



Faculdade  
de Ciências e Tecnologias  
da Saúde

# ***Artemisia annua* L. e *Cinchona* L.- Os seus princípios ativos nas estratégias de combate à malária**

Isa Rito Pereira

Monografia para grau de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

21 de outubro de 2014

Monografia realizada sob a orientação do Professor Doutor Amilcar Roberto



## Índice

Resumo	5
Abstract	6
Abreviaturas	7
Introdução	8
Malária	10
Ciclo de vida	10
Epidemiologia	11
Manifestações clínicas e diagnóstico	12
Profilaxia	13
<i>Artemisia annua</i> L.	15
Enquadramento histórico	15
Caracterização morfológica e química	18
Distribuição geográfica	18
Caracterização morfológica	18
Principais constituintes químicos	19
Estruturas químicas e propriedades biológicas da artemisinina e seus	
derivados	19
Atividade antimalárica	21
Farmacocinética e farmacodinâmia	23
Mecanismos de ação	23
Posologia e formulações	24
Ajustes de dose	24
Toxicidade	25
<i>Cinchona</i> L.	26
Enquadramento histórico	26
Caracterização morfológica e química	28
Distribuição geográfica	28
Caracterização morfológica	28
Principais constituintes químicos	29
Propriedades físico-químicas da quinina e quinidina	30
Atividade antimalárica	32

Farmacocinética e farmacodinâmia	33
Mecanismos de ação	33
Usos e posologia	34
Ajustes de dose	35
Toxicidade	35
Fármaco-resistências	36
Conclusão	40
Bibliografia	42

## Resumo

A malária é a doença parasitária mais preocupante da atualidade, sendo um grave problema de saúde pública, principalmente em África onde mata maioritariamente crianças com idade inferior a 5 anos.

As estratégias farmacoterapêuticas de combate à malária, baseiam-se principalmente nos fármacos derivados da artemisinina e em fármacos quinolínicos. A artemisinina e a quinina são fármacos provenientes das espécies vegetais, *Artemisia annua* L. e *Cinchona* L., respectivamente, e são conhecidos há muito tempo pela medicina tradicional.

Estas substâncias são as que têm maior importância no tratamento da malária não apresentando fármaco-resistências de larga escala, sendo que a quinina permanece eficaz, apesar de algumas perdas de susceptibilidade por parte do *Plasmodium*, e as artemisininas, nomeadamente os seus derivados semissintéticos artemeter, artesunato e dihidroartemisinina, apenas apresentam resistência no sudeste asiático. Desta forma é importante conhecer as características destes fármacos, de forma a perceber as vantagens que apresentam, para além da sua eficácia contra o parasita, caracterizando os seus mecanismos de acção, farmacodinâmica e cinética, posologia e toxicidade.

A perda de susceptibilidade e o aparecimento de fármaco-resistências constituem um desafio, pelo que é muito importante implementar medidas para que estas não surjam em grande escala, como o controlo do vector, bons métodos de diagnóstico, prevenção, uso correto das terapêuticas e maneiras de incentivar a adopção de todas estas medidas de forma eficaz pelos países.

Os princípios ativos antimaláricos da *Cinchona* L. e da *Artemisia annua* L. têm características importantes que devem ser utilizadas na procura e síntese de novos fármacos antimaláricos. A quinina permanece eficaz mesmo em estirpes de *Plasmodium* resistentes, e têm sido desenvolvidos trabalhos de investigação de modo a justificar esta eficácia, já que grande parte dos fármacos quinolínicos, como a cloroquina e a mefloquina, apresentam fármaco-resistências. Esta eficácia da quinina poderá estar relacionada com o seu grupo substituinte mais complexo, comparativamente ao grupo substituinte da cloroquina. As artemisininas têm sido utilizadas como modelo no desenvolvimento de novos fármacos. A sua ponte endoperoxida, considerada a grande responsável pelo efeito antimalárico, foi utilizada como base na criação de potenciais fármacos, como o arterolano.

## **Abstract**

Malaria is the most worrying parasitic disease and represents a serious public health problem, especially in Africa where it kills mostly children under five years old.

The pharmacotherapeutic strategies to prevent and treat malaria are mainly based on artemisinin derivatives and quinoline drugs. Both quinine and artemisinin are obtained from vegetal species, *Artemisia annua* L. and *Cinchona* L., and their use is known a long time ago by traditional medicine.

These substances have major importance in the treatment of malaria because they don't exhibit a long scale drug-resistance, as quinine remains effective despite some loss of sensitivity and artemisinins, including artemether, dihydroartemisinin and artesunate, only show resistance in Southeast Asia. Thus it is important to know the characteristics of these two agents in order to realize their advantages, beyond its anti-parasitic effect, realizing their mechanisms of action, pharmacodynamics and kinetics, toxicity and dosage.

The loss of susceptibility and the emergence of drug-resistance in these drugs represent a challenge, so it is very important to be aware of the strategies to adopt in order to not arise them on a large scale. Some of these measures include vector controlling, good methods of diagnosis, prevention, correctly using therapeutics and encouragement to implement effectively all of these measures.

The antimalarial drugs of *Cinchona* L. and *Artemisia annua* L. have important features that shall be used when searching and synthesizing new antimalarial drugs. Quinine remains effective even against resistant strains of *Plasmodium*, and has been researched in order to justify this, since much of quinoline drugs present drug-resistance. This efficacy can be related to its more complex substituent group, compared to the chloroquine's one. Artemisinins have been used as a model for the development of new drugs. Its endoperoxide bridge, which is considered the main feature for its antimalarial effect, has been used in the creation of new potential drugs such as artemolane.

## Abreviaturas

ACT- Artemisinin-based combination therapy

AQ- Amodiaquina

ATB- Quinacrina

CQ- Cloroquina

DHA- Dihidroartemisinina

DPT- Diphtheria–pertussis-tetanus

FDA- Food and Drug Administration

IM- Intramuscular

IV-Intravenoso

MDAQ- Monodesacetil-amodiaquina

MVI- Malaria Vaccine Initiative

OMS- Organização Mundial de Saúde

ONU- Organização das Nações Unidas

PQ- Primaquina

QN- Quinina

SP- Sulfadoxine-pirimetamine

## Introdução

A malária é a mais importante doença parasitária do mundo, tendo provocado cerca de 627 mil mortes em 2012. Destas mortes a grande maioria corresponde a crianças africanas com idade inferior a 5 anos, o que indica em média a morte de 1300 crianças por dia. (WHO, 2013)

Cerca de 100 países no mundo têm malária endémica, metade dos quais são africanos, a sul do deserto do Saara. Na América do norte, Europa e Rússia esta doença foi erradicada, apesar do seu ressurgimento em países tropicais. Este ressurgimento prende-se com o aparecimento de fármaco-resistências, o que torna crucial a adopção de novas estratégias de controlo, prevenção e tratamento. Estas resistências surgiram ao longo do século XX, principalmente por parte do *Plasmodium falciparum*, espécie mais virulenta e com maior responsabilidade pelas mortes por malária. (WHO, 2014)

Houve assim a necessidade de adoptar novas estratégias de tratamento, nomeadamente com novos fármacos como os derivados semissintéticos das artemisininas, artemeter, artesunato e dihidroartemisinina, obtidos a partir de uma das plantas em estudo, a *Artemisia annua* L.. As novas estratégias de tratamento da Organização Mundial de Saúde (OMS), para a malária não severa, pressupõem uma terapia combinada com as artemisininas (ACT) com outros fármacos antimaláricos. Esta nova estratégia começou a ser implementada em 2006, tendo vindo a diminuir os casos de malária e a aumentar o sucesso do tratamento. (WHO, 2006-1) Esta medida surge devido às resistências, principalmente do *Plasmodium falciparum*, a fármacos outrora usados isoladamente como a cloroquina, cuja resistência surge na década de 50, a combinação sulfadoxina-pirimetamina(SP) e mais tarde na década de 80 a mefloquina. (Tu, Y., 2011)

De realçar que a quinina, apesar do seu uso prolongado, não apresenta comprometido o seu efeito, sendo igualmente eficaz apesar de alguns estudos apresentarem uma descida de sensibilidade ou até casos de resistência pontual. (WHO, 2006-1) A quinina, é um composto obtido da *Cinchona* L. a segunda espécie vegetal em estudo neste trabalho. Também já foram identificadas resistências às artemisininas por parte do *P.falciparum*, que devem ser alvo de atenção, sendo urgente a aderência dos países mais endémicos às estratégias da OMS. (WHO, 2013)

Assim os fármacos antimaláricos com maior interesse são as artemisininas e as quininas, já que ainda não apresentam demasiadas resistências, sendo que a sua utilização

deve ser feita com base numa estratégia que vise a manutenção da sua eficácia e sensibilidade por parte das várias espécies de *Plasmodium*, principalmente do *P.falciparum*.

É então pertinente o conhecimento das espécies vegetais, *Artemisia annua* L. e *Cinchona* L., que têm a capacidade de dar origem aos fármacos antimaláricos com interesse para integrar as estratégias que visam diminuir a incidência e gravidade da malária.

## Malária

### Ciclo de vida

A malária é uma doença causada por protozoários parasitários do género *Plasmodium*, das quais as espécies *falciparum* e *vivax* são as mais infectantes e as principais causadoras da doença, existindo ainda as espécies *ovale* e *malariae*. Quase todas as mortes por malária são causadas por *P.falciparum*. (Brunton et al., 2010)

Este parasita humano unicelular afecta os eritrócitos e o seu ciclo de vida é caracterizado por duas fases reprodutivas, sexuada, no vector que é o mosquito *Anopheles*,

