Vital Brazil e o pioneirismo na utilização de venenos animais como agentes terapêuticos

Vital Brazil and the pioneering work on the use of animals venoms therapeutic agents

Ana Marisa Chudzinski-Tavassi[1]
Gisele Picolo[2]
Kerly Fernanda Mesquita Pasqualoto[3]
Yara Cury[4]

1.
Pesquisadora científica PqC-VI do Instituto Butantan, Diretora do Laboratório de Bioquímica e Biofísica, Vice Diretora da DDC (Diretoria da Divisão Científica), Membro da CPG- Programa de Toxinologia. Contato: ana.chudzinski@butantan.gov.br

2.
Pesquisadora científica do Instituto Butantan, Laboratório Especial de Dor e Sinalização. Contato: gisele.picolo@butantan.gov.br

3.
Pesquisadora associada ao Laboratório de Bioquímica e Biofísica - Laboratório de Inovação e Desenvolvimento, do Instituto Butantan. Contato: kerly.pasqualoto@butantan.gov.br

4.
Pesquisadora científica VI do Laboratório Especial de Dor e Sinalização e Diretora Técnica da Divisão de Desenvolvimento Científico do Instituto Butantan. Contato: yara.cury@butantan.gov.br

Resumo

O caráter investigativo e visionário fez do médico Vital Brazil um grande cientista, reconhecido nacional e internacionalmente. Vital Brazil sempre demonstrou visão inovadora sobre venenos e toxinas animais, sugerindo o potencial terapêutico e buscando a comprovação científica deste potencial por meio de estudos direcionados. Venenos, toxinas e secreções animais são considerados fontes naturais importantes à obtenção de compostos bioativos. Estes compostos têm sido utilizados como fonte para obtenção de novos compostos líderes e também como ferramentas para investigação de receptores, canais iônicos e enzimas. Contudo, apesar de diversos compostos obtidos de venenos animais terem sido descobertos e testados nas últimas décadas, raros chegaram, de fato, ao mercado. Processos de desenvolvimento de novos fármacos desta natureza requerem grandes investimentos de tempo e de dinheiro, sem garantia de sucesso. O surgimento de novas técnicas tanto de síntese química, como de triagem de atividade farmacológica, contribuiu sobremaneira para a preferência das indústrias farmacêuticas em

desenvolver novas entidades químicas não oriundas de fontes naturais. Porém, as coleções de milhões de compostos, resultantes da era da abordagem combinatória, não corresponderam ao sucesso esperado. A evolução dos métodos de síntese de peptídeos permitiu que modificações na estrutura química de compostos de origem natural (animal) fossem planejadas a fim de melhorar a estabilidade e a biodisponibilidade oral de peptídeos. Assim, no novo milênio, a indústria farmacêutica retomou os investimentos em produtos de origem natural, tanto em candidatos a fármacos, como compostos líderes para serem otimizados no processo de desenvolvimento. O avanço das ciências "*ômicas*" também contribuiu, de forma significativa, no processo mais racional de descoberta de novos candidatos a fármacos e de novos protótipos, além da identificação de novos alvos moleculares. A estratégia de descoberta mais racional associada à biotecnologia tem permitido que compostos de origem natural (animal) tenham grande destaque tanto no processo de desenvolvimento de novas vacinas como de novos biofármacos.

Palavras-chave
Vital Brazil, venenos e toxinas animais, inovação, bioprospecção, estratégia racional de desenvolvimento.

Abstract
The investigative and visionary character made the doctor Vital Brazil a great scientist, nationally and internationally recognized. Vital Brazil always has demonstrated innovative vision on poisons and toxins animals, suggesting the therapeutic potential and seeking scientific proof of this potential through targeted studies. Poisons, toxins and animal secretions are considered important natural sources of bioactive compounds. These compounds have been used as a source for new leaders' compounds as well as tools for investigation of receptors, ion channels and enzymes. However, in spite of several compounds obtained from poisons animals that have been discovered and tested in recent

decades, very few, arrived in fact, to the market. Development of new drugs of this nature require large investments of time and money, with no guarantee of success. The emergence of new techniques both chemical synthesis, as screening of pharmacological activity, contributed greatly to the preference of the pharmaceutical industries in developing new chemical entities not coming from natural sources. However, the collections of millions of compounds, resulting from the era of combinatorial approach, did not match the expected success. The evolution of the methods of synthesis of peptides allowed changes in chemical structure of compounds of natural origin (animal) planned in order to improve the stability and the oral bioavailability of peptides. Thus, in the new millennium, the pharmaceutical industry has taken over the investments in products of natural origin, both in drug candidates, as leaders' compounds would be optimized in the development process. The omics's science advance also contributed significantly to the more rational process of new candidates and prototypes , as well as the identification of new molecular targets. The discovery more rational strategy associated with biotechnology allowed natural origin (animal) compounds has preeminent role both in the process of developing new vaccines and as new biopharmaceuticals.

