosina, a paromomicina ou a anfotericina B lipossomal (Figura 4), para os quais existem já muitas estirpes resistentes [41,42]. A imunossupressão causada por estes fármacos é também um desafio no tratamento da leishmaniose.

Figura 4 - Exemplos de fármacos usados no tratamento da leishmaniose e da doença de Chagas.



A doença de Chagas desenvolve-se em duas etapas, em que a crónica se caracteriza por alargamento dos ventrículos, conducente a insuficiência cardíaca e a distúrbios nas funções do esófago e do cólon. O seu tratamento é feito com benzonidazol e nifurtimox (Figura 4) isoladamente ou em combinação, com uma

taxa de cura da doença em fase aguda de 80% [42]. A eficácia é, contudo, severamente comprometida na fase crônica da infecção, onde o sucesso é atingido em apenas 5–20% dos casos. Neste cenário, novos fármacos para o tratamento destas infecções são uma prioridade.

Os parasitas protozoários são, tal como as bactérias, organismos unicelulares, sendo comum que compostos com atividade antibacteriana sejam capazes de inibir também o seu desenvolvimento. Desta forma, surgiu o interesse em fazer um *screening* da biblioteca de derivados dos ácidos resínicos (Figura 3) em modelos da doença de Chagas e de leishmaniose [43]. Aos compostos desta biblioteca foram adicionados ainda uma série de derivados da desidroabietilamina **11** (Figura 5), contendo também ligações amida no anel A [44]. Estes compostos foram preparados com vários ácidos carboxílicos usando a *N,N'*-diciclo-hexilcarbodiimida (DCC) como agente de acoplamento ou a partir de vários cloretos de acilo ou anidridos, com catálise básica.

Os modelos escolhidos foram a *Leishmania donovani* e o *T. cruzi*. Os compostos foram primeiro testados em amastigotas axénicas de *L. donovani*, com determinação do IC₅₀ dos mais promissores (Tabela 2). Para despistar uma possível citotoxicidade geral, todos os compostos foram também testados em macrófagos humanos (THP-1) e o seu índice de seletividade (SI) calculado. Mais significativamente, os compostos foram testados em células THP-1 infetadas com *L. donovani*, o que demonstra a sua capacidade de permeiar membranas e também de combater a infecção em diferentes estádios, *i.e.*, tanto nas formas isoladas do parasita como nas células parasitadas. Os ensaios com *T. cruzi* seguiram um modelo semelhante, em que se usaram amastigotas do parasita isoladamente ou quando residentes em mioblastos do músculo esquelético de rato (L6).

O aspeto mais promissor da atividade de todos os compostos testados, e em particular dos derivados **3m** (Figura 3-l) e **21** (Figura 5), foi sem dúvida a sua capacidade de afetar os parasitas dentro das células infetadas, com excelentes índices de seletividade.

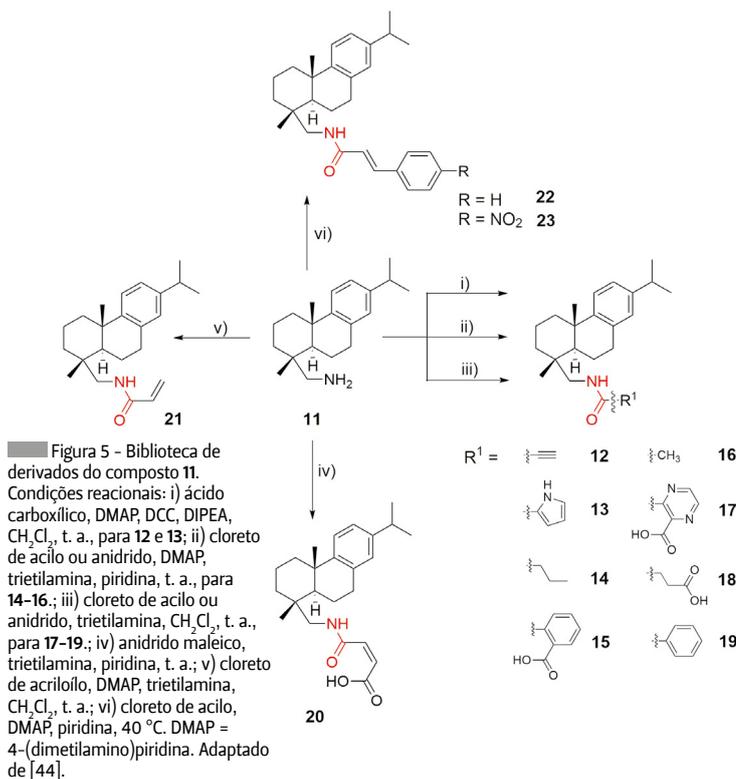
Conclusões

Os ácidos resínicos são matérias-primas abundantes, de baixo custo e elevado interesse no desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de doenças humanas. A conversão destes subprodutos da atividade florestal em produtos de valor acrescentado é altamente desejável para impulsionar a economia circular. A atividade antimicrobiana dos ácidos resínicos foi reconhecida desde cedo pelas propriedades medicinais das resinas que constituem. A caracterização experimental desta atividade e a produção de vários derivados semissintéticos têm permitido aferir o seu potencial para afetar diversos patógenos humanos, incluindo bactérias e protozoários. Destaca-se a sua capacidade de afetar biofilmes bacterianos quando