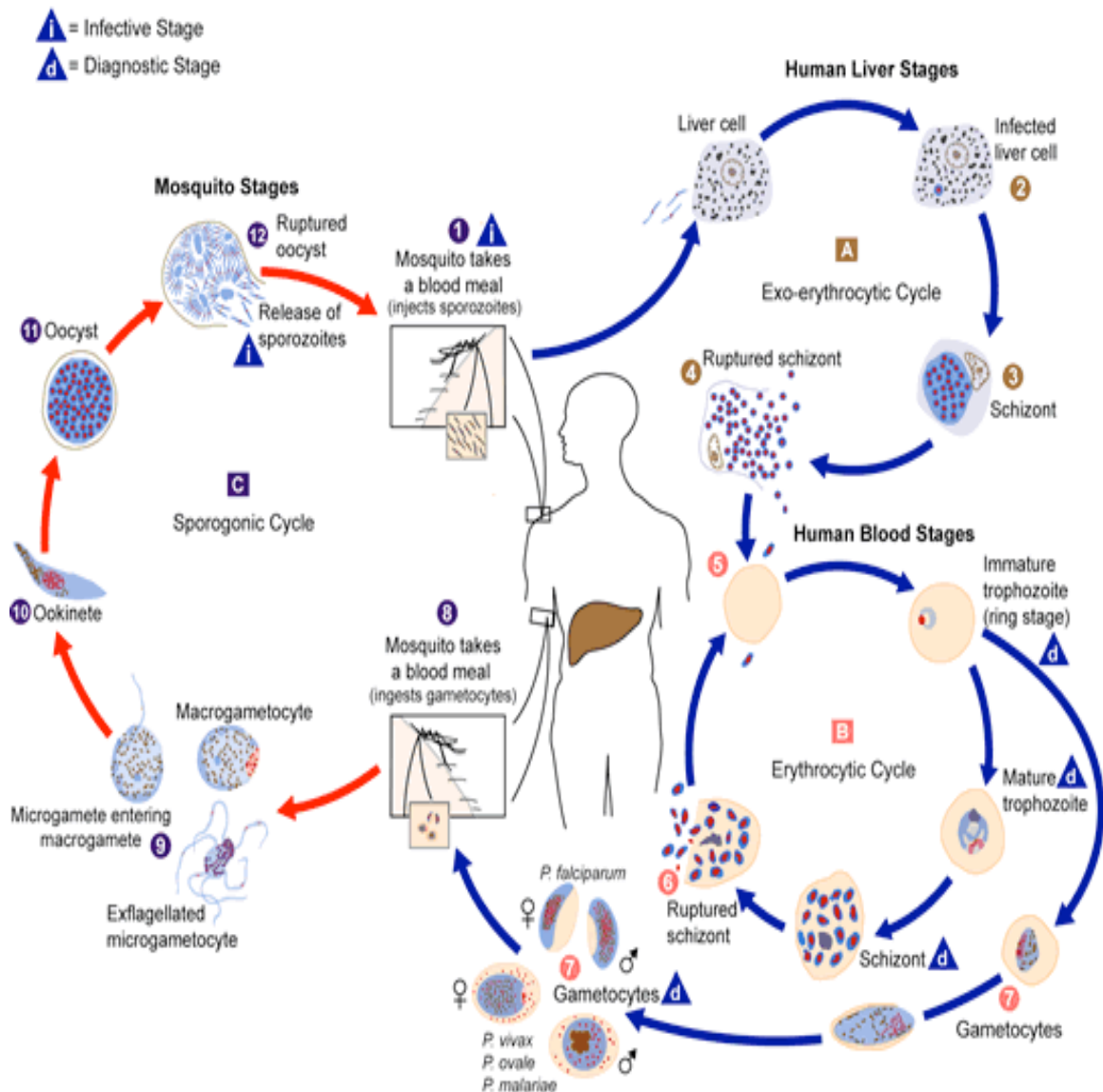


Figura 1- ciclo de vida do parasita causador da malária, género *Plasmodium*

Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC-1). Malaria. Biology. Consultado em junho de 2014 em: [www.cdc.gov/malaria/about/biology/](http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/)

e assexuada no humano. A infestação humana inicia-se quando uma fêmea inocula, na corrente sanguínea do indivíduo, esporozoítos das suas glândulas salivares aquando da picada, para sugar o sangue do indivíduo. Estes são levados pelo sangue, num período que não excede as 2 horas, para o fígado, onde se instalam nas células do parênquima hepático e se começam a reproduzir assexuadamente. (CDC-1) Este processo é tão rápido que normalmente após 30 minutos já não há parasitas na corrente sanguínea. (França et al., 2008)

Desta forma, e durante cerca de 15 dias, um único esporozoíto produz vários milhares de merozoítos-filhos, por reprodução assexuada, no que é chamada a fase hepática do parasita. As células hepáticas inchadas acabam por eclodir, eliminando e lançando estes merozoítos na corrente sanguínea, iniciando a parasitémia. (Isselbacher et al., 1994)

Na corrente sanguínea os merozoítos afectam rapidamente os eritrócitos, depositando-se nestas células onde se reproduzem. No final de um ciclo de 48 horas o parasita multiplicou-se tanto que ocupa a maior parte do eritrócito. Assim o eritrócito acaba por romper libertando 6 a 32 merozoítos-filhos, com a mesma capacidade de infecção a outro eritrócito e prontos a repetir o ciclo. (CDC-1) Esta fase eritrocitrócítica varia na sua duração consoante a espécie de parasita, sendo de 72 horas para a espécie *P. malariae* e de 48 horas nas restantes. Alguns merozoítos infestam eritrócitos com o objectivo de desenvolver gametócitos masculinos ou femininos que poderão ser ingeridos, no momento da picada, pelo vector, propagando assim a infestação, iniciando-se um novo ciclo. (Isselbacher et al., 1994)

### **Epidemiologia**

Os principais factores epidemiológicos determinantes da malária são a constituição imunológica e genética da população, as espécies de parasitas e mosquitos na comunidade, o nível de precipitação, a temperatura, o uso de agentes antimaláricos e a aplicação de outras medidas de controlo que visam diminuir a transmissão. (WHO, 2013)

Os mosquitos *Anopheles* são sensíveis à temperatura e à humidade, desta forma o nível de precipitação, altitude e temperatura determinam a quantidade de vectores e assim a probabilidade de transmissão da malária. As regiões onde a temperatura se encontre entre os 20 e os 30°C e com humidade atmosférica superior aos 60% são propensas à existência de populações de mosquitos que transmitam malária, e consequentemente estas são as

regiões mais endêmicas.(Baird et al., 2002)

A infeciosidade de um mosquito também vai depender da existência de uma população endêmica, sendo que é necessária a existência de um numero suficiente de humanos infectados que possam passar os gametócitos de *Plasmodium* para o vector, *Anopheles*. Nos Estados Unidos da América, existem condições climáticas propensas à existência de uma população sazonal de mosquitos, porém a infeciosidade dessa população de mosquitos é praticamente nula devido à rara existência de humanos infectados.(Baird et al, 2002)

As áreas endêmicas correspondem assim a regiões tropicais e subtropicais, pobres, onde a escassez de recursos e a instabilidade socioeconômica impedem um eficaz controlo da doença.(CDC-2)

Para além da temperatura e humidade, factores como à percentagem de pessoas com baço palpável em determinada população, o período de prevalência da doença, a taxa de gametócitos, correspondendo à prevalência de gametocitemia e a incidência anual de parasitas também são medidas usadas para estimar o de risco de malária.(Baird et al., 2002)

### **Manifestações clínicas e diagnóstico**

Os primeiros sinais e sintomas da malária não complicada são semelhantes aos de uma virose pouco grave, sendo por isso inespecíficos. Incluem o mal-estar, cefaleias, fadiga, desconforto abdominal e dores musculares, seguidos de febre e calafrios. Estes sintomas estão relacionados com a fase eritrocítica, onde há uma ruptura de eritrócitos sincronizada. Em adultos e crianças não imunes são comuns náuseas, vômitos e hipotensão ortostática. Há também anemia leve e alguns casos de baço palpável, característico da ativação dos mecanismos de defesa. (WHO, 2013)

Quando estes sintomas não-específicos da malária são localizados em zonas endêmicas, é imediatamente iniciado o tratamento, sendo que muitas vezes a malária é sobre-diagnosticada, com base apenas nestes sintomas. Na malária não complicada não há sintomatologia associada a disfunções severas nos órgãos vitais. (WHO, 2013)

A malária grave, que ocorre quando não há identificação dos sintomas iniciais, ou quando há fármaco-resistência, caracteriza-se por um coma profundo, também denominado de malária cerebral. É caracterizada por anemia normocítica, insuficiência renal aguda ou edema pulmonar agudo, hipoglicemia, hipotensão, hemorragia, coagulação intravascular,

convulsões, acidemia, hemoglobinúria, hiperparasitemia, icterícia e hiperpirexia. (Isselbacher et al., 1994)

Em caso de diagnóstico ou suspeita de malária, a estratégia da OMS varia consoante as características epidemiológicas em causa. Em zonas endémicas, com elevado risco de malária, são considerados para o tratamento casos de febre durante 24 horas ou casos de anemia. Já em situações em que o risco de malária é baixo procede-se ao diagnóstico em doentes que tenham tido febre nas últimas 72 horas, sem outros comprometimentos de saúde, e que tenham grande probabilidade de terem estado expostos ao parasita. (WHO, 2013)

Idealmente seria sempre feito um diagnóstico do parasita em causa, de modo a confirmar a doença e a especificar o tratamento, porém este não é possível em muitas das zonas endémicas o que aumenta o risco de sobre-tratamento. Ao diagnosticar casos de malária deve-se ter em conta a probabilidade de exposição ao agente etiológico e sempre que possível só iniciar a terapêutica após uma identificação parasitológica própria. (WHO, 2013)

### **Profilaxia**

A OMS recomenda a quimioterapia de prevenção da malária em grupos alvo, que possam estar em risco de contrair a doença. Destes grupos destacam-se as grávidas, nas quais a profilaxia é feita com sulfadoxina-pirimetamina(SP), depois do 1º trimestre de gravidez, nos países cujo risco de malária é moderado a alto. (WHO, 2013)

As crianças em idade infantil destas áreas também são englobadas nesta estratégia de prevenção, sendo recomendada a toma de uma dose de SP concomitantemente com as vacinas do sarampo e as vacinas combinadas contra o tétano, difteria e pertússis, DPT2 e DPT3 (Diphtheria–Pertussis-Tetanus), durante o processo de imunização estipulado no 1º ano de vida. (WHO, 2013)

É também recomendada a quimioterapia preventiva nos meses de maior probabilidade de contrair malária, pela administração de regimes de tratamento completos, mantendo durante esses meses de maior risco, níveis satisfatórios de antimaláricos no sangue. Esta prevenção é particularmente importante em crianças, mas foi alargada aos adultos. (WHO, 2013)

A imunização contra a malária através de vacinas, é também um objetivo da OMS e

apesar de ainda não existir nenhuma vacina aprovada para o efeito, existem algumas candidatas, nomeadamente a vacina RTS,S/AS01, que já se encontra em ensaios clínicos do tipo 3, promovidos pela GlaxoSmithKline e a “ Malaria Vaccine initiative” (MVI), e cujos fundos de investigação provém da Bill & Melinda Gates Foundation. (WHO, 2013)

Para os viajantes com destino a países com malária endémica é recomendada a profilaxia da malária com cloroquina, para países com malária não resistente à cloroquina, mefloquina, para países da África subsaariana com estirpes maioritariamente resistentes à cloroquina, doxiciclina, para viajantes impedidos de tomar cloroquina ou mefloquina e para países com malária multirresistente, atovaquone associado ao proguanil. (Harvard health guide)

## *Artemisia annua* L.

### Enquadramento histórico

A *Artemisia annua* L. é usada na medicina tradicional chinesa há mais de 2000 anos, no tratamento de várias doenças, entre as quais a malária. Foi precisamente a necessidade de novos medicamentos para o tratamento desta doença que suscitou o interesse na *Artemisia annua* L. pela comunidade científica ocidental, depois das tentativas internacionais de irradicação da malária falharem nos anos 50. À medida que surgiam parasitas resistentes aos fármacos antimaláricos utilizados na altura, nomeadamente a cloroquina, tornava-se urgente e necessária a descoberta de alternativas terapêuticas para o tratamento desta doença. (Sá et al, 2011)

Em 1967, a China desenvolveu um projeto nacional contra a malária, com investigadores das áreas da farmacologia e da fitoquímica, denominado “project 523”. Deste projeto de investigação resultou a obtenção, em 1971, de um extrato neutro, obtido das folhas frescas de *Artemisia annua* L., que se mostrou 100% eficaz contra a parasitemia em ratos infectados com *Plasmodium berghei* e em macacos infectados com *Plasmodium cynomolgi*. Este marco foi um dos principais avanços para a descoberta da artemisinina. (Tu, Y., 2011)

Apesar das dificuldades em desenvolver ensaios clínicos, este grupo de investigadores conseguiu desenvolver um ensaio na província de Hainan na China. Os resultados mostraram-se altamente satisfatórios e desafiantes, já que em doentes infectados com *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum*, ocorreu um rápido decréscimo da parasitemia e de sintomas associados como a febre, em comparação com os resultados da cloroquina cujos sintomas permaneceram. (Tu, Y., 2011)

Depois da obtenção destes resultados seguiu-se o isolamento e purificação dos princípios ativos presentes na *Artemisia*, dos quais resultaram em 1972, na descoberta da artemisinina, ou Qinghaosu. Assim, obtido o princípio ativo, seguiu-se o processo de desenvolvimento do fármaco propriamente dito. (Tu, Y., 2011)

Para a produção do fármaco à escala industrial foi então identificada pelo mesmo grupo de investigadores, a planta do género *Artemisia* com maior concentração de artemisinina, a *Artemisia annua* L. proveniente de Sichuan. Para além disto foram testadas várias formas farmacêuticas das quais apenas as cápsulas de artemisinina pura mostraram

ter eficácia clínica. (Tu, Y., 2011)

Em 1977 foi publicada a estrutura da artemisinina, e imediatamente citada pelo Chemical Abstracts Service, assim como a sua monografia. Em termos estruturais a artemisinina é uma lactona sesquiterpênica isolada das folhas de *Artemisia annua* L., que contém na sua estrutura uma porção endoperóxido, à qual é atribuída a sua atividade antimalárica. (Tu, Y., 2011)

Em 1979 foi emitido, pelo comité nacional chinês da ciência e tecnologia, um certificado que reconhecia a descoberta da artemisinina e a sua eficácia como antimalárico.

