

**Vitória Ingrid Christina da Silva  
Pequeno Baptista**

Acadêmica do Curso de Biomedicina no Centro  
Universitário Lusíada (UNILUS).

**Daniela Soares Damaceno**

Acadêmica do Curso de Biomedicina no Centro  
Universitário Lusíada (UNILUS).

**Michelle de Andrade Pinto Guarnieri**

Acadêmica do Curso de Biomedicina no Centro  
Universitário Lusíada (UNILUS).

**Paulo Pinhal Junior**

Professor Mestre do Centro Universitário Lusíada  
(UNILUS).

**Cleide Barbieri de Souza**

Professora Doutora responsável pelo Núcleo Acadêmico  
de Estudos e Pesquisas em Biotecnologia do Centro  
Universitário Lusíada (UNILUS).

Artigo recebido em março de 2016 e  
aprovado em junho de 2016.

## FÁRMACOS DE ORIGEM BIOTECNOLÓGICA NA TERAPÊUTICA DO VÍRUS HIV

### RESUMO

Biofármacos, fármacos produzidos com auxílio da biotecnologia, são resultados da modificação genética de células vegetais, como a soja (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*) e a *Calophyllum* (*Calophyllum lanigerum var austrocoriaceum*). Estes sistemas de transgenia, por sua vez, têm tido grandes avanços na terapêutica alternativa para o tratamento dos pacientes infectados com o vírus HIV. No caso da soja, ela é modificada geneticamente com a inserção do gene da *Cianovirina-N*, proteína sintetizada pela alga azul *Nostoc ellipsosporum*, e assim é produzido um preservativo em forma de gel. Para o tabaco, é isolada a proteína *Griffithsia* (GRFT) extraída da alga vermelha *Griffithsia corallinoides* e introduzida na planta por meio de uma utilização do vírus mosaico. Já a *Calophyllum* produz um composto cumarínico *Calanolida-A* que é bastante eficaz para o combate do vírus HIV. Elas, por sua vez, atuam inibindo a gp120, para que esta não se ligue às células T CD4+. Assim, tornam-se biofármacos promissores em busca de alternativas terapêuticas contra o vírus HIV.

**Palavras-Chave:** Biotecnologia. Biofármacos. HIV. Transgenia em Plantas. Alternativas Terapêutica.

### PHARMACEUTICALS OF BIOTECHNOLOGICAL ORIGIN ON THE HIV VIRUS THERAPY

#### ABSTRACT

Biopharmaceuticals, pharmaceuticals produced with the aid of biotechnology, are result of the genetic modification of vegetable cells, like soy (*Glycine max*), tobacco (*Nicotiana tabacum*) and *Calophyllum* (*Calophyllum lanigerum var austrocoriaceum*). These transgenic systems, in turn, are having great breakthroughs on alternative therapy for the treatment of patients infected with the HIV virus. In the case of soy, it is modified genetically with the insertion of the *Cianovirina-N* gene, a protein synthesized by the blue algae *Nostoc ellipsosporum*, and by that means a condom in the gel form can be produced. For the tobacco, we isolate the protein *Griffithsia*(GRFT) extracted from the red algae *Griffithsia corallinoides* and then is introduced on the plant by utilization of the mosaic virus. As for the *Calophyllum*, it produces coumarin compound *Calanolida-A* which is very effective in combatting the HIV virus. They, in turn, act by inhibiting the gp120, so that the latter doesn't connect to the T CD4+ cells. That way, they are turned into promising biopharmaceuticals in the search of alternative therapies against the HIV virus.

**Keywords:** Biotechnology. biopharmaceuticals. HIV. Transgenesis in plants. Alternative Therapy.

## INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (*acquired immunodeficiency syndrome- AIDS*) é uma das mais importantes e sérias epidemias que tem repercussão desde o aparecimento do primeiro caso na década de 1980. Globalmente, existem aproximadamente 35,3 milhões de pessoas, em todo o mundo, afetadas pelo vírus da imunodeficiência humana (*human immunodeficiency virus- HIV*), e houve o aparecimento de 2,3 milhões de novas infecções por HIV só no ano de 2012 (UNAIDS, 2012).

Uma das regiões mais afetadas pelo HIV é a África subsaariana que representa cerca de 69% de afetados na população mundial. Outras regiões como o Caribe, Leste da Europa e Ásia Central também têm sido afetadas pelo vírus. Porém, o número de infectados apresentou um declínio bastante significativo em 2011, o qual representa 20% a menos desde o ano de 2001 (PNUD, 2012). Isso se deve ao fato de que a tecnologia vem contribuindo com a medicina em avanços científicos a partir de pesquisas inovadoras relevantes para a terapêutica do HIV. Além disso, foi observado que o número de pessoas com acesso ao tratamento da doença vem aumentando a cada ano e já totalizou 9,7 milhões em 2012. Assim como diversas campanhas que são realizadas a cada ano para a prevenção, estas fazem com que o número de óbitos diminua, totalizando, aproximadamente, 1,8 milhões de pessoas no mundo (AIDS EPIDEMIC UPDATE, 2012).

É nesse ambiente tecnológico de pesquisas com a contribuição da biotecnologia, que pôde ser dado um grande passo para a obtenção de alternativas na terapêutica para os pacientes infectados com o vírus HIV (DINIZ & FERREIRA, 2010).

Sabe-se que atualmente o uso de combinações de fármacos para retardar o surgimento de variantes resistentes (UNAIDS, 2014) é mais eficaz do que regimes monoterápicos (DE CLERCQ, 2010). Pelo fato dessa combinação de fármacos já ter sido bastante empregada nos tratamentos contra o HIV, deve-se ter muito cuidado, pois sempre haverá o risco de o vírus desenvolver resistência às drogas. Por isso, a procura de inovações terapêuticas para o desenvolvimento de novas substâncias farmacológicas que possam auxiliar na terapêutica desses portadores se torna um objetivo viável, desde que sejam seguros, minimizando ao máximo possíveis reações imunológicas aos pacientes (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2010).