Keywords
Vital Brazil, poisons and toxins animals, innovation, bioprospecting, rational development strategy.

É do empirismo que, com frequência, se origina o emprego em medicina, de agentes terapêuticos de reconhecido valor. Assim tem sido, assim é e assim será, porque o dom de observação não é privilégio de uma classe ou de uma profissão. Essa acuidade de bem observar se encontra, não raro, em pessoas leigas e algumas vezes dotadas de poucos conhecimentos. A boa observação, entretanto, é muitas vezes prejudicada por falseamento ou deficiência de interpretação, oriunda da ignorância do observador. É então que intervém a ciência,

corrigindo, interpretando, analisando, comparando, para tirar dos fatos observados todas as deduções teóricas e práticas que os mesmos comportam (Vital Brazil, 1934).

Esta citação salienta o caráter observador, investigativo e visionário, que fez do médico Vital Brazil um grande cientista, reconhecido no cenário nacional e internacional.

Vital Brazil sempre demonstrou visão inovadora sobre os venenos, não somente sugerindo o potencial terapêutico, mas também buscando a correspondente comprovação científica do potencial terapêutico, acima de qualquer efeito tóxico.

Há relatos que, em 1903, o Dr. Vital Brazil conduziu um ensaio visando o tratamento de dois leprosos com veneno de cascavel (serpente *Crotalus durissus terrificus*) no Instituto Butantan. Ensaio com o mesmo foco foi descrito por Joseph François Xavier Sigaud no livro *Du climat et des maladies du Brésil*, publicado em 1844 em Paris. Sigaud imigrou para o Brasil em setembro de 1825 e veio recomendado por carta do Ministro dos Negócios Estrangeiros da França, Ange Hyacinthe Maxence de Damas de Cormaillon, ao Conde de Gestas e Cônsul Geral da França no Brasil, Jacques-Marie Aymard, como médico e naturalista com interesse em realizar estudos no campo da história natural e de clinicar (Ferreira, 2009). No relato de Sigaud (1844), um jovem com hanseníase, sugestionado pela ideia de que o veneno da serpente cascavel teria ação sobre a doença, baseado em notícias de que outro portador de hanseníase havia sido curado após ter sido picado por tal serpente, se deixou picar em público, em presença de renomados médicos da época, para que se entendesse o suposto processo de cura. No entanto, a experiência resultou na morte rápida do paciente, sem permitir qualquer conclusão. O ensaio conduzido pelo Dr. Vital Brazil, no Instituto Butantan, por outro lado, com injeções cautelosamente controladas de pequenas doses do veneno, promoveu a imunização contra a peçonha, sem acarretar qualquer alteração no estado mórbido dos pacientes (Brazil, 1934).

Vital Brazil e um grupo de médicos brasileiros propuseram investigar o efeito antiepilético do veneno de cascavel. Cabe ressaltar que este tema foi objeto de estudo de cientistas ao redor do mundo, principalmente na Europa. O fato responsável por todo o interesse da comunidade científica foi relatado nos Estados Unidos, onde um paciente epilético não apresentou mais as crises convulsivas após ter sido picado por uma cascavel. No entanto, os resultados obtidos pelos cientistas, em diferentes países e continentes, foram contraditórios e tais discrepâncias foram atribuídas aos variados protocolos de estudo empregados, principalmente no que se referia à origem dos venenos investigados (Brazil, 1934).

No final da década de 1920, publicaram-se relatos de casos sobre a atividade analgésica de venenos de serpentes em seres humanos. Estudos desenvolvidos por pesquisadores franceses utilizando veneno crotálico e de naja para o tratamento de dores de diferentes origens, tiveram repercussão importante no meio médico brasileiro, particularmente entre os profissionais do Instituto Vital Brazil. Para atender tal demanda, Vital Brazil e sua equipe selecionaram o veneno da serpente *Crotalus durissus* para ser utilizado na investigação da atividade analgésica. O veneno de *Crotalus durissus* foi escolhido por conta das seguintes características: (i) presença de ação neurotóxica importante (naquela época, se acreditava que o efeito analgésico do veneno da naja era decorrente da ação neurotóxica), (ii) ser o mais estável entre os venenos de serpentes brasileiras e (iii) ser facilmente fracionável, permitindo que os efeitos fossem observados mesmo com quantidades ínfimas. Então, soluções bem diluídas eram preparadas e o soluto de veneno era distribuído aos médicos, com o compromisso único de comunicarem os resultados. Os dados obtidos mostraram que o veneno de *Crotalus durissus*, da mesma forma que o observado pelos pesquisadores franceses, com o veneno de naja, apresentava efeito analgésico quando administrado a pacientes com diferentes tipos de dores. No caso de pacientes com câncer, observava-se, ainda, a redução do tamanho dos tumores em