Seguidamente, em Pequim, no ano de 1981, deu-se o 4º encontro do grupo de investigação científica de quimioterapia da malária, patrocinado pelo programa de desenvolvimento da ONU e OMS, onde foram apresentados vários estudos relacionados com a artemisinina e a sua importância como antimalárico. A resposta a estas apresentações e evidência clínica suscitaram interesse internacional na artemisinina na década de 80. (Tu, Y., 2011)

Dado o crescente interesse na molécula pela comunidade internacional, continuou a investigação e aperfeiçoamento deste princípio ativo. Assim, enquanto ocorria a avaliação dos componentes e características da artemisinina, descobriu-se que adicionando um grupo hidroxilo à molécula esta apresentava maior estabilidade e tornava-se mais eficaz. Surge assim a dihidroartemisinina, e desenvolveu-se um novo fármaco com a molécula alterada. Foi também nesta fase que surgiram o artesunato e o artemeter, entre outros derivados que integram o grupo das artemisininas. (WHO, 2006-1)

Com a deterioração da situação da malária em África, surgiu uma maior urgência da OMS na alteração dos regimes terapêuticos antimaláricos, sendo que 90% da mortalidade associada à malária ocorre em África, e que a grande maioria das mortes corresponde a crianças menores de 5 anos. Esta elevada taxa de mortalidade e grande morbilidade associadas à malária relaciona-se com a multirresistência dos parasitas *Plasmodium falciparum* aos fármacos usados na altura, cloroquina, sulfadoxina-pirimetamina e amodiaquina. (WHO, 2006-1)

Assim em 2001 a OMS sugeria, a todos os países com malária multirresistente, o uso de terapia combinada com artemisininas (ACT) substituindo a monoterapia usada até então, preferencialmente por um derivado da artemisinina em combinação com os usuais fármacos antimaláricos. Cresce assim a procura por fármacos com esta molécula e uma necessidade acrescida de produtos com derivados da artemisinina. (WHO, 2006-1)

Em 2005, a OMS anunciou a substituição de estratégia até então usada para o tratamento da malária para a ACT que é atualmente usada em larga escala. A magnitude da infecção, segundo a OMS, correspondia em 2010 a 219 milhões de casos por ano, resultando na morte de 600 000 pessoas, sendo uma das doenças que merecem mais preocupação e atenção. Apesar das recomendações da OMS para o tratamento da malária em 2006 já referirem as artemisininas como fármacos de 1ª linha, só em 2009 é que o seu uso clínico foi aprovado pela FDA. (WHO, 2006-1; FDA, 2009)

A descoberta da artemisinina foi assim, uma das mais importantes descobertas para a medicina, na última metade do século XX. Com a comprovação da eficácia clínica deste composto surge um interesse crescente nas 350 espécies de *Artemisia*. (Nageed et al, 2013)

## Caracterização morfológica e química

### Distribuição geográfica

A *Artemisia annua* L. pertence à família *Asteraceae* e é vulgarmente conhecida como Erva-de-São-João, sweet-wormwood, annual-wormwood e qinghao.

Originária da China, encontra-se amplamente distribuída no mundo em climas temperados, temperados frios e subtropicais. Geograficamente, é cultivada no sul e norte da Europa, e no norte, interior e este da Ásia. Pode também ser encontrada na região do mediterrâneo e em países do norte de África, assim como no sul e sudoeste asiáticos. Foi também introduzida na América do norte, sendo agora amplamente cultivada no Canadá e EUA. (WHO, 2006-2)

Atualmente, os países que produzem esta planta em grande escala são a China, o Kenya, a Tanzânia e o Vietnam, e em menor escala outros países africanos, sul americanos e do sul da Europa. Contudo a *Artemisia annua* L. usada para fins industriais é maioritariamente selvagem. (WHO, 2006-2)

### Caracterização morfológica

A *Artemisia annua* L. é uma planta anual, muito aromática e mede em média 2 metros de altura. É alvo de polinização cruzada pelo vento ou insectos. Tem um caule único, ramos alternados e folhas alternadas. Apresenta grandes cachos de flores amarelas e folhas pinatissectas que desaparecem depois do período de floração. (Ferreira, J., 1995)



Figura 2- flores de *Artemisia annua* L.

Fonte: Royal Botanic Gardens. Economic botany collection: *A short story of Cinchona*. Consultado em Julho de 2014, em: [www.kew.org/collections/ecbot/collections/topic/cinchona/a-short-history-of-cinchona/index.html](http://www.kew.org/collections/ecbot/collections/topic/cinchona/a-short-history-of-cinchona/index.html)

## Principais constituintes químicos

Os constituintes desta planta podem ser divididos entre substâncias não voláteis e substâncias voláteis. As principais substâncias não-voláteis encontradas são os sesquiterpenoides, flavonoides, cumarinas, e também proteínas, como a  $\beta$ -galactosidase e  $\beta$ -glucosidase, e esteroides, como o  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol. (WHO, 2006-2)

Relativamente às substâncias voláteis, estas encontram-se nos óleos essenciais. Os óleos essenciais têm na sua composição 70% de substâncias voláteis como o canfeno,  $\beta$ -canfeno, cetona isoartemisia, cânfora,  $\beta$ -cariofileno e  $\beta$ -pineno. Numa quantidade menor estão ainda substâncias voláteis como a cetona artemísia, 1,8-cineol, hidrato de canfeno e o cuminal, também encontradas nas partes voláteis da *artemisia annua* L. (WHO, 2006-2)

As principais substâncias com interesse farmacológico encontradas na *Artemisia annua* L. são os sesquiterpenoides, incluindo a artemisinina, artemisinina I, artemisinina II, artemisinina III, artemisinina IV, artemisinina V, ácido artemisinico, artemisinol e ácido epoxiarteanuínico. Assim, como as artemisininas são as substâncias com maior valor clínico provenientes da *Artemisia annua* L., houve um crescente interesse nas mesmas, surgindo derivados semissintéticos com o objectivo de melhorar a sua farmacocinética e farmacodinâmica, resultando numa maior potência do fármaco, sem que haja uma maior toxicidade. Desta forma foi possível que os derivados da artemisinina, chegassem à 1ª linha de tratamento da malária. Os principais derivados da artemisinina usados no tratamento da malária são então o artesunato, artemeter e dihidroartemisinina. (Manson et al, 2009)

## Estruturas químicas e propriedades biológicas da artemisinina e seus derivados

### Artemisinina

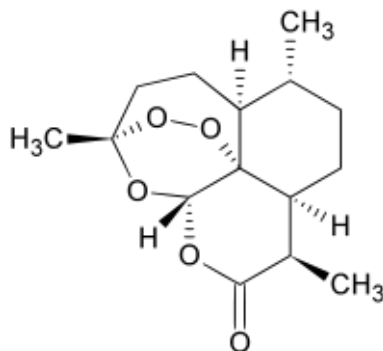


Figura 3- estrutura química da artemisinina

Artemeter

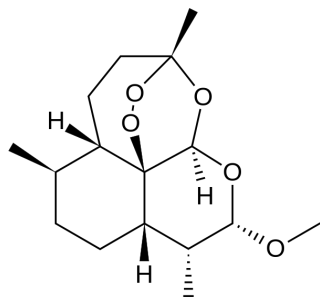


Figura 4- estrutura química do artemeter

Artesunato

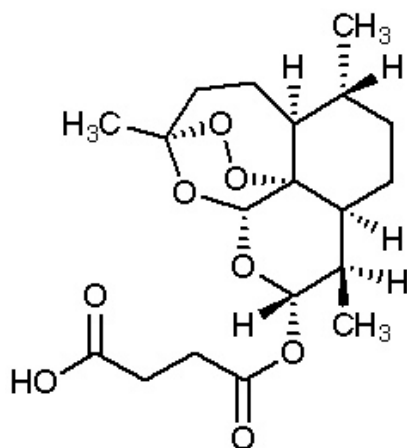


Figura 5- estrutura química do artesunato

Dihidroartemisinina

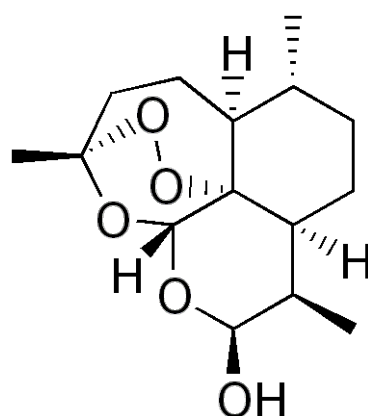


Figura 6- estrutura química da dihidroartemisinina

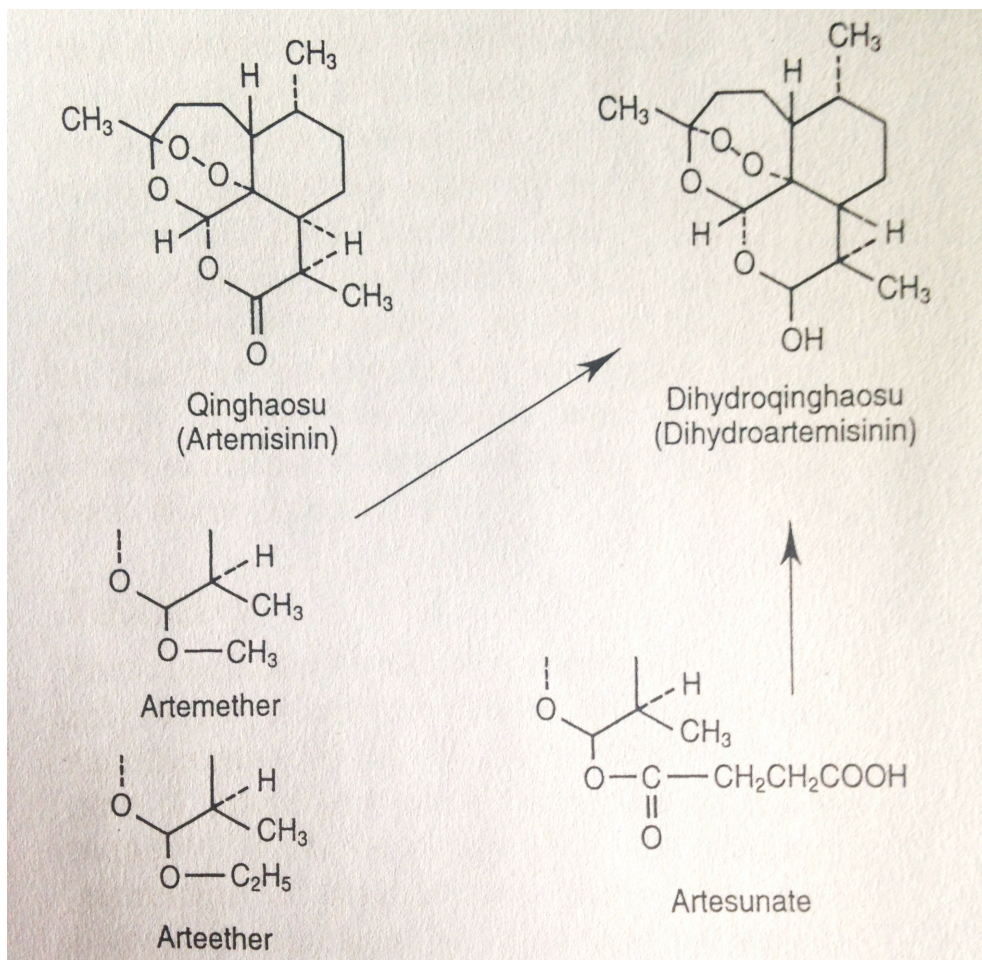


Figura 7- a artemisinina e os seus 3 derivados principais, tanto o artemeter como o artesunato são biologicamente metabolizados em dihidroartemisinina.