O uso da biotecnologia na área da saúde está ganhando cada vez mais espaço por apresentar meios de manipulação genética na qual resultam em enzimas e proteínas que são capazes de produzir resposta terapêutica ao paciente com malária, leishmaniose, doenças crônicas entre outros (REIS et al., 2009; GUIDO et al, 2010; OLIVEIRA; SPENGLER, 2014). Bem como a produção de biofármacos desenvolvidos através da tecnologia do DNA recombinante, concomitantemente, outros produtos são estudados e têm ganhado um espaço significativo, como enzimas que podem ser utilizadas em diversas áreas como as lipases na área cosmética (COLLA; REINEHR; COSTA, 2012); a bromelina na terapia antineoplásica na área da saúde (COSTA, 2014), anticorpos monoclonais, Interferons etc. Porém, a biotecnologia na área farmacológica não conta só com a engenharia de produtos a partir de tecidos e células tronco, mas também com a produção de biofármacos (CARRER et al., 2010).

Esses biofármacos possuem uma vasta aplicabilidade na indústria farmacêutica principalmente na área da saúde, também contam com pesquisa e desenvolvimento de novas vacinas e terapias gênicas. O desenvolvimento e produção de kits de reagentes para diagnósticos, o que favorece o setor das análises clínicas, entre outras possibilidades, a biotecnologia vem impactando a área farmacêutica (REIS, 2013).

## BIOTECNOLOGIA NA PRODUÇÃO DOS BIOFÁRMACOS

A biotecnologia, apesar de ser considerada uma tecnologia recente, possui origem antiga; há mais de seis mil anos com os processos fermentativos para a produção de pães e bebidas e se perpetua até a era moderna, graças ao desenvolvimento de produtos com finalidade terapêutica, utilizando-se de organismos ou organelas celulares (CARRER et al., 2010; GOMES; BORÉM, 2013). Essa tecnologia compreende a manipulação genética de seres vivos para produzir bens e serviços. Produtos e técnicas, criados a partir da biotecnologia, são utilizados em vários setores produtivos da sociedade como: energia, agricultura, meio ambiente, alimentação e principalmente na área da saúde, onde a cada dia são produzidos novos medicamentos como hormônios e vacinas (MALAJOVICH, 2011). Graças à biotecnologia e sua principal área do conhecimento, a engenharia genética, é possível a manipulação do material genético de diversas plantas e animais com a finalidade de implementar características benéficas e úteis, ou até mesmo para a obtenção de produtos de interesse (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2010).

Desde o século XX, com os avanços industriais, tornou-se possível a integração dos conhecimentos da genética com a inovação dos processos industriais. A engenharia genética, um dos campos mais importantes da biotecnologia, tem como objetivo a transferência de genes específicos de diferentes organismos, gerando um

transgênico ou organismo geneticamente modificado (OGM), permitindo assim a criação de novos produtos ou processos. Vem sendo utilizado alguns tipos de sistemas de expressões proteica, como as células hospedeiras de: bactérias; levedura; fungos; células de inseto; células de mamíferos e células vegetais, capazes de receber moléculas de DNA recombinantes (BENAVIDE, 2013), adquirindo assim novas características como, por exemplo, na agricultura a construção de plantas transgênicas resistentes a insetos, herbicidas, fatores ambientais, maior teor nutricional; e na área da saúde, principalmente na produção de biofármacos (FERREIRA, 2011; GOMES; BORÉM, 2013). Como apresentado por Malajovich (2011), um vegetal transgênico portador de gene exógeno pode se apresentar como biofábricas produtoras de biofármacos mais seguros e acessíveis economicamente para a população (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2010)

## PLANTAS TRANSGÊNICAS COMO PRODUTORAS DE BIOFÁRMACOS

Plant Molecular Farming (PMF) é a denominação de plantas transgênicas na produção de fármacos recombinantes como proteínas e enzimas (OBEMBE et al., 2011). Muitas são as vantagens de utilizar as plantas como sistema de expressão proteica, para obtenção de biofármacos, dentre elas podemos listar: maior economia e biossegurança, isso porque como dito anteriormente, a biotecnologia auxilia de forma cautelosa para não haver grandes impactos negativos ambientais, e os custos são bem menores quando comparados a outros sistemas de expressão utilizados, como os de animais transgênicos, processos fermentativos ou uso de biorreatores. As plantas não possuem nenhum patógeno humano como os príons, vírions, endotoxinas e pirógenos, o que prejudicaria e/ou contaminaria o produto final. Por ter um padrão de glicosilação similar às proteínas humanas, elas conseguem sintetizar as proteínas eucarióticas e ter atividade capaz de dobrar estruturalmente de forma eficiente essas proteínas e enzimas. A proteína produzida pelas plantas possui uma estabilidade bem maior reduzindo a degradação posterior do produto final (ROCHA, MARIN, 2011; SUNIL KUMAR, 2012).

Para a produção de biofármacos, a partir de plantas transgênicas, é necessário o apoio e conhecimento multidisciplinar, como a ecologia, agronomia e a biologia molecular para que se obtenha segurança à saúde humana e ao meio ambiente sem oferecer nenhum tipo de riscos, como: altas concentrações de proteínas recombinantes sendo injetadas na planta hospedeira, podendo causar diferentes respostas fisiológicas em humanos ou animais que recebem o produto final; como resistência a antibióticos; alergias e toxicidade; um risco na economia para o setor agroindustrial devido a contaminações cruzadas, o fluxo de pólen para outras regiões, é visto como um risco grande e indesejável não só aos seres humanos como também as aves, insetos e animais que se utilizam destes alimentos modificados geneticamente (SPÖK et al., 2008; OBEMBE et al., 2011; JOUZANI et al., 2013).

## HIV

O vírus HIV é um vírus envelopado, provido de glicoproteínas que interagem a sítios de ligação, encontrados na membrana dos leucócitos. O primeiro passo para a infecção do vírus HIV é a interação de uma proteína chamada Gp120, encontrada no envelope do vírus, com a que induz a exposição de um co-receptor CCR5 e CXCR4 encontrado em linfócito CD4+, esta interação induz mudanças conformativas tanto no CCR5 quanto na Gp120, o que culmina com a fusão do vírus com a membrana do Linfócito CD4+ (KWON, 2013; TAMAMIS, 2014).