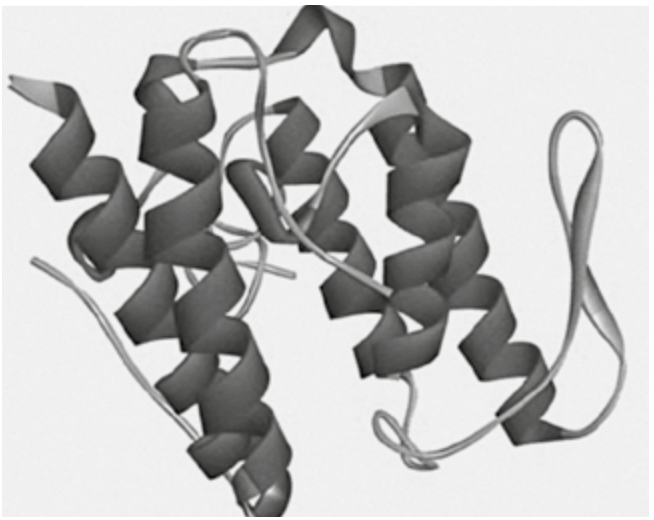

Figura 1
Estrutura tridimensional (3D) da crotoxina (código de entrada do PDB, Protein Data Bank (Berman et al, 2000), 3R0L; Faure et al., 2011).

alguns casos (Brazil, 1934). Tais relatos reforçam a visão inovadora deste renomado cientista, mencionada no início deste artigo.

O efeito analgésico do veneno crotálico e de dois componentes isolados deste veneno (crotoxina: a principal toxina do veneno, com atividade neurotóxica; crotalfina: peptídeo de baixo peso molecular) foi comprovado décadas mais tarde e tem sido amplamente investigado até os dias de hoje (Giorgi et al., 1993; Picolo et al., 2000, 2003; Cura et al., 2002; Picolo e Cury, 2004; Zhang et al., 2006; Gutierrez et al., 2008, 2012; Konno et al., 2008; Nogueira-Neto et al., 2008; Zhu et al., 2008; Brigatte et al., 2013; Wolz-Richter et al., 2013; Machado et al., 2014; Zambelli et al., 2014). A crotalfina tem patente concedida em diversos países e, por meio de parceria com a indústria farmacêutica nacional, estudos pré-clínicos estão sendo realizados com intuito de desenvolver este peptídeo como novo fármaco analgésico. A crotoxina (Figura 1), por sua vez, encontra-se atualmente em fase de testes clínicos para o tratamento de câncer e controle da dor. Os estudos clínicos de fase I foram finalizados em 2012 (http://www.celticbiotech.com/milestones/).

Venenos, toxinas e secreções animais tem se mostrado fontes naturais importantes à obtenção de compostos bioativos com potencial ação terapêutica

(Chudzinski-Tavassi & Alvarez-Flores, 2005; Cury e Picolo, 2006; Chudzinski-Tavassi et al., 2010a e 2010b; Alvarez-Flores et al., 2010; Alvarez-Flores et al., 2011; Nasiripourdori et al., 2011; Oliveira et al., 2012; Gilchrist e Bosmans, 2012; Pasqualoto et al., 2013; Da Silva et al., 2014; Pasqualoto et al. 2014) e como são muito potentes, estabelecem frequentemente interações específicas com o alvo no organismo, contribuindo para o perfil farmacodinâmico e segurança farmacológica. Tais substâncias naturais, portanto, tem provado ser importantes fontes para obtenção de compostos líderes (ou protótipos) no desenvolvimento de novos fármacos e também ferramentas valiosas na investigação de receptores, canais iônicos e enzimas (Patrick, 2010). Cabe ressaltar, no entanto, que apesar de diversos compostos com interesse farmacológico, obtidos a partir de venenos animais, por exemplo, terem sido descobertos e testados nas últimas décadas, raros tiveram sucesso no processo de desenvolvimento e chegaram, de fato, ao mercado como novos fármacos. Todavia, processos de desenvolvimento de novos fármacos desta natureza, que geram a denominada inovação radical (novas entidades químicas), requerem grandes investimentos de tempo e de dinheiro, sem garantia de sucesso, sendo portanto de alto risco. No cenário nacional, parcerias que viabilizem especialmente a inovação radical ainda não são consideradas atrativas para as empresas farmacêuticas, justamente porque demandam investimentos não triviais, sem garantia de sucesso e de retorno financeiro em curto prazo de tempo.