Tabela 2 - Atividade antiprotozoária dos compostos mais representativos nos modelos *L. donovani* e *T. cruzi*. Adaptado de [43,44].

Composto	IC ₅₀ (µM) <i>L. donovani</i>	SI ^a	IC ₅₀ (µM) <i>L. donovani</i> em THP-1	IC ₅₀ (µM) <i>T. cruzi</i>	IC ₅₀ (µM) <i>T. cruzi</i> em células L6	SI ^b
4f	1,7 ± 0,6	24	5,0 ± 0,6	22,8 ± 6,4	29,1 ± 17,5	1
3m	--	--	--	1,4 ± 0,3	24,1 ± 10,3	17
6f	4,6 ± 0,0	14	6,6 ± 1,1	4,2 ± 1,6	33,5 ± 21,9	8
7f	4,0 ± 1,2	13	2,3 ± 0,6	3,9 ± 1,4	77,2 ± 35,8	20
4e	2,5 ± 0,0	33	9,0 ± 2,2	33,1 ± 7,7	45,4 ± 4,7	1
16	2,4 ± 0,10	14	--	3,7 ± 1,2	24,3 ± 11,2	6
20	1,9 ± 0,09	76	34,7 ± 8,0 ^c	9,5 ± 5,4	33,5 ± 15,5	4
21	0,37 ± 0,02	63	94,7 ± 2,2 ^{c,d}	0,6 ± 0,5	36,7 ± 12,3	58
Bnz	--	--	--	2,1 ± 0,1	--	--
Podo	--	--	--	--	0,02 ± 0,01	--

SI = índice de seletividade. ^a SI = IC₅₀ (THP-1)/IC₅₀ (*L. donovani*). ^b SI = IC₅₀ (L6)/IC₅₀ (*T. cruzi*); ^c valor da % de inibição do crescimento do parasita em macrófagos infetados a uma concentração de 5 µM; ^d o IC₅₀ do composto **21** em macrófagos infetados foi 0,06 µM (n = 2).



estes estão já estabelecidos, o que pode torná-los bons compostos líder para o desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos com mecanismos de ação originais, para serem usados isoladamente ou em tratamentos de combinação com outros fármacos, nas infecções mediadas por biofilmes. Além desta capacidade de afetar os biofilmes estabelecidos, que pressupõe a capacidade de se difundirem ao longo da matriz extrapolimérica que os reveste, os ácidos resínicos e seus derivados permeiam com alguma facilidade membranas celulares para afetar parasitas alojados no seio de células humanas infetadas.

Esta capacidade é imprescindível no desenvolvimento de novos fármacos antiprotozoários.

Face a esta evidência experimental e à conjugação de propriedades físico-químicas desejáveis à sua atividade, torna-se imperativo num futuro próximo direcionar esforços no sentido de elucidar os mecanismos de ação primários destes compostos. A breve antologia dos trabalhos aqui apresentados visa, assim, evidenciar as propriedades antimicrobianas excepcionais dos ácidos resínicos e seus derivados, que deverão ser úteis num contexto de procura de novos fármacos antibacterianos e/ou antiprotozoários, capazes de responder à crise provocada pela emergência da resistência aos atualmente existentes.