Fonte: Manson, Sir Patrick; Cook, G.C; Zumla, A.(2009): *Epidemiology of Disease in the Tropics; Malaria; The antimalarial drugs. Manson's tropical diseases.*

### Atividade antimalárica

As artemisininas, derivados semissintéticos da artemisinina, mostraram ter características farmacodinâmicas e farmacocinéticas favoráveis e eficácia na eliminação dos parasitas *Plasmodium* trazendo muitas expectativas face a esta recente classe de fármacos antimaláricos. (WHO, 2006-1; White, 2008) Quando em 2006 foram integradas na primeira linha de tratamento da malária pela OMS, sempre em combinação com outros fármacos antimaláricos, considerou-se que não havia inferioridade relativamente às outras alternativas terapêuticas usadas. (WHO, 2006-1; Krishnaa, 2008)

Os seus derivados mais recentes, artesunato, artemeter e dihidroartemisinina, produzem uma muito mais rápida diminuição da parasitemia relativamente aos outros fármacos antimaláricos, com redução do número de parasitas no sangue num factor de 10 000 em cada ciclo assexuado, e são seguras relativamente à toxicidade. (Manson et al, 2009; White, 2008)

As artemisininas apresentam uma semi-vida curta com rápido início de ação, por isso, devem ser combinadas com um fármaco de semi-vida longa. Assim, o fármaco a combinar com as artemisininas permitirá a remoção dos parasitas que sobrevivam após os três dias de tratamento, correspondendo a uma população muito menor do que no início da terapêutica. (Manson et al, 2009)

Com a administração das artemisininas, nota-se uma rápida descida da febre e uma absorção mais facilitada dos outros fármacos pertencentes à terapia combinada. A administração de uma terapia combinada evita o aparecimento de resistências aos fármacos e diminui o armazenamento de gametócitos. Com a diminuição do número de gametócitos no sangue devida ao uso das artemisininas, há uma redução da infeciosidade dos doentes, reduzindo a probabilidade de transmissão da doença. (Manson et al, 2009) Em ensaios clínicos com casos de malária não complicada as artemisininas mostraram melhores resultados comparativamente aos outros fármacos antimaláricos, porém é importante combiná-los pelas razões acima referidas. (WHO, 2006-1; Krishnaa et al, 2008)

As opções de ACT recomendadas para o tratamento da malária não complicada por *P.falciparum* são, artemeter com lumefantrina, artesunato com amodiaquina, artesunato com mefloquina, artesunato com sulfadoxina-pirimetamina(SP) e ainda dihidroartemisinina(DHA) com piperquina, uma nova combinação como tratamento de primeira linha da malária por *P.falciparum* não complicada. (WHO, 2013)

Apesar de existirem algumas diferenças na absorção oral e biodisponibilidade entre os vários derivados das artemisininas, estas não mostraram ser clinicamente significativas. São as propriedades do 2º fármaco da ACT que determinam a eficácia e a escolha dessa combinação. Como é de esperar, a fármaco-resistência ao 2º fármaco das ACT compromete a eficácia da terapia. Assim, a escolha da ACT depende da região ou país e das resistências aos fármacos combinados aí verificadas. (WHO, 2013)

## **Farmacocinética e farmacodinâmia**

Os derivados das artemisininas são rapidamente absorvidos e eliminados. O artesunato e o artemeter são hidrolisados no metabolito ativo que é a dihidroartemisinina (DHA), cujo tempo de semi-vida corresponde a 45 minutos. Assim, são os fármacos antimaláricos de mais rápida eliminação apesar de serem altamente eficazes quando administrados uma vez por dia. (WHO, 2013; Sousa et al, 2008)

Por administração oral ou parentérica o artesunato é rapidamente hidrolisado, pelo ácido gástrico e pelas estereases do plasma e eritrócitos, sendo o seu metabolito DHA o responsável maioritário pela atividade antimalárica. A absorção oral é rápida e a sua biodisponibilidade corresponde a 60%, sendo que a biodisponibilidade rectal é mais variável, correspondendo a uma média de 50%, com uma velocidade de absorção mais variável. (WHO, 2013; Manson et al, 2009; Morris et al., 2011)

O artemeter também é absorvido rapidamente por via oral, mas é convertido em DHA mais lentamente, via CYP3A4. Quando administrado por via intramuscular a sua absorção é lenta e imprevisível, não se atingindo os picos de concentração durante varias horas. (WHO, 2013; Manson et al, 2009; Silamut et al, 2003)

As formulações orais de DHA contêm excipientes que promovem a sua absorção e aumentam a sua biodisponibilidade comparativamente ao artesunato. A eliminação do DHA ocorre maioritariamente pela conversão deste em glucoronidos inativos. (WHO, 2013)

## **Mecanismos de acção**

Relativamente ao mecanismo de acção, ainda não há um conhecimento pleno do mesmo, apesar das artemisininas já serem usadas há alguns anos. Porém, considera-se que a ponte endoperoxídica, comum à artemisinina e aos seus derivados, possa ser a componente estrutural responsável pelo seu mecanismo de acção. (Brunton et al, 2010; França et al, 2008) A redução desta ponte pelo grupo heme intraparasitário, pelo ferro iónico, ou a sua protonação conduz à formação de radicais de oxigénio provocando a morte do parasita. Contudo existem estudos que apesar de referirem a ponte endoperoxídica como essencial, ao efeito antimalárico das artemisininas, indicam que esta não é suficiente para a atividade antimalárica, considerando-se que o mecanismo de acção também possa estar

relacionado com outros alvos como a cadeia mitocondrial, quando há despolarização da membrana mitocondrial do parasita, (White, N.,2008; Golenser et al, 2006; Krishnaa et al, 2006; O'neill et al, 2010) e com o reticulo sarco-endoplasmático  $Ca^{2+}$ - ATPase (SERCA) codificado pelo gene *pfatp6*. (Eckstein-Ludwig et al, 2003; O'neill et al, 2010)

### **Posologia e formulações**

A posologia das artemisininas, varia consoante o derivado usado e a forma farmacêutica, que pode ser oral, rectal, intramuscular (IM) e intravenoso (IV). Os derivados da artemisinina estão disponíveis em várias formas farmacêuticas. O artemeter é formulado em óleo de amendoim para uso IM e em cápsulas e comprimidos para uso oral. O artesunato encontra-se formulado em comprimidos, veiculados num gel envolvido por gelatina para uso rectal, rectocap, ou como pó de ácido artesúnicico para via IV acompanhado de uma ampola de bicarbonato de sódio a 5%. (WHO, 2013)

Como são usadas em terapias combinadas, as artemisininas variam a sua dose consoante a ACT utilizada, sendo recomendadas combinações de artemeter com lumefantrina, artesunato com amodiaquina, artesunato com mefloquina, artesunato com SP e DHA com piperquina. Alguns destes ACT podem estar comprometidos devido à existência do segundo fármaco em monoterapia como é o caso da amodiaquina. (WHO, 2013)

Por via oral, quando usados isoladamente, os derivados da artemisinina devem ser tomados num período de 7 dias, preferencialmente combinados com doxiciclina, tetraciclina ou clindamicina. Esta combinação está reservada a situações específicas, quando há falhas no tratamento por ACT. (WHO, 2013)

O uso do artesunato na malária severa corresponde normalmente a injeções IV ou IM. O artemeter é normalmente administrado por injeção IM e os supositórios de artemisininas são muito eficazes mas apenas estão disponibilizados no Vietnam. O rectocap de artesunato é utilizado até se poder trocar para terapia oral ou parentérica. (WHO, 2013)

### **Ajustes de dose**

Não são necessários ajustes de dose em casos de insuficiência renal ou hepática. Os derivados da artemisininas mostraram-se seguros em crianças e estudos demonstram não terem efeitos teratogénicos, sendo seguros na gravidez. Estes fármacos devem então

ser usados em casos de malária severa na gravidez, em qualquer período gestacional, mostrando-se mais seguros que a quinina. Em grávidas com malária não complicada, em zonas endémicas onde haja múltipla resistência aos antimaláricos, recomenda-se o uso das artemisininas no 2º e 3º trimestres da gravidez e da quinina no 1º. (WHO, 2013)

### **Toxicidade**

Os derivados das artemisinina foram muito bem tolerados nas várias avaliações clínicas a que foram submetidos, não estando documentada uma toxicidade associada relevante, a não ser casos de hipersensibilidade. Em ensaios com animais foi referida alguma neurotoxicidade e cardiotoxicidade, contudo os efeitos tóxicos para os humanos estão pouco investigados, e precisam de uma melhor abordagem em termos de investigação. (WHO, 2013; Manson et al, 2009) Foram identificados efeitos neuroauditivos em crianças, menores que 5 anos, que utilizavam ACT's em doses elevadas e durante um grande período de tempo. (Ramos-Martín et al, 2014)

Num estudo efectuado com cães verificou-se que o uso artesunato provocava uma diminuição da frequência cardíaca, evidenciando efeitos tóxicos para o sistema cardiovascular, e também uma diminuição do valor de contagem dos glóbulos vermelhos, relacionada com a inibição da eritropoiese na medula óssea. O uso de artemeter demonstrou os mesmos efeitos tóxicos referidos para o artesunato e ainda neurotoxicidade, havendo alterações neuropáticas no sistema nervoso central. Porém não se verificaram alterações comportamentais nos animais. Verificou-se ainda que a toxicidade destes derivados da artemisinina está relacionada com o tempo de exposição ao fármaco e com a forma farmacêutica utilizada, verificando-se mais efeitos tóxicos quando se utiliza a forma IM. ( Yin et al, 2014)

## *Cinchona L.*

### Enquadramento histórico

A *Cinchona L.* é usada há mais de 350 anos como planta medicinal. Em termos de efeito antimalárico, a quinina, principal alcaloide encontrado na planta, é responsável pela atividade farmacológica, correspondendo à casca pulverizada da árvore, também denominada como casca peruana, casca dos jesuítas e dos cardeais. (Achan et al.;2011) Esta já era usada pelos indígenas sul-americanos para tratar febre e calafrios. Em 1633 um monge peruano descreveu pela primeira vez o pó de *Cinchona*, e o seu efeito antipirético. (Brunton et al; 2010)

O efeito antimalárico da *Cinchona*, também conhecida como quina, tornou-se conhecido depois da conquista do Peru pelos espanhóis, no início do século XVII. Segundo uma lenda, a mulher do vice-rei de Espanha, a condessa de Chinchon, foi curada de malária, que se descrevia como um ataque febril, com casca de *Cinchona*. Este evento levou a que a planta ficasse conhecida na Europa. Apesar de não existir evidência para este episódio, o nome *Cinchona* foi dado ao género vegetal por Linnaeus, em honra da condessa. Desta forma foi obtido o primeiro tratamento farmacológico da malária, sendo que anteriormente se recorria a métodos evasivos e arcaicos. Os padres jesuítas foram os seus principais importadores e distribuidores na Europa. (Achan et al.;2011)