O tropismo da proteína Gp120 pelos receptores CCR5 depende do número de N-glicosilações e seus pontos específicos, bem como as distribuições de cargas elétricas que podem variar entre as proteínas dos vírus HIV. Uma alça chamada de V3 encontrada na proteína Gp120 parece ser o principal fator de tropismo para os receptores CCR5 (ARRUDA, 2014).

Outra proteína importante para a fusão do vírus HIV com a célula CD4+ é a proteína Gp41, que parece apresentar importante papel no processo infeccioso. Esta proteína é produzida ao mesmo tempo em que a Gp120, através da clivagem da proteína Gp160. O mecanismo específico pelo qual a Gp41 promove fusão do vírus com a membrana da célula CD4+ ainda permanece desconhecido, mas estudos bioquímicos demonstram uma interação importante entre a Gp120 e Gp41, talvez importante para o mecanismo da infecção (GUTTMAN, 2013). Estudos demonstram que a imunoglobulina IgA, presente nas mucosas, é capaz de se ligar e inativar a proteína Gp41 (YATES, 2012). Estudos biofísicos e bioquímicos desta proteína demonstraram os domínios N-terminal fusão peptídeo (FP) e C-terminal membrana proximal região externa (MPER), os quais participam da formação das vesículas e isso implica no importante papel desta proteína no processo de fusão do vírus com a membrana celular (BANERJEE, 2014).

As infecções causadas por vírus envelopados têm sido alvo de inúmeras pesquisas para o desenvolvimento de profilaxia e terapia por meio de agentes antivirais. Algumas proteínas do grupo das lecitinas

apresentam propriedade de se unir a dissacarídeos encontrados em glicoproteínas virais que apresentam alta concentração de manose. Esta composição bioquímica ocorre em vários vírus, inclusive no vírus HIV (MOULAEI, 2010).

Dentre os compostos antivirais pertencentes ao grupo das lecitinas produzidas, destacam-se os que apresentam importância na indústria farmacêutica como a Calanolida A, um composto que vem sendo utilizado com êxito contra a infecção do HIV, inibindo a enzima transcriptase reversa (ASSIF, 2015). Além da Calanolida A, outras proteínas, pertencentes ao mesmo grupo, como a Cianovirina N e a Griffithsina, também apresentam atividades contra o vírus HIV, bem como a outros vírus envelopados (HOORELBEKE, 2013).

## Cianovirina N

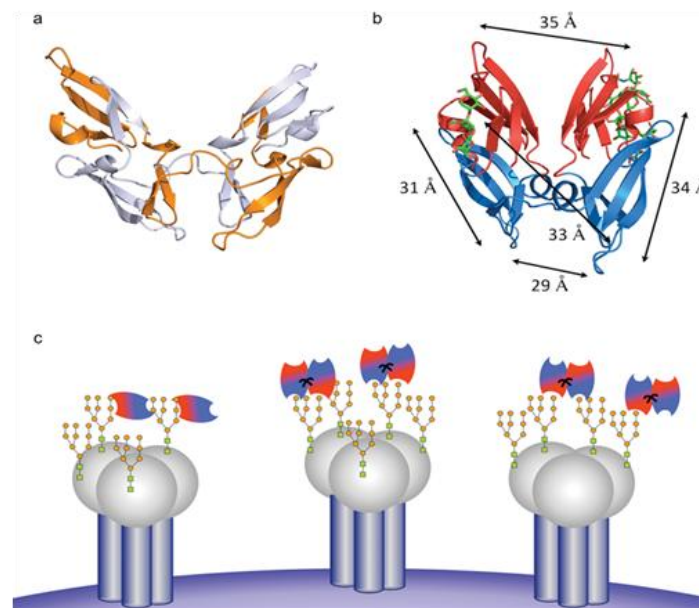
A Cianovirina N (CV-N) é uma proteína originalmente isolada de Cianobactérias *Nostoc ellipsosporum*. Descoberta pelo Instituto Nacional de Câncer (NCI) e pelo NIH - Instituto Nacional de Saúde, ambos institutos dos Estados Unidos, apresenta uma potente atividade contra o vírus HIV (OLIVEIRA, 2013).

O NCI juntamente com o NIH identificou o potencial desta enzima no combate de doenças virais, cuja patente está sob sua guarda. Porém, apesar da descoberta, os pesquisadores ainda tinham dificuldades econômicas para produzir essa enzima em grande escala. Durante este período, tomaram conhecimento das técnicas de inserção genes em soja, desenvolvidos por um grupo de pesquisa brasileiro, coordenado pelo professor Elíbio Rech da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Estes pesquisadores norte-americanos forneceram a sequência nucleotídica do gene da Cianovirina e o grupo de pesquisadores brasileiros fez a inserção deste no genoma da soja, resultando em uma parceria entre NCI, NIH e a Embrapa. Atualmente, soja transgênica já está produzindo sementes com a enzima Cianovirina N (O'KEEFE, 2013).

Segundo o professor Elíbio Rech da Embrapa, o grande desafio de hoje é melhorar o processo de extração ou purificação da Cianovirina das sementes da soja transgênica, pois os resultados apontam a presença de apenas 10 gramas da proteína por quilo de sementes frescas. Sabe-se que não é possível purificar 100% de enzima do grão da leguminosa, pois é normal que ocorram perdas no processo de purificação. Até o momento é possível a extração de 20% ou 2 g do produto e a meta é atingir 50% de extração (OLIVEIRA, 2013).