Referências

- [1] A. F. Feliciano, M. Grodaliza, M. A. Salinero, J. M. Miguel del Corral, *Planta Med.* **1993**, *58*, 485-490. DOI: 10.1055/s-2006-959744.
- [2] Tall oil rosin market - growth, trends, Covid-19 impact, and forecasts (2023-2028): mordorintelligence.com/industry-reports/tall-oil-rosin-market (acedido em 28/04/2023).
- [3] H. H. Zeiss, *Chem. Rev.* **1948**, *42*, 163-187. DOI: 10.1021/cr60131a004.
- [4] S. Sadhar, I. S. Found, C. N. Gray, D. Koh, K. Gardiner, *Ann. Occup. Hyg.* **1994**, *38*, 385-396. DOI: 10.1093/annhyg/38.4.385.
- [5] E. F. Anderson, *Econ. Botany* **1986**, *40*, 442-450. [jstor.org/stable/4254904](https://doi.org/10.1007/978-1-4254-9040-4).
- [6] N. K. Bhattarai, *Econ. Botany* **1992**, *46*, 257-261. [jstor.org/stable/4255441](https://doi.org/10.1007/978-1-4254-9040-4).
- [7] S. Savluchinske-Feio, M. J. M. Curto, B. Gigante, J. C. Roseiro, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2006**, *72*, 430-436. DOI: 10.1007/s00253-006-0517-0.
- [8] A. M. Downs, J. E. Sansom, *Contact Dermatitis* **1999**, *41*, 305-310. DOI: 10.1111/j.1600-0536.1999.tb06178.x.
- [9] T. Keira, Y. Aizawa, H. Karube, M. Niituya, S. Shinohara, A. Kuwashima, H. Harada, T. Takata, *Ind. Health* **1997**, *35*, 1-7. DOI: 10.2486/indhealth.35.1.
- [10] S. Kugler, P. Ossowicz, K. Malarczyk-Matusiak, E. Wierzbicka, *Molecules* **2019**, *24*, 1651. DOI: 10.3390/molecules24091651.
- [11] E. M. Davis, R. Croteau, "Cyclization Enzymes in the Biosynthesis of Monoterpenes, Sesquiterpenes, and Diterpenes", in F. J. Leeper, J. C. Vederas, (Eds.) "Biosynthesis. Topics in Current Chemistry", Springer, Berlin, Heidelberg, **2000**, vol. 209.
- [12] M. A. Gonzalez, *Nat. Prod. Rep.* **2015**, *32*, 684-704. DOI: 10.1039/C4NP00110A.
- [13] M. Hao, J. Xu, H. Wen, J. Du, S. Zhang, M. Lv, H. Xu, *Toxins* **2022**, *14*, 632. DOI: 10.3390/toxins14090632.
- [14] L. E. Kolsi, A. S. Leal, J. Yli-Kauhaluoma, K. T. Liby, V. M. Moreira, *Sci. Rep.* **2018**, *8*, 15923. DOI: 10.1038/s41598-018-34131-1.
- [15] T. J. Ahonen, J. R. Savinainen, J. Yli-Kauhaluoma, E. Kalso, J. T. Laitinen, V. M. Moreira, *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 1269-1273. DOI: 10.1021/acsmchemlett.8b00442.
- [16] J. J. Jokinen, A. Sipponen, *Adv. Wound Care* **2016**, *5*, 198-207. DOI: 10.1089/wound.2013.0492.
- [17] A. Sipponen, O. Kuokkanen, R. Tiihonen, H. Kauppinen, J. J. Jokinen, *Int. J. Dermatol.* **2012**, *51*, 726-32. DOI: 10.1111/j.1365-4632.2011.05397.x.
- [18] A. Sipponen, J. J. Jokinen, P. Sipponen, A. Papp, S. Sarna, J. Lohi, *British J. Dermatol.* **2008**, *158*, 1055-1062. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2008.08461.x.
- [19] T. A. Soderberg, R. Gref, S. Holm, T. Elmroost, G. Hallmans, *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.* **1990**, *24*, 199-205. DOI: 10.3109/02844319009041279.
- [20] T. A. Soderberg, S. Holm, H. Gref, G. Hallmans, *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg. Hand. Surg.* **1991**, *25*, 19-24. DOI: 10.3109/02844319109034918.
- [21] L. F. Leandro, M. J. O. Cardoso, S. D. C. Silva, M. G. M. Souza, R. C. S. Veneziani, S. R. Ambrosio, C. H. G. Martins, *J. Med. Microbiol.* **2014**, *63*, 16491653. DOI: 10.1099/jmm.0.081711-0.
- [22] E. Buommino, A. Vollaro, F. P. Nocera, F. Lembo, M. DellaGreca, L. De Martino, M. R. Catania, *Antibiotics* **2021**, *10*, 80. DOI: 10.3390/antibiotics10010080.
- [23] Antimicrobial Resistance Collaborators, *Lancet* **2022**, *399*, 629-655. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0.
- [24] D. Davies, *Nat. Rev. Drug. Discov.* **2003**, *2*, 114-122. DOI: 10.1038/nrd1008.
- [25] L. Hall-Stoodley, J. W. Costerton, P. Stoodley, *Nat. Rev. Microbiol.* **2004**, *2*, 95-108. DOI: 10.1038/nrmicro821.