Do século XVII até 1940, a casca de quina e os seus alcaloides quinolínicos, eram o tratamento mais eficaz para a malária. A casca era colhida, seca e triturada, e durante quase dois séculos administrada como pó, infusão ou extrato. Foi atribuída a Robert Talbot, médico de Carlos II de Inglaterra e mais tarde de Luís XIV e da rainha de Espanha, a “elaboração e disseminação da terapia com quinas”. (KEW) Porém o seu valor medicinal foi posto em causa até ao século XIX, devido aos casos de insucesso que derivavam de uma fraca qualidade do composto, relacionado com a poluição e infestação das árvores, má identificação da espécie, já que os constituintes responsáveis pelo efeito antimalárico variam bastante entre espécies, e remessas irregulares de *Cinchona*. (Achan et al.;2011)

Os primeiros alcaloides de *Cinchona* foram extraídos e descritos em 1820, por Pierre Pelletier e Joseph Caventou, substituindo a casca pelo fármaco purificado. Anteriormente no ano de 1768 a casca de *Cinchona* era usada como profilático da malária por recomendação

de James Lind, um cirurgião inglês da marinha, defendendo a toma desta por todas as tripulações que desembarcassem num porto tropical. Assim a procura por *Cinchona* crescia e não havia maneira de suportar a procura desta até ao final do século XIX. (Achan et al, 2011)



Figura 8- Pelletier e Caventou e a descoberta da quinina

Fonte: <http://www.brockmansginblog.es/blog/wp-content/uploads/2013/08/descubrimiento-quinina.jpg>

Até ao final do século XIX, a *Cinchona* era obtida de árvores selvagens na América do sul. Os produtores da região tentaram monopolizar a sua produção, mas nos meados do século XIX, exportaram-se sementes das espécies *C. Calisaya* e *C. Cordifolia*. Estas espécies foram então plantadas nas regiões de Java e na Índia e Ceilão, obtendo plantas cuja casca era pobre em alcaloides, não havendo sucesso na obtenção do remédio. (KEW) Foram os holandeses que mais tarde, e através da espécie *C. Ledgeriana*, exportada da Bolívia, conseguiram estabelecer uma plantação extensiva e de alta concentração de alcaloides, de árvores de *Cinchona* na região de Java. Estas plantações rapidamente dominaram a produção mundial de *Cinchona*, sendo que na altura da 2ª guerra mundial os holandeses tinham um monopólio quase completo da planta e dos seus alcaloides. Nesta altura já haviam casos de insucesso pelo tratamento com quinina, sendo reportados também os efeitos secundários e toxicológicos do uso da mesma como náuseas e vômitos. (Achan et al, 2011)

Em 1942, a região de Java foi ocupada pelos japoneses, facto que levou a uma severa diminuição de acessibilidade de quinina por parte dos aliados. Foram feitas tentativas de ultrapassar este problema tentando obter a quinina pela colheita da casca de árvores

selvagens na América do sul, e também pelo desenvolvimento de novos fármacos antimaláricos, sintéticos. As tentativas foram bem sucedidas, e assim depois da 2ª guerra mundial, os fármacos antimaláricos sintéticos dominavam por completo os regimes de tratamento da doença, suportando a procura e ultrapassando os efeitos tóxicos da quinina. Em 1945 também a quinina foi sintetizada artificialmente. (Achan et al, 2011)

Apesar do aparecimento de novos fármacos, ainda havia procura de quinina e as plantações de Java continuaram operacionais. Também na Índia foram feitas novas plantações, desta vez com sucesso, através de um híbrido obtido com *C.Ledgeriana* e *C.Calisaya*. Estas plantações foram feitas e mantidas dada a procura crescente por quinina, já que os casos de resistências aos fármacos sintéticos aumentavam. (Achan et al, 2011)

Em 2004, a WHO recomendou o uso da 2ª linha de tratamento antimalárico, composto essencialmente por quinina, por todos os países com dificuldade em obter os fármacos de primeira linha. (WHO, 2006-1) Atualmente, as resistências do *Plasmodium* à maioria dos fármacos tornam necessário recorrer à quinina como tratamento, especialmente depois do aparecimento de fármaco-resistência do *Plasmodium* à cloroquina, já que apesar da quinina se mostrar menos sensível e com alguns casos de resistência, continua eficaz, trazendo veracidade à afirmação feita por David Greenwood em 1999, “*the century that started by relying on the bark of a tree to treat malaria may end by returning to a natural product.*”. (KEW)

## **Caracterização morfológica e química**

### **Distribuição geográfica**

A *Cinchona* L. é natural da América do sul, e é também conhecida como quinquina e quina. Esta é atualmente produzida à escala industrial no Peru, e em vários países sul-americanos, sendo também produzida nas regiões da Índia e Indonésia e em países africanos. (Pollito; Filho, 2006)

### **Caracterização morfológica**

A *Cinchona* L. é composta por cerca de 40 espécies da família *Rubiaceae*. As espécies de *Cinchona* precisam de um clima tropical, quente e húmido para se

desenvolverem, e atingem uma altura compreendida entre 1000 e 2000 metros. A temperatura média de crescimento encontra-se entre os 20-30° C durante o dia, e 10-15° C à noite, enquanto que a humidade atmosférica deve estar compreendida entre os 75 e 95%. (Pollito; Filho, 2006) Em plantações as árvores podem chegar até aos 10 anos de idade, para posteriormente ser recolhida a casca de toda a superfície do tronco, sendo que a colheita corresponde a cerca de 8000 toneladas de casca por ano. (Pollito; Filho, 2006)



**Figura 9- ilustração de *Cinchona Calisaya***

fonte: [http://www.swsbm.com/Images/New10-2003/Cinchona\\_calisaya-2.jpg](http://www.swsbm.com/Images/New10-2003/Cinchona_calisaya-2.jpg)

### Principais constituintes químicos

A casca de *Cinchona* tem um conteúdo em alcalóides compreendido entre os 3 e 15%, sendo que a casca medicinal deve conter no mínimo 6%. Há cerca de 20 alcalóides diferentes presentes, todos relacionados estruturalmente. (Samuelson & Bohlin, 2009) Destes alcalóides a grande maioria são alcalóides quinolínicos, como a quinina e a quinidina, que são estereoisómeros. (Samuelson & Bohlin, 2009) O conteúdo em quinina varia entre as diferentes espécies, das quais a *C. ledgeriana* se destaca, contendo o maior conteúdo em quinina e cerca de 80% de alcalóides. O conteúdo em quinidina é baixo em todas as espécies representando 1% do total de alcalóides. (Samuelson & Bohlin, 2009)

Os alcalóides quinolínicos são então os seus constituintes principais, que variam bastante as suas concentrações de espécie para espécie. A quinina é o principal antimalárico

encontrado na *Cinchona* L., e é também usada como aromatizante em bebidas como a água tônica. A quinidina, também tem efeito antimalárico, sendo o enantiômero mais potente da quinina, e é administrada preferencialmente por via intravenosa. É também usada nas arritmias cardíacas, como fármaco antiarrítmico. A toxicidade da quinina e quinidina foi um dos impulsos na procura de novos fármacos antimaláricos. A quinidina é mais potente e tóxica que a quinina. Em caso de sobredosagem destes alcaloides os efeitos são edema pulmonar, púrpura trombocitopénica imune, surdez irreversível ou arritmias. (Samuelson & Bohlin, 2009)

### Propriedades físico-químicas da quinina e quinidina

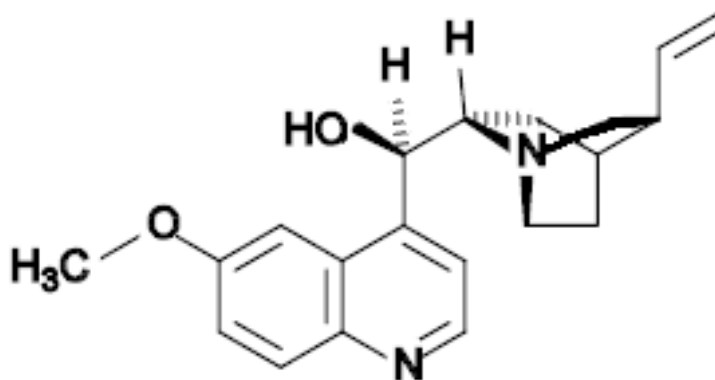


Figura 10- estrutura química da quinina

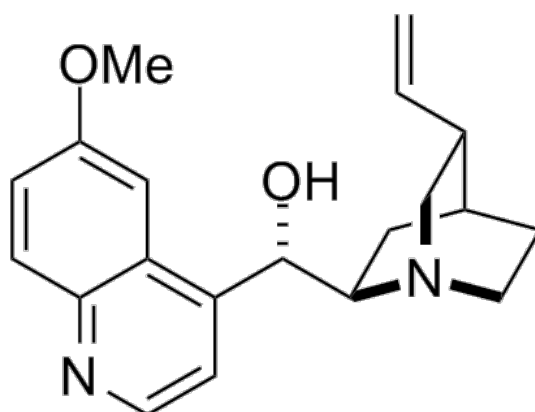


Figura 11- estrutura química da quinidina

A quinina e a quinidina são compostas por um grupo quinolina unido a um anel quinuclidina por uma ligação álcool secundária, e diferem apenas na configuração estérica, em dois ou três centros assimétricos, no carbono correspondente ao álcool secundário e na junção com a quinuclidina. (Brunton et al., 2010)

Ambas já foram sintetizadas artificialmente, porém o procedimento da síntese é muito complexo, o que leva a que ainda sejam obtidas da sua fonte natural, a casca de *Cinchona*. (Samuelson & Bohlin, 2009)

Muitos dos fármacos antimaláricos sintéticos têm como base a estrutura química da quinina (QN), como a pamaquina, primaquina (PQ), quinacrina (ATB), cloroquina (CQ), amodiaquina (AQ), monodesacetil-amodiaquina (MDAQ), piperaquina e pironaridina. Estes têm um mecanismo de ação muito semelhante à quinina. (Sá et al, 2011)

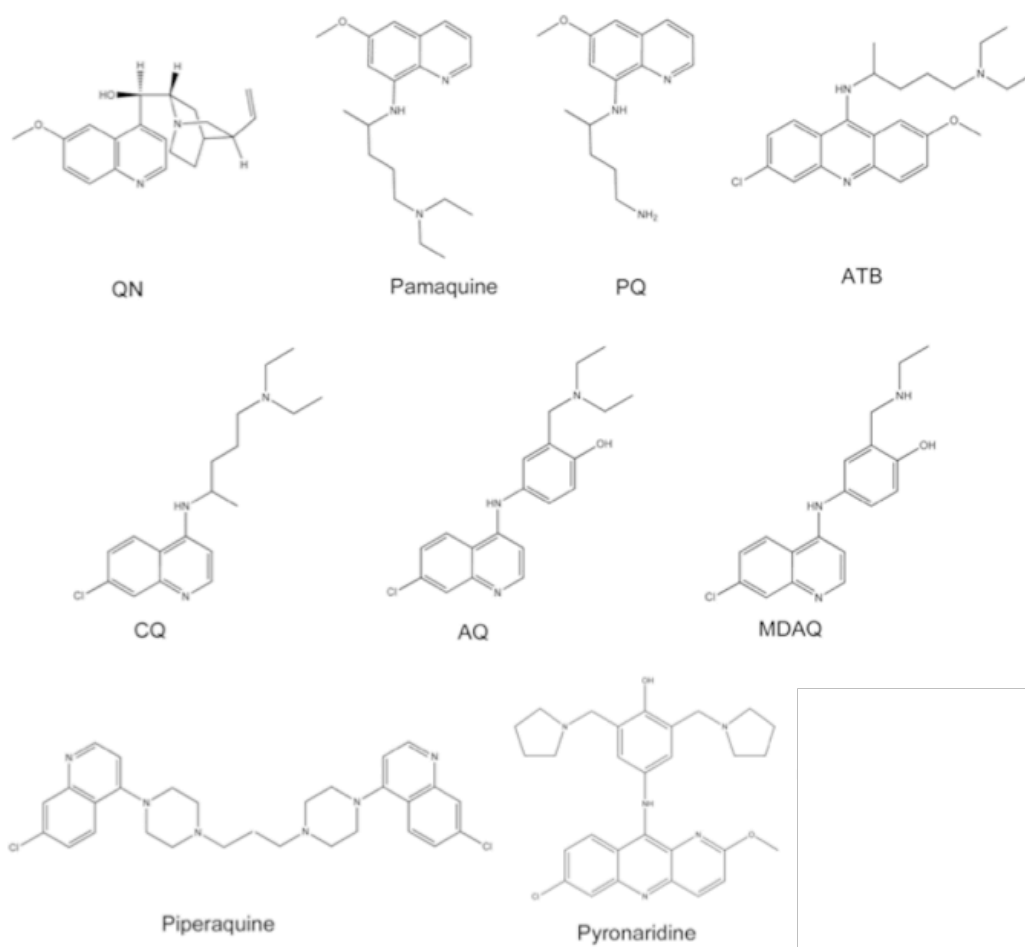


Figura 12- estrutura química da quinina e antimaláricos sintetizados com base na mesma, com a presença de um núcleo heteroaromático quinolínic.