Estudos mostram que através da inativação das proteínas virais Gp120 e Gp 41, como mostra a figura 1, o efeito antiviral da CV-N ocorre através da inibição da fusão do vírus com a célula, ou através da inibição de fusão entre células infectadas e não infectadas, ou ainda, através da inibição de transmissão de antígenos, mediada por células do sistema imunológico, que envolvem as células dendríticas (CHEN, 2014). A CV-N é uma proteína do grupo das lecitinas, que foi descoberta através de experimentos, os quais, extratos de plantas, algas e bactérias foram colocados em contato com diversos vírus, incluindo o vírus HIV (ALEXANDRE, 2014). Esta proteína tem a propriedade de induzir mudanças conformativas na proteína Gp120 e, por conseguinte, inibir os mecanismos sinalizatórios importantes para a fusão do vírus com a célula (WOODRUM, 2013).

Figura 1 - a) CV-N na forma de dímero. b) Simetria dos sítios de ligação da CV-N com os carboidratos representados em verde, em vermelho os oxigênios e em azul os nitrogênios. c) Representação das possíveis formas de ligação da CV-N com a Gp120.



Fonte: WOODRUM, 2013.

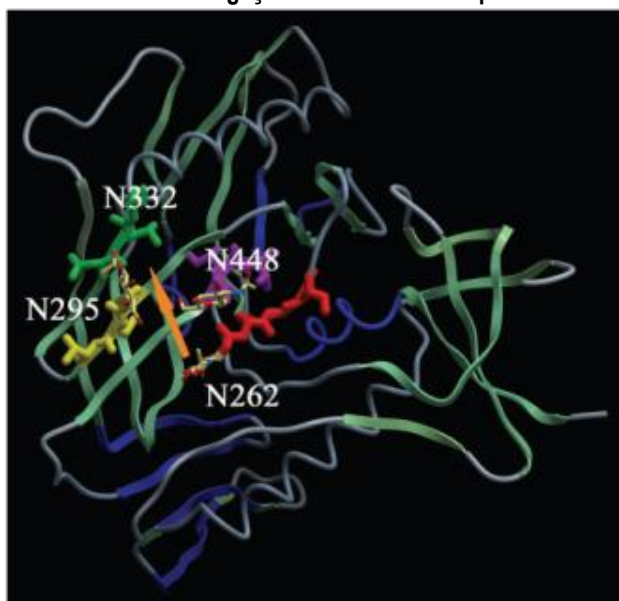
Estudos realizados com gel de CV-N a 1% e 2% demonstraram a prevenção contra o vírus da imunodeficiência símea (SIV) em macacos machos e fêmeas, tanto uso por via vaginal em fêmeas, quanto retal em machos (GUPTA, 2013). A modificação da microbiota vaginal do gênero feminino do *Macacos rhesus* através da introdução de lactobacilos geneticamente modificados produtores de CV-N mostraram resultados positivos na inibição da transmissão do vírus SIV, não alterando o pH, nem causando processos inflamatórios significativos (BRICHACEK, 2013).

### Griffithsina

A Griffithsina (GRFT) é uma proteína do grupo das lecitinas contendo 121 aminoácidos, derivada de algas vermelhas do gênero *Griffithsia*, apresenta propriedades antivirais, e é muito promissora no combate às infecções, não causa toxicidade podendo ligar-se as células mononucleares do sangue humano periférico e mesmo assim mantém sua atividade viral. Todas essas características fazem da GRFT um potente microbicida e um excelente promissor antiviral. A GRFT é uma lecitina ativa contra infecção do vírus HIV com potencial de se ligar a proteína GP120 encontrada no envelope viral, sendo importante para o processo infeccioso, a interação desta proteína com a célula a ser infectada, o linfócito T CD4<sup>+</sup>, ocorre através da presença de açúcares presentes na proteína GP120 denominados resíduos de manoses (Figura 2) (MOULAEI 2010; HUANG, 2011; HOORELBEKE, 2013).

Estes carboidratos representam aproximadamente 50% do peso molecular desta proteína, representando um importante sítio de ligação com a célula CD4<sup>+</sup> (ALEXANDRE, 2011). Apresentando entre 18 a 33 glicosilações, sendo 12 sítios com alta manose, podendo alterar de acordo com a tipo do vírus (HOORELBEKE, 2013).

**Figura 2 - Estrutura da GP120 e seus sítios de ligação contendo açúcares, que são importantes para a ligação com a célula CD4+. Posição N295 em amarelo, N332 em verde, N262 em vermelho e N448 em púrpura. Seta em laranja indicando o sentido da ligação da GRFT com a Gp120.**



Fonte: Adaptado de Huang, 2011.

Estudos bioquímicos revelam que a estrutura da GRFT é dimérica, contém três regiões de alta concentração de manoses, representando um sítio crucial para a ligação com a GP120. Através da ligação de alta afinidade da GRFT às proteínas virais através dos resíduos de alta manose, a GRFT impede a replicação viral, contaminação de outras células CD4+ e a transmissão indireta através de células dendríticas e macrófagos (XUE, 2011; XUE, 2013).

A Embrapa juntamente com uma nova equipe de pesquisadores modificou geneticamente o tabaco (*Nicotiana benthamiana*), com a inserção de um gene responsável por codificar uma proteína análoga à GRFT. A planta modificada tem a capacidade de produzir mais de um grama de proteína recombinante, o que torna a técnica mais viável que outras já realizadas (O'KEEFE, 2009). Essa modificação foi realizada usando o processo de infecção do vírus do mosaico do tabaco, onde foi inserido no vírus o gene da alga vermelha produtora da GRFT, e este por sua vez contaminou a planta tabaco, que passou a produzir essa proteína por toda sua extensão (GILBERT, 2009). A GRFT demonstrou ser um importante componente para a produção de fármacos de uso experimental na profilaxia da infecção do HIV através de preparações farmacêuticas de usos tópicos (FÉRIR, 2012).

Ambas, a GRFT selvagem e a transgênica, apresentaram importante atividade contra o HIV-1, mostrando através de estudos cromatográficos e de ensaios de imunoblotting a interação da GRFT com a GP120 e a inibição da morte celular *in vitro* (MORI, 2004). O sítio de ligação da Gp120, que é inibida pela GRFT, foi inibido por anticorpos monoclonais, demonstrando assim a ligação do anticorpo na ausência da GRFT. Porém, quando as células eram incubadas com GRFT, o mesmo anticorpo não conseguia se ligar a proteína GP120 devido à interação prévia da GRFT (ALEXANDRE, 2011).