Como exemplo clássico de sucesso pode-se citar o fármaco anti-hipertensivo captopril, aprovado no início da década de 1980 pelo órgão regulatório dos Estados Unidos, FDA (*Food and Drug Administration*). Este fármaco foi o primeiro inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA) e teve como protótipo um nonapeptídeo (teprotide, pGlu-Trp-Pro-Arg-Pro-Glu-Ile-Pro-Pro-OH) que apresentava sequência de aminoácidos idêntica a alguns peptídeos isolados do veneno da serpente brasileira *Bothrops jararaca* investigados pelo Dr. Sérgio

Henrique Ferreira (Universidade de São Paulo, USP, SP) (Ferreira, 1965; Wermuth, 2008). Em 1968, estudos realizados pelo Dr. John Vane (*Institut of Basic Medical Sciences, University of London - The Royal College of Surgeons, Inglaterra*), vencedor do Prêmio Nobel em Fisiologia ou Medicina em 1982, e pelo Dr. Sérgio Henrique Ferreira, que estava fazendo o estágio de pós-doutorado na época, demonstraram que peptídeos obtidos do veneno da jararaca eram capazes de inibir a ECA (Ferreira et al., 1970; Smith & Vane, 2003; Bryan, 2009).

O captopril foi o primeiro fármaco planejado considerando informações estruturais do alvo e marcou o início de uma nova era para a indústria farmacêutica, que passou a considerar o potencial da estratégia racional de planejamento baseado na estrutura (*structure-based drug design*, SBDD) no processo de descoberta de novos fármacos (Wermuth, 2008). O planejamento racional de novos compostos bioativos se baseia no conhecimento, em nível molecular, da etiologia de determinada doença, que se deseja combater, ou pelo menos, dos processos bioquímicos que são alterados e comprometem a resposta biológica (Cohen, 1996; Wermuth, 2008; Patrick, 2010). Tal abordagem fisiológica é importante para a inovação radical em fármacos, com casos de sucesso até o momento (Barreiro & Fraga, 2005). A escolha do alvo terapêutico, no entanto, é a etapa crítica neste processo mais moderno de planejamento de novos candidatos a fármacos (Barreiro & Fraga, 2005; Wermuth, 2008; Patrick, 2010). No caso do desenvolvimento do captopril, sabe-se que a ECA catalisa duas reações que tem papel importante em regular a pressão arterial: (i) a conversão de angiotensina I (decapeptídeo inativo) em angiotensina II, um octapeptídeo com potente atividade vasoconstritora e (ii) a inativação do nonapeptídeo, bradicinina, que é um potente vasodilatador. Então, um inibidor desta enzima seria um bom candidato para o tratamento de pacientes com hipertensão, por conta do aumento nos níveis de bradicinina (Wermuth, 2008).

Em relação à estabilidade, a presença de quatro resíduos de prolina (Pro) e de um piroglutamato

(pGlu) na sequência do peptídeo protótipo (teprotide) confere certa resistência à hidrolise por peptidases, mas não de forma suficiente que permitisse a administração deste nonapeptídeo por via oral. Então, os pesquisadores da empresa farmacêutica Squibb, responsável pelo desenvolvimento do fármaco captopril, se empenharam na busca por compostos que apresentassem melhor biodisponibilidade e, portanto, que pudessem ser administrados por via oral. Para direcionar a busca por compostos que apresentassem melhor biodisponibilidade, considerou-se a analogia da ECA com a carboxipeptidase A bovina, já que as duas enzimas apresentam função semelhante (ambas são carboxipeptidases). A partir de informações conhecidas sobre o sítio ativo da carboxipeptidase bovina e sobre as interações estabelecidas com o substrato, o desenho esquemático do sítio ativo da ECA foi considerado para planejar um conjunto de compostos (quimioteca), que foram sintetizados e testados farmacologicamente, até se chegar ao captopril, que apresentou biodisponibilidade adequada para ser administrado por via oral (comprimidos) (Cushman et al., 1977; Smith e Vane, 2003; Wermuth, 2008).