Fonte: Juliana M. Sá, Jason L. Chong, and Thomas E. Wellems, "malaria drug resistance: 31 new observations and developments"

### **Atividade antimalárica**

Como já foi referido, são os alcaloides quinolínicos os principais responsáveis pelo efeito farmacológico antimalárico da *Cinchona* L.. Como as fármaco-resistências do *Plasmodium* à quinina se mantém relativamente baixas, apesar dos 400 anos de uso, esta é indicada na malária por *P.falciparum* resistente a cloroquina, mas também na resistente às artemisininas. Esta baixa fármaco-resistência é atribuída não só à sua baixa frequência de uso em relação aos outros fármacos antimaláricos, mas também à sua privilegiada estrutura química natural, difícil de ultrapassar pelo parasita. (Dinio,2012)

A quinina faz parte da família da quinolinas, com ação esquizonticida, ativa contra formas eritrocíticas assexuadas de *P.falciparum* e *P.vivax*, não tendo efeito sobre as formas hepáticas do parasita. (Achan et al, 2012) O fármaco mais eficaz desta família foi a cloroquina, muito usada na profilaxia e tratamento da malária em muitas regiões endémicas, porém surgiu a resistência do parasita a este fármaco, o que levou ao uso e crescente interesse pela quinina. Ao contrário da quinina a cloroquina não apresentava grandes efeitos tóxicos na profilaxia da doença, mas foi esta utilização profilática a principal razão do aparecimento de resistências em todos os países endémicos, com exceção de alguns países da América Central. (França et al, 2008) A quinina e o seu estereoisômero quinidina, são especialmente valiosas no tratamento de malária grave por *P.falciparum* resistente, não sendo normalmente usadas profilaticamente devido aos seus efeitos tóxicos e curto tempo de semi-vida. (Brunton et al, 2010)

Quando se começaram a utilizar as artemisininas, foi de certa forma ultrapassado este problema da fármaco-resistência, porém atualmente com o aparecimento de resistências às artemisininas o interesse pela quinina foi redobrado. Tanto a quinina como a quinidina são consideradas na farmacoterapia da malária grave resistente. (Dinio, 2012) Em casos de malária grave, o uso imediato de doses de ataque de quinina e quinidina intravenosas é determinante, salvando vidas, utilizando-se as formulações orais para manter as concentrações terapêuticas durante 5 a 7 dias. Concomitantemente com as quininas são usados esquizonticidas sanguíneos de ação lenta, como as tetraciclina ou a clindamicina, de modo a aumentar a sua eficácia. (WHO, 2013)

## **Farmacocinética e farmacodinâmia**

A quinina tem uma rápida absorção quando administrada por via oral ou intramuscular. A absorção por via oral ocorre principalmente a partir da parte superior do intestino delgado e é maior que 80%, mesmo em doentes com diarreia severa. (Brunton et al, 2010) Os níveis plasmáticos atingem um pico máximo após as 3 e as 8 horas, sendo o tempo de semi-vida de 11 horas. A farmacocinética pode variar de acordo com a severidade da infecção, dadas as alterações fisiológicas no organismo, sendo que a eliminação fica mais comprometida, com um aumento do tempo de semi-vida para 18 horas. (Krishnaa; White, 1996)

Em doentes graves, as concentrações de quinina, em doses terapêuticas padronizadas podem atingir os níveis máximos de 15 a 20 mg/L sem causar grandes reações de toxicidade, contudo níveis de fármaco superiores a 10 mg/L podem produzir reações adversas graves. Na malária grave surgem altos níveis plasmáticos de glicoproteínas ácidas  $\alpha_1$  que ajudam a diminuir a toxicidade da quinina, mantendo-a ligada e diminuindo a sua fração livre. As concentrações de quinina mostram-se mais baixas nos eritrócitos e no líquido cefalorraquidiano do que no plasma. O fármaco atinge com facilidade os tecidos fetais, passando a barreira placentária aquando de uma gravidez. (Manson et al, 2009; Verdier et al, 1986)

A metabolização dos alcaloides de *Cinchona* ocorre essencialmente pelo CYP3A4 hepático. Estes compostos não ficam armazenados no corpo em administrações continuadas. O seu metabolito principal, a 3-hidroxiquinina, retém alguma atividade antimalárica, o que pode levar a toxicidade em casos de insuficiência renal. Uma fração correspondente a 20% da dose administrada é excretada na forma inalterada na urina. De notar que a excreção renal da quinina é acelerada quando a urina é ácida. (Sousa et al, 2008; Manson et al, 2009)

## **Mecanismos de ação**

O mecanismo de ação antimalárica da quinina ainda não está completamente esclarecido sendo alvo de investigação. Assume-se que o seu mecanismo de ação se assemelha ao da cloroquina, sintetizada com base na estrutura da quinina. Ambas são capazes de se ligar ao grupo heme da hemoglobina impedindo a sua desintoxicação. As

hipóteses de inibição da ferriprotoporfirina-IX polimerase não identificada e de uma fosfolipase vacuolar do parasita são também consideradas. (França et al, 2008; Brunton et al, 2010) Ainda como mecanismo de ação é considerada a inibição da síntese proteica e interação com o DNA parasitário. (França et al, 2008; Gorka et al, 2013)

O principal mecanismo de ação parece estar relacionado com a acumulação de bases fracas no lisossoma ácido do parasita e com a ligação à ferriprotoporfirina-IX, que corresponde ao grupo heme da hemoglobina, evitando a polimerização desta substância pela ferriprotoporfirina-IX polimerase. Assim é interrompido o mecanismo de desintoxicação do parasita, através do qual o mesmo converte a ferriprotoporfirina-IX, que é um subproduto tóxico da digestão da hemoglobina, em hemozoína, um polímero inerte, insolúvel e não tóxico. A acumulação de ferriprotoporfirina-IX dentro dos vacúolos do parasita, leva-o à morte. (França et al, 2008; Sousa et al, 2008; Gorka et al, 2013)

### **Usos e posologia**

As “guidelines” de 2010 da OMS recomendam a combinação da quinina com doxiciclina, tetraciclina ou clindamicina, como tratamento de 2ª linha para a malária não complicada, quando os fármacos de primeira linha não se encontram disponíveis, num regime de 7 dias de tratamento. Este tratamento é também um dos possíveis em viajantes que retornam a países não endémicos. (WHO, 2010)

O uso de quinina com clindamicina está recomendado para casos de malária no 1º trimestre de gravidez, igualmente num regime de 7 dias, não estando indicada ACT, a não ser que o primeiro não se encontre disponível ou que a terapêutica com quinina falhe. Nos trimestres seguintes só se usa quinina e clindamicina em detrimento de ACT se este não se encontrar disponível. (WHO, 2013)

Em relação a casos de malária cerebral por *P.falciparum* tem-se dado preferência ao artesunato, quer em adultos quer em crianças, em detrimento da quinina, apesar de esta continuar a ser usada por via intravenosa nestes casos de infeção. Porém com o aparecimento de fármaco-resistências às artemisininas esta tem sido mais usada. A sua posologia na malária complicada é de 20 mg/kg como dose de ataque e uma dose de manutenção de 10 mg/kg de 8 em 8 horas, administrada 8 horas depois da primeira dose. As doses de quinina administradas parentericamente devem seguir uma taxa de infusão intravenosa controlada, não excedendo os 5 mg/kg por hora e a administração por bolus

nunca deve ser praticada, já que pode resultar em hipotensão letal. A quinina também pode ser administrada por via intramuscular em várias injeções divididas da mesma dose de ataque. A quinidina por via parentérica só deve ser usada quando a quinina não está disponível, por ser mais tóxica. (WHO, 2013)

As formas farmacêuticas disponíveis são comprimidos e soluções injetáveis, com doses variáveis consoante o sal de quinina utilizado, sendo que as concentrações em quinina pura estão entre os 82 e os 59% do sal.

### **Ajustes de dose**

A quinina pode acumular-se quando há disfunção severa de órgãos vitais. Se o doente se encontrar com insuficiência renal aguda ou disfunção hepática a dose deve ser diminuída para 1/3 passadas 48 horas. Nos casos de hemodiálise e hemofiltração não são necessários ajustes de dose. (WHO, 2013)

A quinina é usada no tratamento de tanto doentes de malária seropositivos como em doentes com tuberculose, sendo necessária uma dose maior de quinina para se obter um efeito antimalárico satisfatório, já que quer com antirretrovirais usados no HIV como a nevirapina, quer com a rifampicina, usada nos regimes terapêuticos da tuberculose, há uma diminuição dos níveis de quinina no plasma, e uma maior metabolização hepática, respectivamente. (Achan et al.;2011)

### **Toxicidade**

A administração de quinina ou dos seus sais causa regularmente um conjunto de sintomas denominados de cinchonismo. Na sua forma menos severa são caracterizados por distúrbios de audição, cefaleias, náuseas, tonturas e perturbações na visão. Na forma mais severa caracterizam-se por vômitos, dores abdominais, diarreia e tonturas severas, agravando-se os sintomas anteriores. (Manson et al, 2009)

As reações de hipersensibilidade à quinina podem incluir urticária, broncoespasmo, febre, trombocitopenia e anemia hemolítica que pode evoluir para o grave síndrome hemolítico-urémico, que pode levar à morte. (WHO, 2013)

## **Fármaco-resistências**

Todos os fármacos utilizados no tratamento da malária apresentaram perda de eficácia à medida que são usados em larga escala. O aparecimento de fármaco-resistências à cloroquina deu-se passados 12 anos do seu uso, à mefloquina 5 anos e em apenas 1 ano para o proguanil, SP e atovaquone, devido ao facto dos parasitas resistentes à cloroquina se tornarem facilmente resistentes a estes fármacos. Desta forma pode-se considerar que a maioria dos fármacos teve um “prazo de validade” como antimalárico, o que suscita a preocupação da comunidade internacional em proteger os fármacos que ainda são maioritariamente eficazes, os derivados das artemisininas e a quinina. (WHO, 2014)

Para evitar o aparecimento de resistências ao atual tratamento da malária não-severa as artemisininas não devem ser usadas em monoterapia, sendo preferencialmente utilizadas em doses fixas combinadas ou concomitantemente com outro antimalárico eficaz. O regime ACT deve ser levado a cabo de forma rigorosa, que implique a toma de todas as doses. Apesar dos esforços e recomendações da WHO as artemisininas e outros antimaláricos continuam a estar disponíveis em muitos países como monoterapia, o que pode levar a resistências e à desvalorização do regime ACT. (WHO, 2013)