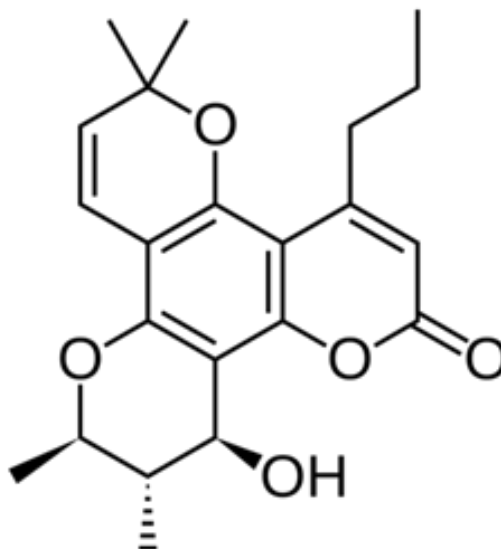
Segundo Palmer (2009), será possível produzir doses dessa proteína por baixo custo econômico, talvez com o mesmo custo de um preservativo masculino. Essa substância será utilizada na fabricação de gel, assim como com a Cianovirina N, para ser usado por via vaginal ou anal, antes das relações sexuais. Ambas as proteínas atuam da mesma forma, ou seja, liga-se a molécula gp120 do vírus e impede que ocorra a invasão do vírus nas células T CD4+. A GRFT tem se mostrado um potente inibidor do vírus HIV, ao entrar em contato com o vírus esta proteína é capaz de inativá-lo imediatamente (ZIÓLKOWSKA, 2006; ZELTLIN, 2009; O'KEEFE, 2011; HUANG, 2011).

## Calanolida A

A Calanolida A é um composto cumarínico, recebe esta definição devido aos anéis benzênicos que compõem as moléculas deste grupo (figura 3). Este composto cumarínico é encontrado de forma natural na *Calophyllum lanigerumis*, uma árvore típica da Malásia. É um potente inibidor da enzima transcriptase reversa (TR), que faz a conversão do genoma viral na forma de RNA para cDNA e, por conseguinte, sua associação ao genoma da célula

infectada, favorecendo a replicação viral (ASIF; XU, 2015). A calanolida A se mostrou um eficiente inibidor da TR, ocorrendo em dois sítios diferentes, esse composto se revelou operativo e eficaz inclusive em vírus HIV, que apresentam mutação na TR em sítios chamados Y181C (DEFANT, 2015).

Figura 3: Estrutura da Calanolida A.



Fonte: DEFANT, 2015.

Um isômero da Calanolida A, a Calanolida B, também apresenta atividade anti HIV e vem sendo alvo de estudos de novos inibidores da TR não nucleosídeos (NNRTIs). Assif e colaboradores (2015) realizaram estudos que demonstraram que a atividade da Calanolida A pela TR, quando comparada com o Calanolida B, possui melhor eficácia (SOUZA et al., 2008).

A Calanolida A se encontra na classe de medicamentos utilizados no tratamento da AIDS, e sua administração é realizada através de combinações de inibidores da TR, como inibidores de *protease*, por exemplo, obtendo maior atividade contra o vírus invasor e avaliado com maior precisão seus possíveis efeitos colaterais durante o tratamento. Uma de suas funções é a de impedir que o vírus HIV adentre células saudáveis, impossibilitando a proliferação do vírus e contribuindo para diminuição da quantidade de vírus no organismo do infectado (AIDSMEDS, 2014).

A primeira fase de testes em humanos ocorreu no ano de 1998, onde foram testados seus efeitos colaterais no organismo humano. Foram administradas doses únicas de 600 mg em 47 adultos saudáveis, houveram manifestações de alguns efeitos colaterais como: tonturas, cefaleia e náuseas. Porém no ano seguinte aos testes, uma nova bateria de estudos foi realizada, desta vez, com indivíduos assintomáticos infectados pelo vírus HIV. Os efeitos colaterais de pacientes que utilizam da terapia ainda estão sendo estabelecidos com base em estudos. Mas já foram relatados por pacientes sintomas como: cefaleia, azia, tonturas, que são considerados efeitos “brandos” com relação aos efeitos colaterais dos medicamentos convencionalmente usados, os antirretrovirais (CHILPA; REYES, 2009).

## DISCUSSÃO

Apesar do artigo se tratar de uma revisão sobre os esforços da biotecnologia no desenvolvimento de novos compostos e novos métodos farmacológicos de profilaxia e prevenção de infecção, estes novos métodos representam a busca contínua da erradicação do vírus HIV do nosso planeta, mas não podemos deixar de levar em conta a virulência do vírus que é extremamente mutável, podendo dificultar futuramente o processo de fabricação e o efeito esperado destes biofármacos.

A contínua mutação desses vírus e o surgimento de vírus emergentes levam a uma contínua corrida em busca de novas formas de tratamentos e profilaxias que nem sempre condizem com a velocidade com a qual esses vírus se tornam mais resistentes e agressivos. As buscas de compostos naturais somado aos avanços da ciência nos revelam inúmeras substâncias potencialmente importantes na luta contra estas classes de vírus. Revelando possibilidades de compostos de baixo custo e maior espectro de ação.

A Calanolida A, um composto com princípio ativo com potencial de ação inibitória sobre a enzima TR, mostrou-se promissora no tratamento contra vírus HIV mutantes, os quais não respondem aos inibidores da TR convencionais (DEFANT, 2015). A Calanolida A tem atividade contra o vírus HIV atuando na TR mesmo com a presença de mutação no sítio Y181C; outra grande vantagem que este composto natural apresenta é que vem sendo usado de forma empírica para tratar diversas infecções, sendo observado até mesmo atividade antitumoral (SUFFREDINE, 2014).