As coordenadas cartesianas da estrutura tridimensional (3D) do complexo ECA-captopril (Figura 2), obtidas por difração de raios-X, foram depositadas

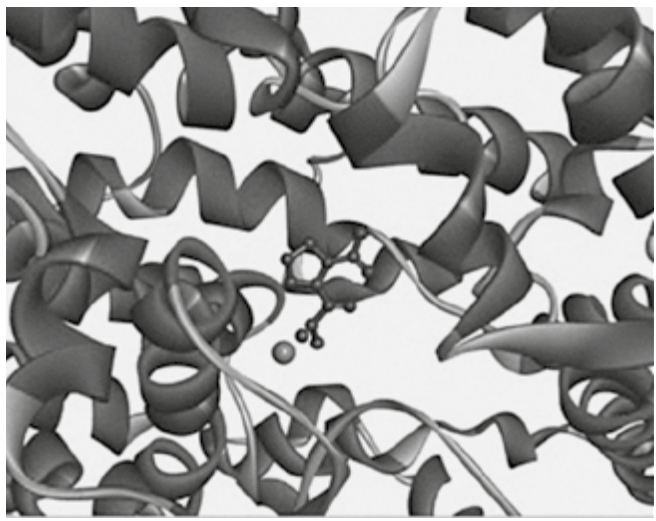

Figura 2
Estrutura 3D do complexo ECA-captopril (código de entrada do PDB: 1UZF; Natesh et al., 2004).

no banco de dados de proteínas (PDB, Protein Data Bank; Berman et al. 2000) somente em 2004 (Natesh et al., 2004), 24 anos após o fármaco ser lançado no mercado. Estes dados podem ser utilizados como referência para o planejamento racional (SBDD) de novos inibidores da ECA, mais específicos e seletivos, com a aplicação de métodos de química computacional e de modelagem molecular (Leach, 2001; Morgon & Coutinho, 2007; Wermuth, 2008; Patrick, 2010).

A descoberta dos peptídeos inibidores da ECA foi, portanto, considerada um dos grandes avanços na medicina cardiovascular, juntamente com os agentes ß-bloqueadores, os bloqueadores dos canais de cálcio e as estatinas (Bryan, 2009).

Mais recentemente, estudos utilizando veneno de caracóis marinhos do gênero *Conus* atraíram a atenção de pesquisadores e do mercado farmacêutico por conta da aprovação pelo FDA, em 2004, do analgésico não-opióide ziconotide (Figura 3). Este fármaco corresponde à versão sintética da conotoxina-ômega MVIIA (Ω-MVIIA), um polipeptídeo de 25 aminoácidos encontrado no veneno do caracol marinho *Conus* magus, que apresenta alta afinidade por canais de cálcio do tipo N e, portanto, bloqueia de forma seletiva o fluxo de cálcio. É o primeiro inibidor peptídico de canais de cálcio derivado de veneno com aplicação clínica. Apresenta atividade analgésica muito potente e é indicado para amenizar dores consideradas intratáveis (McGivern, 2007; Hannon & Atchison, 2013; Harvey, 2014). Quando administrado por via intratecal, reduz a transmissão da dor em nível medular. No entanto, apesar da eficácia analgésica importante, ainda há que se otimizar este fármaco no sentido de reduzir os efeitos adversos sistêmicos e sobre o sistema nervoso central (SNC), além de melhorar a biodisponibilidade. Então, pesquisadores da área de descoberta de novos fármacos têm aplicado abordagens visando identificar e desenvolver novos bloqueadores de canais de cálcio tipo-N, derivados de conotoxinas-Ω, que apresentem biodisponibilidade adequada para serem administrados

por via oral e que tenham potencial analgésico superior ao ziconotide e melhor perfil de segurança. A empresa *Neuromed Pharmaceuticals* em parceria com a *Merck & Co.*, por exemplo, está desenvolvendo um bloqueador de canais de cálcio tipo-N, denominado NMED-160, que apresenta biodisponibilidade adequada para ser administrado por via oral e está em estudos clínicos de fase 2 para uma variedade de condições de dor. Nos estudos pré-clínicos, o composto NMED-160 apresentou perfil de eficácia amplo em modelos animais de dor neuropática e inflamatória, além de um bom perfil de segurança (Snutch et al., 2003; Snutch, 2004; McGivern, 2007; Hannon & Atchison, 2013). Entretanto, ainda não se tem dados consistentes de que este composto tem atividade analgésica em pacientes com quadro de dor crônica grave (McGivern, 2007; Hannon & Atchison, 2013).