- [26] T. Bjarnsholt, O. Ciofu, S. Molin, M. Givskov, N. Høiby, *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 791-808. DOI: 10.1038/nrd4000.
- [27] P. S. Stewart, *Int. J. Med. Microbiol.* **2002**, *292*, 107-13. DOI: 10.1078/1438-4221-00196.
- [28] P. Bowler, C. Murphy, R. Wolcott, *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* **2020**, *9*, 162. DOI: 10.1186/s13756-020-00830-6.
- [29] L. K. Vestby, T. Grønseth, R. Simm, L. L. Nesse, *Antibiotics* **2020**, *9*, 59. DOI: 10.3390/antibiotics9020059.
- [30] A. Fallarero, M. Skogman, J. Kujala, M. Rajaratnam, V. M. Moreira, J. Yli-Kauhaluoma, P. Vuorela, *Int. J. Mol. Sci.* **2013**, *14*, 12054-12072. DOI: 10.3390/ijms140612054.
- [31] S. Manner, M. Vahermo, M. E. Skogman, S. Krogerus, P. Vuorela, J. Yli-Kauhaluoma, A. Fallarero, V. M. Moreira, *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *102*, 68-79. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.07.038.
- [32] V. M. Moreira, M. Vahermo, A. Fallarero, J. Yli-Kauhaluoma, P. Vuorela, *Abietane-type diterpenoids*, WO 2016/051013 A1, **2016**. worldwide.espacenet.com/patent/search/family/053836116/publication/WO2016051013A1?q=WO%202016%2F051013%20A1.
- [33] I. Kolodkin-Gal, D. Romero, S. Cao, J. Clardy, R. Kolter, R. Losick, *Science* **2010**, *328*, 627-629. DOI: 10.1126/science.1188628.
- [34] A. Helfenstein, M. Vahermo, D. Nawrot, F. Demirci, G. İşcan, S. Krogerus, J. Yli-Kauhaluoma, V. M. Moreira, P. Tammela, *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 132-137. DOI: 10.1016/j.bmc.2016.10.019.
- [35] Y. Ito, T. Ito, K. Yamashiro, F. Mineshima, K. Hirai, K. Omori, T. Yamamoto, S. Takashi, *Odontology* **2020**, *108*, 57-65. DOI: 10.1007/s10266-019-00456-0.
- [36] M. Grayson, *Nature* **2010**, *465*, S4-S5. DOI: 10.1038/nature09220.
- [37] World Health Organization (WHO). Disponível em who.int/news-room/factsheets/detail/leishmaniasis (acedido em 24/03/2023).
- [38] World Health Organization (WHO). Disponível em who.int/news-room/factsheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis) (acedido em 24/03/2023).
- [39] A. H. Lopes, T. Souto-Pradón, F. A. Dias, M. T. Gomes, G. C. Rodrigues, L. T. Zimmermann, T. L. Alves e Silva, A. B. Vermelho, *Open Parasitol. J.* **2010**, *4*, 30-59. DOI: 10.2174/1874421401004010030.
- [40] M. P. Barrett, R. J. S. Burchmore, A. Stich, J. O. Lazzari, A. C. Frasca, J. J. Cazzulo, S. Krishna, *Lancet* **2003**, *362*, 1469-1480. DOI: 10.1016/S0140-6736(03)14694-6.
- [41] F. Frézard, C. Demicheli, R. R. Ribeiro, *Molecules* **2009**, *14*, 2317-2336. DOI: 10.3390/molecules14072317.
- [42] S. Sundar, T. K. Jha, C. P. Thakur, J. Engel, H. Sindermann, C. Fischer, K. Junge, A. Bryceson, J. Berman, *N. Engl. J. Med.* **2002**, *347*, 1739-1746. DOI: 10.1056/NEJMoa021556.
- [43] M. Vahermo, S. Krogerus, A. Nasereddin, M. Kaiser, R. Brun, C. L. Jaffe, J. Yli-Kauhaluoma, V. M. Moreira, *Med. Chem. Commun.* **2016**, *7*, 457-463. DOI: 10.1039/C5MD00498E.
- [44] M. Pirttimaa, A. Nasereddin, D. Kopelyanskiy, M. Kaiser, J. Yli-Kauhaluoma, K. M. Oksman-Caldentey, R. Brun, C. L. Jaffe, V. M. Moreira, S. Alakurtti, *J. Nat. Prod.* **2016**, *79*, 362-368. DOI: 10.1021/acs.jnatprod.5b00990.

>

Vânia M. Moreira

Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Portugal.

Faculdade de Farmácia, Universidade de Helsínquia, Finlândia.

É Professora Auxiliar na FFUC e Visiting Scholar da Universidade de Helsínquia, que lhe atribuiu o Título de "Dosentti", em 2015. É investigadora no Centro de Inovação em Biomedicina e Biotecnologia

(CIBB/CNC-UC) e colaboradora do Centro de Química de Coimbra (CQC). Desenvolve o seu trabalho de investigação na área da Química Medicinal. É membro permanente do comité do GP₂A (Group for the Promotion of Pharmaceutical Chemistry in Academia), desde 2019. vmoreira@ff.uc.pt
ORCID.org/0000-0001-6169-5035