A Cianovirina N se mostrou ativo inibidor da TR devido aos seus curiosos sítios de manoses que formam ângulos estereoquímicos de alta afinidade com a Gp120 (WOODRUM, 2013). Ela foi explorada de diferentes formas e, resultados impressionantes puderam ser observados, Gupta (2015), por exemplo, utilizou uma apresentação de Cianovirina N em gel a 1%-2% e demonstrou prevenção de infecção em fêmeas que utilizaram o gel via vaginal e em machos via retal. Foi observado uma alteração na microbiota vaginal de *macacos rhesus* fêmeas, resultando na inibição de TR no grupo experimental sem alterar de forma agressiva o tecido vaginal (BRICHACEK, 2013).

A Griffithsina (GRFT) também do grupo das lecitinas que por ser uma proteína muito versátil, vem sendo alvo de inúmeros trabalhos contra uma infinidade de vírus envelopados, tais como, vírus síndrome respiratória severa aguda (SARS), contra o vírus da hepatite C (HCV), além do vírus Ebola, o qual esteve por trás de inúmeros casos de morte no mundo (HOORELBEKE, 2013). Através do uso de anticorpos monoclonais, demonstrou-se que a GRFT se liga com alta afinidade a proteína Gp120, inibindo assim a infecção e morte celular *in vitro* (ALEXANDRE, 2011).

Estudos mostram que enquanto na soja a proteína Cianovirina é obtida somente nas sementes da planta, na *Nicotiana benthamiana* a proteína é obtida em toda a estrutura da planta. Isso ocorre porque o gene codificador da proteína é inserido na planta através do vírus do mosaico do tabaco. Desta forma, indica que há grandes diferenças na forma produtiva de ambas proteínas, tornando o custo da produção na planta *Nicotiana Benthamiana* mais barato. Outra vantagem é que a proteína griffithsina possui uma grande atividade contra os subtipos A, B e C do HIV-1. Isso indica que ela poderá funcionar contra vírus presentes nas principais áreas do mundo.

Diante disso, os biofármacos que utilizam plantas transgênicas como sistema de expressão de proteínas têm sido utilizados frequentemente para obtenção de alternativas terapêuticas para várias doenças inclusive o HIV. Por isso, é necessário vencer o desafio de viabilizar o processo de purificação e assim tornar possível a criação de um biofármaco a um preço comercial acessível.

## CONCLUSÃO

Os biofármacos produzidos a partir de organismos geneticamente modificados ou a partir de organismos selvagens representam uma realidade terapêutica tanto no tratamento, quanto na prevenção da infecção contra HIV. Esses têm vantagem de promover resposta terapêutica em vírus que não respondem ao tratamento convencional, vírus resistentes. O uso de biofármacos representa a possibilidade de desenvolvimento de novas alternativas farmacêuticas na prevenção de infecções. Estudos na área de biofármacos estão promovendo uma nova perspectiva na terapia do HIV, Hepatites, além de vírus que representam uma ameaça iminente à saúde humana, os vírus emergentes como o Ebola. Além da problemática na terapêutica do vírus HIV devido sua facilidade de vias mutacionais, bem como o aparecimento de novos vírus, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas baseadas na geração de substâncias mais eficazes e de mecanismos de ações diferenciados, refletindo assim na relevância dos estudos e utilização de compostos antivirais (pertencente ao grupo das lecitinas) como é o caso da Cianovirina N, a Griffithsina e a Calanolida A.

## REFERÊNCIAS

AIDSMEDS. **Your ultimate guide to HIV care**. Disponível em: <[http://aidsmeds.com/articles/calanolide-A\\_9414.shtml](http://aidsmeds.com/articles/calanolide-A_9414.shtml)>. Acesso em: 02 Out 2014.

AIDS EPIDEMIC UPDATE. **The evolving epidemiology of HIV/ AIDS**. Disponível em: <[http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/2012/06190/The\\_evolution\\_of\\_epidemiology\\_of\\_HIV\\_AIDS.9.aspx](http://journals.lww.com/aidsonline/Abstract/2012/06190/The_evolution_of_epidemiology_of_HIV_AIDS.9.aspx)>. Acesso em: 05 Set. 2014.

ALEXANDRE, K.B. **Binding of the Mannose-Specific Lectin, Griffithsin, to HIV-1 gp120 Exposes the CD4-Binding Site**. Journal of Virology, Johannesburg, v 85 p. 9039–9050, 2011.

ALEXANDRE, K.B. **Mechanisms of HIV-1 subtype C resistance to GRFT, CV-N and SVN**. Virology, USA, v. 446 p. 66–76, 2013.



ARRUDA, L.B. **Caracterização molecular da GP120 do HIV-1 e suas implicações sobre o tropismo sobre os receptores CCR5 e CXCR4.** São Paulo, USP. 2014.

ASSIF, M. **Overview of Diverse Pharmacological Activities of Substituted Coumarins: Compounds with Therapeutic Potentials.** American Journal of Current Organic Chemistry, Dehradun, v 1 p.01 -16, 2015.

BANERJEE, K., WELIKY, D.P. **Folded monomers and hexamers of the ectodomain of the HIV gp41 membrane fusion protein: potential roles in fusion and synergy between the fusion peptide, Hairpin, and Membrane-Proximal External Region.** ACS Publications. Michigan, vol.53 pg 7184 -7198, 2014.

BENAVIDE, Veronica G. **Panorama sobre alguns entraves e desafios na produção nacional de biofármacos.** (2013). Disponível em: <[Http://www.arca.fiocruz.br/xmlui/bitstream/handle/icict/7734/34.pdf?sequence=2](http://www.arca.fiocruz.br/xmlui/bitstream/handle/icict/7734/34.pdf?sequence=2)>. Acesso em: 11 Jul. 2015.

CARRER, H. B., A. L., RAMIRO, D. A. **Biotecnologia na agricultura.** Estud. av., São Paulo , v. 24, n. 70, p. 149-164, 2010 . Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-40142010000300010&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000300010&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 17 Set. 2015.