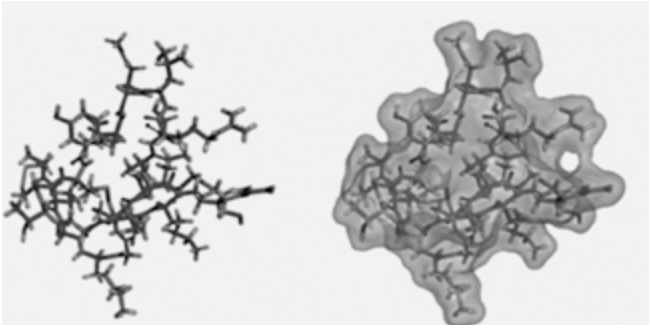

Figura 3
Estrutura 3D do fármaco ziconotide (SNX-111, código de entrada do PDB: 1OMG; Kohno et al., 1995).

Segundo Harvey (2014), apesar do sucesso de alguns produtos naturais como fonte de compostos líderes para o desenvolvimento de novos fármacos, a maioria das grandes indústrias farmacêuticas diminuiu, ou mesmo finalizou, os programas de pesquisas que utilizavam tais fontes naturais como origem de novos candidatos a fármacos. Uma das principais razões seria o fato de que muitos compostos obtidos de venenos animais são peptídeos, que apresentam baixa biodisponibilidade oral, pouca estabilidade no plasma, além de serem facilmente degradados por ação de peptidases ou de esterases inespecíficas. Ainda, tais compostos estão presentes geralmente em baixas concentrações nos venenos e requerem extensivos processos de purificação no

processo de isolamento. Além disso, a otimização de processos de produção em larga escala para que se obtenham quantidades suficientes para os ensaios pré-clínicos e clínicos também comprometem o tempo total no organograma de desenvolvimento. Há que se considerar, ainda, que por se tratarem de estruturas complexas, do ponto de vista estereoquímico (muitos centros quirais), e de grande tamanho, a síntese química não é trivial e, em alguns casos, é inviável (Lam, 2007; Cury & Picolo, 2009; Harvey, 2014). Então, devido às dificuldades mencionadas, nos últimos 10 a 15 anos, a indústria farmacêutica passou a ter menos interesse em desenvolver compostos de origem natural, mesmo quando promissores para o tratamento de quaisquer doenças, já que representavam um desafio importante em termos de tempo e de custos, que não compensaria o investimento em curto ou médio prazo (Wermuth, 2008; Harvey, 2014). Além disso, o surgimento de novas técnicas tanto de síntese química (síntese em paralelo e química combinatória) como de triagem de atividade farmacológica (ensaios miniaturizados e automatizados em larga escala - HTS, high-throughput screening) contribuiu sobremaneira para a preferência em desenvolver novas entidades químicas não oriundas de fontes naturais, principalmente devido à facilidade de obtenção de coleções grandes (milhões) de compostos, denominadas quimiotecas, em períodos muito curtos de tempo, capazes de serem testadas, também, de forma muito rápida (Wermuth, 2008; Patrick, 2010; Harvey, 2014).

A química combinatória, apesar de ter contribuído para acelerar o processo de obtenção de compostos na década de 1980-1990, não aumentou de forma importante o número de novas entidades químicas (NCE, *new chemical entities*) lançadas no mercado nos últimos anos (Wermuth, 2008; Patrick, 2010). A média de NCE aprovadas pelo FDA foi 26 entre 2004 e 2012, que foi muito próxima ao número de NCE aprovadas em 2013 (27) (FDA – Novel New Drugs Summary, 2013). Considerando que o processo de desenvolvimento de um novo fármaco leva de 12 a 15 anos, as coleções de milhões de compostos não

corresponderam ao sucesso esperado. Algumas das quimiotecas foram descritas como *pobremente planejadas, demasiadamente grandes e sem diversidade estrutural adequada* (Wermuth, 2008). Contudo, a evolução dos métodos de síntese de peptídeos, na era da abordagem combinatória, permitiu que modificações na estrutura química de tais compostos fossem planejadas a fim de melhorar a estabilidade. Atualmente, estratégias sintéticas (ciclização, incorporação de ß-aminoácidos e/ou ligações pseudo-peptídicas) e de planejamento (peptideomiméticos) estão sendo utilizadas para incrementar tanto a estabilidade (resistência à proteólise), como a biodisponibilidade oral de peptídeos de origem natural (Gentilucci et al., 2010).