As resistências dos parasitas devem então ser um dos focos principais na implementação de estratégias de controlo da malária, sendo que devem ser disponibilizadas “guidelines” claras e completas nos países endémicos, de preferência no idioma da região, para os profissionais de saúde. Para além das “guidelines”, deve ainda ser distribuído material educacional para a saúde, às populações, que refira não só a importância de uma aderência rigorosa ao tratamento, mas também medidas pessoais que evitem a proliferação e atração do mosquito portador do parasita, como por exemplo o uso de mosquiteiros impregnados com deltametrina, uso de repelentes com DEET e cobertura total do corpo após o pôr-do-sol. (WHO, 2013)

Deve ainda ser assegurada pelo próprio país a qualidade e segurança dos antimaláricos disponibilizados, eliminando fármacos contrafeitos, e controlando a disponibilização de fármacos, de preferência segundo as normas internacionais de qualidade e fabrico, estabelecidas pela OMS e ONU. (WHO, 2013)

A venda e acesso a medicamentos em países endémicos, nomeadamente países africanos, é muito pouco regulada, estando disponíveis fármacos antimaláricos em farmácias, mas também em qualquer zona comercial não controlada. Assim acabam por ser

os retalhistas e vendedores os principais controladores da disponibilidade das terapêuticas, sendo que em grande parte dos casos, a obtenção de medicamentos é feita de acordo com os seus interesses económicos, desprezando as normas sugeridas pela OMS, nomeadamente as terapêuticas recomendadas para a malária, regime ACT, e disponibilizando antimaláricos que lhes deem mais lucro. Para tentar ultrapassar esta adversidade, foi criada a AMFm, “affordable medicine facility malaria”, cujo objectivo é disponibilizar aos retalhistas regimes ACT de baixo custo. A AMFm disponibiliza aos retalhistas regimes ACT de alta qualidade, altamente subsidiados de forma a minimizar a venda de fármacos contrafeitos ao público. Esta medida foi criada em 2010 e introduzida em 8 países, e é um passo importante, mesmo que complexo e difícil, no combate à doença. (O’Meara et al, 2013)

O acesso universal ao diagnóstico da doença deve também ser uma prioridade, para que a irradicação da malária continue a estar em perspectiva. A comunidade internacional deve ainda focar-se na vigilância da eficácia terapêutica e numa monitorização mais rigorosa de resistências. Uma sinergia entre todas estas medidas levará a uma diminuição dos casos de malária e a uma subida da taxa de sucesso no tratamento. (WHO, 2013)

Para que se consiga ultrapassar o problema das fármaco-resistências, é importante perceber as alterações que levam ao seu aparecimento, ou seja, os mecanismos que o parasita desenvolve para tornar o fármaco incapaz. Desta forma é possível por em perspectiva o desenvolvimento de novos fármacos mais difíceis de contornar por parte do parasita.

A cloroquina e amodiaquina, sintetizadas de forma a substituir a quinina, apresentam uma elevada fármaco-resistência, apesar de terem como base o mesmo mecanismo de acção da quinina, que permanece eficaz. A mutação Lys76Thr, no gene *pfcr* que codifica para a PfCRT, proteína de *P.falciparum* transportadora da resistência à cloroquina, está relacionada com a resistência à cloroquina na ordem dos 100%. (Warhurst et al, 2003) Esta é uma proteína intrínseca da membrana dos lisossomas, local onde atuam os fármacos quinolínicos, e é a mutação no gene que a codifica que origina as suas formas alteradas. (Fidock et al, 2000) A diferença de eficácias nos fármacos quinolinícos poderá estar relacionada com a dificuldade das formas mutantes de PfCRT, atuarem num grupo substituinte complexo como o da quinina ao contrario de num grupo substituinte mais simples como o da cloroquina e da amodiaquina. Assim grupos substituintes mais complexos poderão salvar estes fármacos antimaláricos da resistência baseada no PfCRT, caso

da piperquina e da pironaridina. (Sá et al, 2011)

A expressão da mutação na proteína intrínseca da membrana dos lisossomas, PGH-1, que é característica das estirpes multirresistentes, associa-se à resistência a fármacos muito hidrofóbicos como a mefloquina, halofantrina e artemisinina, sendo por isso outro dos alvos de pesquisa para a compreensão dos mecanismos que levam à resistência destes fármacos. (Warhurst et al, 2003)

Em relação aos casos de tolerância às artemisininas, verificou-se um prolongamento do tempo de depuração de *P.falciparum* em indivíduos tratados com fármacos derivados das artemisininas, alertando para o aumento de fármaco-resistências às mesmas, na fronteira Tailândia-Camboja, principalmente na região de Mekong. O mecanismo desta resistência ainda não é conhecido, porém estudos genéticos mostraram que o fenótipo característico da depuração parasitária prolongada é hereditário e que uma parte substancial da variação da depuração é determinada por factores genéticos do parasita, nomeadamente uma mutação no gene K13.(Anderson et al, 2010; Sibley, 2014) Uma depuração parasitária mais lenta associa-se a um maior risco de desenvolver gametocitemia, aumentando a probabilidade de transmissão de fenótipos tolerantes. (Anderson et al, 2010; Sibley, 2014) Este é um factor de grande importância na saúde pública pois o efeito das artemisininas em reduzir o estado de gametocitemia é um factor fundamental nos seus efeitos benéficos no controlo e transmissão da malária. (Carrara et al, 2009) Para que se possa ultrapassar este problema é necessário identificar os determinantes genéticos responsáveis por esta perda de susceptibilidade.(Anderson et al, 2010)

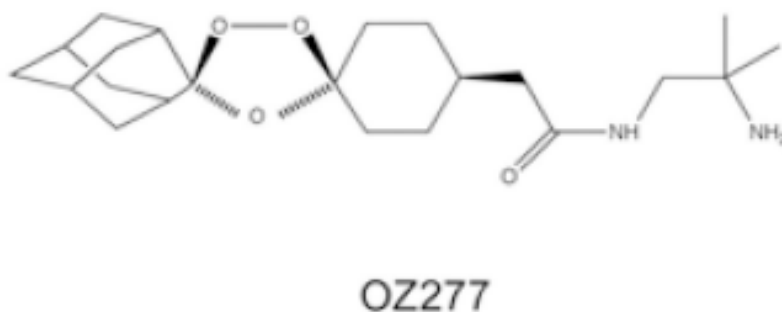
Por outro lado, vários estudos avaliaram a concentração inibitória, IC<sub>50</sub>, tanto do artemeter como da dihidroartemisinina, verificando-se valores acima do esperado, indicando igualmente diminuição da susceptibilidade do *P.falciparum*, tanto em viajantes regressados de países africanos em relação à DHA (Cojean et al, 2007), como em doentes provenientes do Senegal, Camboja e Guiana Francesa relativamente ao artemeter. (Jambou et al, 2006)

Esta perda de susceptibilidade pode estar também relacionada com resistências aos fármacos parceiros da terapia ACT, factores inerentes aos hospedeiros e ainda com a utilização de fármacos contrafeitos e monoterapia, muito frequentes no sudeste asiático.(Carrara et al, 2009; Noedl et al, 2008; Dondorp et al, 2009) Apesar dos vários estudos efectuados não mostrarem uniformidade de resultados, a OMS considera que há evidência suficiente para se afirmar que surgiu resistência às artemisininas no sudeste asiático. (WHO, 2009) Os últimos focos de resistência observados localizam-se em países

sul-americanos onde as medidas da OMS não têm sido adoptadas, caso da Guiana, Guiana francesa e Suriname, facto que alerta para o rápido aparecimento de resistências noutros países onde o mesmo esteja a suceder, como em alguns países africanos. (WHO, 2014; Sibley, 2014)

Registou-se uma aumento de tolerância do *P.falciparum* em áreas onde a resistência a outros antimaláricos é comum, nomeadamente no sudeste asiático e Amazónia para a quinina, e Camboja e Tailândia para as artemisininas, contudo não se verificou resistência de largo espectro, possibilitando o tratamento de todas as estirpes de malária com base nestes fármacos. (Sá et al, 2011)

A estrutura das artemisininas e a compreensão do papel da sua ponte endoperóxido inspiraram investigações em análogos sintéticos que sejam baratos, eficazes e seguros contra os parasitas *P.falciparum*. Destes, destacam-se os compostos ozonídeos, nomeadamente o arterolano, que se encontra atualmente em ensaios clínicos avançados. Apesar de ser muito cedo para saber se os compostos ozonídeos irão ser tolerados pelo *P.falciparum*, como acontece com as artemisininas, o facto de estes terem um tempo de semi-vida prolongado poderá oferecer grandes vantagens no tratamento de estirpes de *P.falciparum* tolerantes às ACT. (Sá et al, 2011)



**Figura 13- Arterolano, o mais recente antimalárico endoperóxido sintético, inspirado pela artemisinina. A sua patente pertence aos laboratórios Ranbaxy.**

**Fonte: Sá, Juliana; Chong, Jason; Wellems, Thomas (2011): Malaria drug resistance: new observations and developments. *Essays Biochemistry*; 51; 137-160.**

## Conclusão

Atualmente, os principais compostos participantes nos regimes fármaco-terapêuticos da malária são provenientes das espécies vegetais tratadas nesta monografia, a *Artemisia annua* L. e a *Cinchona* L.. Tanto as artemisininas como a quinina são fármacos fundamentais no tratamento da malária, nas suas diferentes fases de parasitemia.

É notável que fármacos provenientes da medicina tradicional, descobertos há séculos, tenham um papel tão importante numa das doenças mais desafiantes e preocupantes da atualidade. A adoção das artemisininas nos regimes terapêuticos recomendados pela OMS em 2006 conseguiu contornar o problema das fármaco resistências, especialmente do *P.falciparum*, aos fármacos sintéticos disponíveis anteriormente, e foi e continua a ser uma das principais esperanças no controlo eficaz desta doença parasitária. Segundo a OMS, entre o ano de 2000 e 2012 a taxa de mortalidade da malária foi reduzida globalmente em 42%, o que prova este sucesso das artemisininas no tratamento da doença.(WHO, 2013)

O uso de artemisininas deve ser controlado e feito tendo como base as recomendações da OMS, de maneira a evitar que surjam fármaco-resistências significativas, já que têm evidenciado um importante papel no controlo da doença. É determinante o seu uso em terapia combinada com outros antimaláricos de forma a que os parasitas tenham uma maior dificuldade em resistir e contornar o seu mecanismo de acção. Desta forma, um dos maiores desafios da OMS é a implementação destes regimes terapêuticos nas zonas endémicas, de acordo com as “guidelines”. Esta tarefa é dificultada pelo facto de os interesses económicos ultrapassarem, na maior parte das vezes, os interesses de saúde pública, existindo fármacos contrafeitos, uso de monoterapia e escolha de outros fármacos mais baratos e menos eficazes.

Em relação à quinina, para além de ser um antimalárico cujas resistências não são marcadas, sendo que apenas se verificam algumas perdas de susceptibilidade, é também um fármaco cuja estrutura serviu de modelo à grande maioria dos antimaláricos sintéticos. Apesar de atualmente ser menos usada e menos inserida nos regimes antimaláricos, principalmente devido à sua toxicidade, continua a ser um importante recurso no tratamento da doença, principalmente na malária grave.

Quer as artemisininas e seus derivados, quer a quinina, são fármacos cuja estrutura deve inspirar a síntese de novos antimaláricos, pela sua capacidade de permanecerem

eficazes contra o *Plasmodium*. O desenvolvimento de novos fármacos a partir destas substâncias deve ser uma prioridade da comunidade internacional na erradicação da malária, bem como medidas não-farmacoterapêuticas, que visam o controlo do vector, boas práticas de diagnóstico da doença, proteção das comunidades, e claro, o bom uso das terapêuticas disponíveis e prevenção de acordo com as recomendações da OMS.