CHEN, J., Linker-Extended Native Cyanovirin-N Facilitates PEGylation and Potently Inhibits HIV-1 by Targeting the Glycan Ligand. **PLOS ONE**, China, v.9 2014.

COLLA, Luciane Maria; REINEHR, Christian Oliveira; COSTA, Jorge Alberto Vieira. **APLICAÇÕES E PRODUÇÃO DE LIPASES MICROBIANAS.** Revista de Ciências Exatas Aplicadas e Tecnológicas da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, v. 2, n. 4, p.1-14, 2012.

COSTA, Helber Barcellos da. **Desenvolvimento de processo para a purificação de Bromelina a partir de resíduos de abacaxizeiro (Ananas comosus var. comosus) cv. Vitória.** Disponível em: <[http://portais4.ufes.br/posgrad/teses/tese\\_7411\\_Tese\\_Helber%20Barcellos.pdf](http://portais4.ufes.br/posgrad/teses/tese_7411_Tese_Helber%20Barcellos.pdf)>. Acesso em: 09 Mar. 2016.

DE CLERCQ E. Antiretroviral drugs. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10:507-15.

DEFANT, A. **Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel 2H-Pyran-2-one Derivatives as Potential HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors.** Arch. Pharm. Chem. Life Sci. Trento, Italy, v 348, p 23–33, 2015.

DINIZ, M. O., FERREIRA, L. C. S., **Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas.** Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-40142010000300003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-40142010000300003&script=sci_arttext)>. Acesso em: 27 Abr. 2015.

FÉRIR, G. **Combinations of Griffithsin with Other Carbohydrate-Binding Agents Demonstrate Superior Activity Against HIV Type 1, HIV Type 2, and Selected Carbohydrate-Binding Agent-Resistant HIV Type 1 Strains.** Aids Research and Human Retroviruses. Bélgica, V28, 1513 -1524, 2012.

FERREIRA, R.C.S; RIFFEL, A.; SANT'ANA, A.E.G., **HIV: mecanismo de replicação, alvos farmacológicos e inibição por produtos derivados de plantas.** Química. Nova, vol. 33, n. 8, p 1743-1755, 2010

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. INSTITUTO OSWALDO CRUZ. **O vírus da AIDS 20 anos depois: a epidemia da AIDS através dos tempos.** Rio de Janeiro, 2010. Disponível em: <<http://www.ioc.fiocruz.br/aids20anos/linhadotempo.html>>. Acesso em: 14 Abr. 2015

GILBERT, Natasha. **Proteínas anti-HIV feitas em plantas.** Disponível em: <<http://www.nature.com/news/2009/090330/full/news.2009.208.html>>. Acesso em: 12 out. 2014.

GOMES, W. S. BORÉM, A., **"Biotecnologia: novo paradigma do agronegócio brasileiro."** *Revista de Economia e Agronegócio/Brazilian Rev. Econ. Agribus.* P 11.1 (2013). Disponível em: <<http://ageconsearch.umn.edu>>. Acesso em: 10 Jul. 2015.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G., **Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas.** Estud. av., São Paulo , v. 24, n. 70, p. 81-98, 2010 . Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-40142010000300006&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000300006&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 17 Set. 2015.

GUPTA, S.K. **Clinical use of vaginal or rectally applied microbicides in patients suffering from HIV/AIDS.** Research and Palliative Care, India, v. 13:5 p. 295–307, 2013.

GUTTMAN, M., Lee, K.K., **A Functional Interaction between gp41 and gp120 Is Observed for Monomeric but Not Oligomeric, Uncleaved HIV-1 Env gp140.** Journal of Virology, Washington, v.87 p. 11462–11475, 2013.

- HOORELBEKE, B. **HIV-1 envelope trimer has similar binding characteristics for carbohydrate-binding agents as monomeric gp120**. FEBS Letters, Japan, v. 587 p. 860–866, 2013.
- HUANG, X., JIN, W., Griffin, G.E., SHATTOCK, R. J., Qinxue, H. **Removal of two high-mannose N-linked glycans on gp120 renders human immunodeficiency virus 1 largely resistant to the carbohydrate-binding agent griffithsin**. Journal of General Virology, China. v 92, 2367–2373, 2011.
- JOUZANI, G. S. TOHIDFAR, M., **Plant Molecular Farming: Future Prospects and Biosafety Challenges**. Disponível em: <<http://omicsgroup.org/journals/2167-0331/2167-0331-2-e136.php?aid=16509>>. Acesso em: 27 Jul. 2014
- KWON, W.D. **Crystal Structures of HIV-1 gp120 Envelope Glycoprotein in Complex with NBD Analogues That Target the CD4-Binding Site**. PLOS ONE, New York, v.9 2014.
- MADSEN, J. **Surfactant Protein D Modulates HIV Infection of Both T-Cells and Dendritic Cells**. PLOS ONE, USA, v. 8, 2013.
- MALAJOVICK, M. A. **Biotechnologia**. Disponível em: <[www.bteduc.bio.br](http://www.bteduc.bio.br)>. Acesso em: 05 out. 2014.
- MEULEMAN, P., Albecka, A., Belouzard, S., Vercauteren, K., Verhoye, L., Wychowski, C., Leroux-Roels, G., Palmer, K.E., Dubuisson, J. **Griffithsin Has Antiviral Activity against Hepatitis C Virus**. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Kentucky, p. 5159–5167, 2011.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. **Biotechnologia Agropecuária**. Brasília, 2010.
- MORI, T. **Isolation and Characterization of Griffithsin, a Novel HIV-inactivating Protein, from the Red Alga Griffithsia sp**. The Journal of Biological Chemistry, Maryland, v 280, pp. 9345–9353, 2005.
- MOULAEI, T. et al. **Monomerization of Viral Entry Inhibitor Griffithsin Elucidates the Relationship between Multivalent Binding to Carbohydrates and anti-HIV Activity**. Structure, USA. v 18, 1104–1115, 2010.
- MOULAEI, T. et al. **Griffithsin tandemers: flexible and potent lectin inhibitors of the human immunodeficiency virus**. Retrovirology. Frederick, v. 014 pg. 2 -14, 2015.
- NIXON, B. **Griffithsin Protects Mice from Genital Herpes by Preventing Cell-to-Cell Spread**. Journal of Virology, USA, v.87p. 6257–6269, 2013.
- O'KEEFE, B. R. **Scaleable manufacture of HIV-1 entry inhibitor griffithsin and validation of its safety and efficacy as a topical microbicide component**. PNAS, Arizona, v 106 p6099–6104, 2009.
- O'KEEFE, Jennifer R. et al. **Designed oligomers of cyanovirin-N show enhanced HIV neutralization**. 2011. Disponível em: <<http://www.pnas.org/content/108/34/14079.full.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2015.
- OBEMBE, O. O. et al. **Advances in plant molecular farming**. Biotechnology advances, v. 29, n. 2, p. 210-222, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975010001448>>. Acesso em: 23 Jul. 2015.
- OLIVEIRA, Henrique Sulzbach de; SPENGLER, Rafael Luís. **Inovações na área da biotecnologia em saúde humana em países em desenvolvimento e sua importância econômica e social: uma reflexão sobre o cenário atual e perspectivas futuras**. Disponível em: <<http://www.univates.br/revistas/index.php/cadped/article/viewFile/971/564>>. Acesso em: 20 Mar. 2016.
- OLIVEIRA, Marcos de. **Medicamento anti-HIV é obtido de soja transgênica**. 2013. Disponível em: <[revistapesquisa.fapesp.br/2013/04/12/remedio-na-planta](http://revistapesquisa.fapesp.br/2013/04/12/remedio-na-planta)>. Acesso em: 25 ago. 2014.
- PROGRAMA DAS NAÇÕES UNIDAS PARA O DESENVOLVIMENTO. **Países desiguais são mais afetados pelo HIV**. Disponível em: <<http://www.pnud.org.br/Noticia.aspx?id=2137>>. Acesso em: 05 Abr. 2015.
- REIS, Carla. **BIOTECNOLOGIA PARA SAÚDE HUMANA: TECNOLOGIAS, APLICAÇÕES E INSERÇÃO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**. Disponível em: <[http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes\\_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/Set2910.pdf](http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/Set2910.pdf)>. Acesso em: 15 nov. 2015.
- REIS, E. F. **Plantas medicinais : um estudo da sua utilização popular no município de Rubim (MG)**. Disponível em: <<http://200.201.10.18/index.php/ambiencia/article/view/1692/70>>. Acesso em: 10 Jul. 2015.

REYES, RICARDO; CHILPA, MAIRA HUERTA REYES. **Compostos naturais de plantas da família clusiaceae inibidores de imunodeficiência humana tipo 1 do vírus.** Disponível em:

<[http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442009000600005&lng=en&nrm=iso&ignore=.html](http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000600005&lng=en&nrm=iso&ignore=.html)>. Acesso em: 11 Out 2014.

ROCHA, D. R. da; MARIN, Victor Augustus. **Transgênicos- Plantas Produtoras de Fármacos (PPF).** Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232011000800033&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-81232011000800033&script=sci_arttext)>. Acesso em: 25 Jul. 2014

SOUZA, Marcus V.n. de et al. Calanolida A, um promissor produto natural no combate à replicação do vírus HIV e da bactéria *Mycobacterium tuberculosis*. **Revista Brasileira de Farmacologia**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 89, p.125-130, nov. 2008. Disponível em: <[http://www.rbfarma.org.br/files/pag\\_125a130\\_calanolida\\_a.pdf](http://www.rbfarma.org.br/files/pag_125a130_calanolida_a.pdf)>. Acesso em: 15 dez. 2014.

SPÖK, A et al. **Evolution of a regulatory framework for pharmaceuticals derived from genetically modified plants.** Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18676047>>. Acesso em: 20 Jul. 2015.

SUNIL KUMAR, S.V. **Molecular Farming in Crop Plants.** Disponível em: <<http://www.biotecharticles.com/Agriculture-Article/Molecular-Farming-in-Crop-Plants-1274.html>>. Acesso em: 23 Jul. 2014.

TAMAMIS, P., Floudas C.A. **Molecular Recognition of CCR5 by an HIV-1 gp120 V3Loop.** PLOS ONE, USA, v.9, 2014.

UNAIDS. **HIV treatment now reaching more than 6 million people in sub-Saharan Africa.**

Disponível em: <<http://www.unaids.org/en/resources/presscentre/pressreleaseandstatementarchive/2012/july/20120706praticatreatment>>. Acesso em: 12 Set. 2014.

WOODRUM, B.W. **The antiviral lectin cyanovirin-N: probing multivalency and glycan recognition through experimental and computational approaches.** Biochemical Society Transactions, USA, v.41, 2013.

XU, L. **The Study on Biological and Pharmacological Activity of Coumarins.** Asia-Pacific Energy Equipment Engineering Research Conference. Texas, AP3ER, 2015.

XUE, J. et al. **The Griffithsin Dimer Is Required for High-Potency Inhibition of HIV-1: Evidence for Manipulation of the Structure of gp120 as Part of the Griffithsin Dimer Mechanism.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, California, v.5, p. 3976–3989, 2013.

Yates, N.L. **HIV-1 gp41 envelope IgA is frequently elicited after transmission but has an initial short response half-life.** Nature Publishing Group, USA, v. 6 p. 692-703, 2013.

ZEITLIN, L., Pauly, M., Whaley, K.J. **Second-generation HIV microbicides: Continue development of griffithsin.** Mapp Biopharmaceutical, San Diego, v 106, 6029 6030, 2009.

ZHENG, P. et al. **Synthetic Calanolides with Bactericidal Activity against Replicating and Nonreplicating *Mycobacterium tuberculosis*.** ACS Publications. New York. v.57 (9), pp 3755–3772 2014.

ZIOLKOWSKA, N. E. et al. **Domain-Swapped Structure of the Potent Antiviral Protein Griffithsin and Its Mode of Carbohydrate Binding.** Structure, California, v 14, 1127–1135, 2006.