Segundo os estudos efectuados sobre fármaco-resistências, verifica-se que a durabilidade da eficácia de um fármaco antimalárico está diretamente relacionada com os anos de utilização desse fármaco. Esta relação poderá não só, servir de justificação ao facto da quinina se manter eficaz, já que deixou de ser usada durante décadas dada a utilização de fármacos sintéticos quinolínicos, mas também ao aparecimento de resistências às artemisininas na ásia, onde são usadas há mais tempo. Assim, supondo que este “prazo de validade” antimalárico existe é crucial o desenvolvimento de novos antimaláricos, mas também é indispensável a adopção de boas práticas de prevenção, controlo, diagnóstico e uso das terapêuticas, de modo a aumentar os anos de eficácia dos fármacos atualmente usados.

## **Bibliografia**

Achan, Jane; Talisuna, Ambrose; Erhart, Annete; Yeka, Adoke; Tibenderana, James; Balirane; Frederick; Rosenthal, Philip; D'Alessandro, Umberto (2011): Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. *Malaria Journal*, 10:144.

Anderson, T.J; Nair, S.; Nkhoma, S.; Williams, J.T.; Imwong, M.; Yi, P.; Socheat, D.; Das, D.; Chotivanich, K.; Day, N.P. (2010): High heritability of malaria parasite clearance rate indicates a genetic basis for artemisinin resistance in western Cambodia. *Journal of Infectious Diseases*.

Anderson, T.J.; Williams, J.T.; Nair, S.; Sudimack, D.; Barends, M.; Jaidee, A.; Price, R.N.; Nosten, F. (2010): Inferred relatedness and heritability in malaria parasites. *Proceedings of The Royal Society: Biological Sciences*

Baird, J. Kevin; Bangs, Michael; Maguire, Jason; Barcus, Mazie (2002): Epidemiological Measures of Risk of Malaria. *Methods in Molecular Medicine*, vol. 72: Malaria Methods and Protocols; 13-22. Elsevier.

Brunton, Laurence; Chabner, Bruce; Knollman, Bjorn.(2010): 49th Chapter, Chemotherapy of Malaria. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 12th edition.(pp:1383-1412) EUA: McGraw-Hill.

Carrara V.; Zwang J.; Ashley E. (2009): Changes in the Treatment Responses to Artesunate-Mefloquine on the Northwestern Border of Thailand during 13 Years of Continuous Deployment. *Plos One*; 4 (2): e4551.

CDC-1: Centers for Disease Control and Prevention. Malaria. Biology. Consultado em junho de 2014 em: [www.cdc.gov/malaria/about/biology/](http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/)

CDC-2: Centers for Disease Control and Prevention. Malaria. Malaria's impact. Consultado em junho de 2014 em: [http://www.cdc.gov/malaria/malaria\\_worldwide/impact.html](http://www.cdc.gov/malaria/malaria_worldwide/impact.html)

Cojean, S.; Hubert, V.; Les Bras, J.; Durand, R. (2007): Resistance to Dihydroartemisinin. *Emerging Infectious Diseases Journal*; 13 (5): 808-9.

Dinio, Theresa; Gorka, Alexander P.; McGinniss, Andrew; Roepe, Paul D.; Morgan, Jeremy B.(2012): Investigating the activity of quinine analogues vs. chloroquine resistant *Plasmodium falciparum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*; 15 de Maio de 2012; 20(10): 3292–3297.

Drugs.com, Know more. Be Sure.: *FDA approves Coartem*. Consultado em Junho de 2014 em: <http://www.drugs.com/newdrugs/coartem-receives-fda-approval-becoming-first-artemisinin-based-combination-act-malaria-us-1315.html>

Eckstein-Ludwig, U.; Webb, R.; Van Goethem, I.(2003): Artemisinins target the SERCA of *Plasmodium falciparum*. *Nature*; 424; 957-61.

Ferreira, J. S. F.; Janick, J. (1995): “ Floral morphology of *Artemisia annua* with special reference to trichomes”, Purdue university.

França, Tanos; Santos, Marta; Figueroa-Villar, José (2008): Malária: aspectos históricos e quimioterapia. *Quimica Nova*; Vol. 31, No. 5, 1271-1278.

Golenser, J.; Waknine, J.; Krugliak, M.; Hunt, N.; Grau, G. (2006): Current perspectives on the mechanism of action of artemisinins. *International Journal of Parasitology*; 36; 1427-41.

Gorka, Alexander; Sherlach, Katy; Dios, Angel; Roepe, Paul (2013): Relative to Quinine and Quinidine, their 9-Epipimers exhibit decreased cytostatic activity and altered Heme binding but similar cytotoxic activity versus *Plasmodium falciparum*. *JournalsASM.org; Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; Vol.57; n°1; 365-374.

Griffin, Carol; Hoke, Jonathan; Samarakoon, Upeka; Duan, Junhui; Mu, Jianbing; Ferdig, Michael; Warhurst, David; Cooper, Roland (2012): Mutation in the *Plasmodium falciparum* CRT Protein Determines the Stereospecific Activity of Antimalarial *Cinchona* Alkaloids; *JournalsASM.org; Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol.56; n°10; 5356-5364.

Harvard Health Guide: Malaria. Consultado em junho de 2014 em: <http://www.drugs.com/health-guide/malaria.html>

Jambou, E.; Legrand, E.; Niang, M. (2006): Resistance of *Plasmodium falciparum* field isolates to in-vitro artemether and point mutations of the SERCA-type PfATPase6. *Lancet*;

366: 1960-3.

Krishnaa, Sanjeev; Bustamante, Leyla; Haynes, Richard; Staines, Henry (2008): Artemisinins their growing importance in medicine. *Trends in Pharmacological Sciences*; 29(10): 520-527.

Krishnaa, Sanjeev; Woodrow, Charles; Staines, Henry; Haynes, Richard; Mercereau-Pujalon, Odile (2006): Re-evaluation of how artemisinins work in light of emerging evidence of in vitro resistance. *Trends in Molecular Medicine*; 12(5): 200-205.

Kyu, Hmwe; Fernandez, Eduardo (2009): Artemisinin derivatives versus quinine for cerebral malaria in African children: a systematic review; *Bulletin of the world health organization*; 87: 896-904.

Longo, Dam; Fauci, Anthony; Kasper, Dennis; Hauser, Stephen; Jameson, J.; Loscalzo, Joseph (1994): Chapter 210, Malaria. *Harrison's Principles of internal medicine*, 18th edition. EUA: McGraw-hill.

Manson, Sir Patrick; Cook, G.C; Zumla, A.(2009): Epidemiology of Disease in the Tropics; Malaria; The antimalarial drugs. *Manson's tropical diseases*. (pp: 23-24); (pp:1243-1248);(pp:1257-1259). Edimburgo: Saunders.

Morris, Carrie; Duparc, Stephan; Borghini-Fuhrer, Isabelle; Jung, Donald; Fleckenstein, Lawrence (2011): Review of the clinical pharmacokinetics of artesunate and its active metabolite dihydroartemisinin following intravenous, intramuscular, oral or rectal administration. *Malaria Journal*, 10:263. BioMed Central.

Nageed, Ahmed; Al-Tawashi, Azza; Emwas, Abdul; Al-Talla, Zeyad; Al-Rifai, Nahla (2013): Comparison of artemisia annua bioactivities between traditional medicine and chemical extracts. Bentham Science Publishers; *Current Bioactive compounds*, 9, 324-332.

Noedl, Harald; Se, Youry; Sriwichai, Sabaithip; Schaecher, Kurt; Teja-Isavadharm, Paktiya; Smith, Bryan; Rutvisuttinunt, Wiriya; Bethell, Delia; Surasri, Sittidech; Fukuda, Mark; Socheat, Duong; Thap, Lon (2010): Artemisinin Resistance in Cambodia: A Clinical Trial Designed to Address an Emerging Problem in Southeast Asia. EUA: *Clinical Infectious Diseases*, 51, 82-89.

O'Meara, Wendy; Obala, Andrew; Thirumurthy, Harsha; Khwa-Otsyula, Barasa (2013): The association between price, competition, and demand factors on private sector anti-malarial stocking and sales in western Kenya: considerations for the AMFm subsidy. *Malaria Journal*, 12:186.

O'Neill, Paul; Barton, Victoria; Ward, Stephen (2010): The Molecular Mechanism of Action of Artemisinin- The debate continues. *Molecules*; 15, 1705-1721.

Pollito, Percy; Filho, Mario (2006): Cinchona amazonica Cinchona amazonica Standl. (Rubiaceae) no estado do Acre, Brasil. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Naturais*, Belém, v. 1, n. 1, p. 9-18, jan-abr. 2006

Ramos-Martín, Virginia;González-Martínez, Carmen; Mackenzie, Ian; Schmutzhard, Joachim; Pace, Cheryl; Laloo, David; Terlouw, Dianne (2014): Neuroauditory Toxicity of Artemisinin Combination Therapies- Have Safety Concerns Been Addressed?. *The American Society journal of Tropical medicine and hygiene*; 91(1); 62-73.

Rolling, Thierry; Wichmann, Dominic; Schmiedel, Stefan; Burchard, Gerd; Kluge, Stefan; Cramer, Jakob (2013): Artesunate versus quinine in the treatment of severe imported malaria: comparative analysis of adverse events focussing on delayed haemolysis. *Malaria Journal*, 12:241.

Royal Botanic Gardens. Economic botany collection: *A short story of Cinchona*. Consultado em Julho de 2014, em: [www.kew.org/collections/ecbot/collections/topic/cinchona/a-short-history-of-cinchona/index.html](http://www.kew.org/collections/ecbot/collections/topic/cinchona/a-short-history-of-cinchona/index.html)

Sá, Juliana; Chong, Jason; Wellems, Thomas (2011): Malaria drug resistance: new observations and developments. *Essays Biochemistry*, 51; 137-160.

Samuelson, Gunnar; Bohlin, Lars (2009): *Drugs of natural origin, 6th revised edition*. Suecia: Apotekarsocieteten.

Sibley, Carol Hopkins (2014): Understanding drug resistance in malária parasites: Basic science for public health. Elsevier, *Molecular and Biochemical Parasitology*; vol. 195, nº2; 107-114.

Silamut, Kamolrat; Newton, Paul; Teja-Isavadharm, Paktiya; White, Nicolas (2003): Artemether Bioavailability after Oral or Intramuscular Administration in Uncomplicated Falciparum Malaria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Vol.47, n°12; p.3795-3798. American Society for Microbiology.

Tu, Youyou (2011): The discovery of artemisinin (Qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. *Nature medicine*, vol. 17, n°10, 1217-1220.

Warhurst, David; Craig, John; Adagu, Ipemida; Meyer, David; Lee, Sylvia (2003): The relationship of physico-chemical properties and structure to the differential antiplasmodial activity of the cinchona alkaloids. *Malaria Journal*, 2:26.

White, N. J. (2008): Quinghaosu (Artemisinin): The price of success. *Science*; 320(5874): 330-4.

World Health Organization (2006-1): *Guidelines for the treatment of malaria*, 2<sup>nd</sup> edition. Geneva. WHO.

World Health Organization (2006-2): *Monograph on good agricultural and collection practices (GACP) for Artemisia annua L.* Geneva. WHO.

World Health Organization (2008): Global Malaria Control and Elimination: report of a meeting on containment of artemisinin tolerance. Geneva. WHO.

World Health Organization (2013): *World malária report 2013*. Geneva. WHO.

World Health Organization, WHO (2014): Global Malaria Programme. Emergence and spread of artemisinin resistance calls for intensified efforts to withdraw oral artemisinin-based monotherapies from the market. Geneva, WHO.

Yin, Ji-ye; Wang, He-mei; Wang, Quan-jun; Dong, Yan-sheng; Han, Gang; Guan, Yong-biao; Zhao, Ke-yong; Qu, Wen-sheng; Yuan, Ye; Gao, Xiao-xin; Jing, Shu-fang; Ding, Ri-gao (2014): Subchronic Toxicological Study of Two Artemisinin Derivatives in Dogs. Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing, China, *Plos one*; vol. 9, n°4.