No novo milênio, a indústria farmacêutica retomou os investimentos em produtos de origem natural, tanto em candidatos a fármacos como compostos líderes para serem otimizados no processo de desenvolvimento. Além da diversidade estrutural, que contribui de forma importante para a inovação radical, tais compostos frequentemente apresentam atividade biológica bastante seletiva e específica relacionada ao mecanismo de ação, contribuindo inclusive para a descoberta de novos alvos moleculares (Wermuth, 2008; Patrick, 2010).

O avanço das ciências denominadas *ômicas* (genômica, transcriptômica, proteômica, metabolômica) teve também papel significativo no processo de descoberta de novos candidatos a fármacos e de novos protótipos, além da identificação de novos alvos moleculares. Atualmente, a combinação das *ômicas* com as estratégias de planejamento racional e formalismos do CADD (*Computer-aided drug design*), de síntese química, de triagem biológica em larga escala (HTS) e de elucidação estrutural, tem propiciado o melhor direcionamento no processo de descoberta e de desenvolvimento de novos fármacos, aumentando as chances de sucesso. A aplicação de triagem biológica em larga escala, utilizando técnicas de ensaio mais direcionadas, impulsionou a retomada de interesse da indústria pelos produtos de

origem natural a partir da metade da década de 1990 (Wermuth, 2008).

A biotecnologia, por sua vez, além da aplicação no desenvolvimento de vacinas, terapia gênica e celular, células-tronco embrionárias, célula sintética (Gibson et al, 2010), também tem tido destaque no processo de desenvolvimento de biofármacos, que correspondem às proteínas obtidas na forma recombinante, ou seja, que utilizam genes sintéticos para expressão em bactéria ou levedura, e que apresentam efeito terapêutico. Os processos para produzir e purificar tais proteínas podem ser escalonados para a produção industrial, o que viabiliza o investimento da indústria farmacêutica. Em 2013, o faturamento estimado para o mercado brasileiro de biofármacos foi de US$ 0,5 a 1,5 bilhão de dólares (Ferro, 2010).

A essência da pesquisa farmacêutica é pensamento inovador e competição. Os vencedores serão aqueles que tiverem as melhores ideias e que conseguirem explorá-las mais rapidamente para trazer o novo fármaco ao mercado (Zavitz KH, Bertel PL, Hodden NA - Wermuth, 2008). Os compostos interessantes para a inovação radical, com efeito terapêutico, vacinal ou de diagnóstico, estão na natureza, na biodiversidade, e é nosso trabalho como cientistas identificá-los e desenvolvê-los em prol do bem comum. O Dr. Vital Brazil foi cientista visionário, que acreditou e direcionou suas pesquisas nesta linha de pensamento, que resultaram em contribuição inquestionável à saúde pública do país. Ainda, os estudos sobre animais peçonhentos, que foram orientados e estimulados por ele, que na prática definiu sozinho tal campo de estudos científicos, conferiram ao Instituto Butantan reconhecimento internacional.

Referências

Alvarez Flores MP, Zannin M, Chudzinski-Tavassi AM. New insight into the mechanism of Lonomia obliqua envenoming: toxin involvement and molecular approach. *Pathophysiol Haemost Thromb*. 2010; 37(1):1-16.

Alvarez-Flores MP, Furlin D, Ramos OH, Balan A, Konno K, Chudzinski-Tavassi AM. Losac, the

first hemolin that exhibits procogulant activity through selective factor X proteolytic activation. *J Biol Chem*. 2011 Mar 4; 286(9):6918-28.

Barreiro EJ, Fraga CAM. A questão da inovação em fármacos no Brasil: proposta de criação do programa nacional de fármacos (PRONFAR). *Quim. Nova* 28:S56-S63, 2005.

Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., Bourne, P.E. The Protein Data Bank. *Nuc. Acids Res.* 28:235-242, 2000.

Brazil V. Do emprêgo da peçonha em terapêutica. *Biologia Médica*. 1934, 1: 7–21.

Brigatte P, Konno K, Gutierrez VP, Sampaio SC, Zambelli VO, Picolo G, Curi R, Cury Y. Peripheral kappa and delta opioid receptors are involved in the antinociceptive effect of crotalphinein a rat model of cancer pain. *Pharmacol Biochem Behav*. 2013; 109: 1-7.

Bryan J. From snake venom to ACE inhibitor: the discovery and rise of captopril. *The Pharmaceutical Journal,* Vol. 282, p455 , 2009.

Cohen, C. Guidebook on Molecular Modeling in Drug Design. *First edition, Academic Press,* 1996.

Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF, Ondetti MA. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoyl amino acids. *Biochemistry,* 1977, 16:5485-5491.

Chudzinski-Tavassi AM, Carrijo-Carvalho LC, Waismam K, Farsky SH, Ramos OH, Reis CV. A lipocalin sequence signature modulates cell survival. *FEBS Lett*. 2010b Jul 2; 584(13):2896-900.

Chudzinski-Tavassi AM, Alvarez Flores MP. Exploring new molecules and activities from Lonomia obliqua caterpillars.Pathophysiol Haemost Thromb. 2005; 34(4-5):228-33. *Review. Erratum in: Pathophysiol Haemost Thromb*. 2006; 35(5):410.

Cura JE, Blanzaco DP, Brisson C, Cura MA, Cabrol R, Larrateguy L, Mendez C, Sechi JC, Silveira JS, Theiller E, de Roodt AR, Vidal JC. Phase

I and pharmacokinetics study of crotoxin (cytotoxic PLA(2), NSC-624244) in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res*. 2002; 8(4):1033-41.

Cury Y, Picolo G. Animal toxins as analgesics--an overview. *Drug News Perspect*. 2006; 19(7):381-92.

Chudzinski-Tavassi AM, De-Sá-Júnior PL, Simons SM, Maria DA, de Souza Ventura J, Batista IF, Faria F, Durães E, Reis EM, Demasi M. A new tick Kunitz type inhibitor, Amblyomin-X, induces tumor cell death by modulating genes related to the cell cycle and targeting the ubiquitin-proteasome system. *Toxicon*. 2010a Dec 15; 56(7):1145-54.

Cury Y, Picolo G. Are animal toxins good models for analgesics? In: de Lima ME, de Castro Pimenta AM, Martin-Eauclaire MF, Zingali RB, Rochat H. (Org.). Animal Toxins: State of the Art Perspectives in Health And Biotechnology. 1ed.Minas Gerais: Editora UFMG, v. 1, p. 661-678, 2009.

Da Silva SL, Rowan EG, Albericio F, Stábeli RG, Calderon LA, Soares AM. Animal toxins and their advantages in biotechnology and pharmacology. *Biomed Res Int*. 2014;2014:951561.

Faure G., Xu H., Saul, F.A. Crystal structure of crotoxin reveals key residues involved in the stability and toxicity of this potent heterodimeric ß-neurotoxin. *J. Mol. Biol*. 412: 176-191, 2011.

FDA-2013 Novel New Drugs Summary. (http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/UCM381803.pdf)

Ferreira, LO. Introdução: José Francisco Xavier Sigaud e a tradução local do higienismo. In: Siguad, J.F.X. *Do clima e das doenças do Brasil ou estatística médica deste império*. Trad. de Renato Aguiar. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2009. P. 17-26.

Ferreira SH. A bradykinin-potentiating factor (bpf) present in the venom of bothrops jararaca. *Brit J Pharmacol Chemother,* 24: 163-169, 1965.

Ferreira SH, Greene LJ, Alabaster VA, BakhleYS, Vane JR. *Nature* 225:379-380, 1970

Ferro ES. Biotecnologia translacional: hemopressina e outros peptídeos intracelulares. Estud. Av. 24:109-121, 2010.

Gentilucci L, De Marco R, Cerisoli L. Chemical modifications designed to improve peptide stability: incorporation of non-natural amino acids, pseudo-peptide bonds, and cyclization. *Cur Phama Design* 2010, 16:3185-3203.

Gibson, DG. et al. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. *Science*, v.329, n.5987, p.52-6, July 2010.

Gilchrist J, Bosmans F. Animal toxins can alter the function of Nav1.8 and Nav1.9. *Toxins* (Basel). 2012, 4(8):620-32.

Giorgi R, Bernardi MM, Cury Y. Analgesic effect evoked by low molecular weight substances extracted from *Crotalus durissus terrificus* venom. *Toxicon*. 1993 Oct;31(10):1257-65.

Gutierrez VP, Konno K, Chacur M, Sampaio SC, Picolo G, Brigatte P, Zambelli VO, Cury Y. Crotalphine induces potent antinociception in neuropathic pain by acting at peripheral opioid receptors. *Eur J Pharmacol*. 2008; 594(1-3):84-92.

Gutierrez VP, Zambelli VO, Picolo G, Chacur M, Sampaio SC, Brigatte P, Konno K, Cury Y. The peripheral L-arginine-nitric oxide-cyclic GMP pathway and ATP-sensitive K+ channels are involved in the antinociceptive effect of crotalphine on neuropathic pain in rats. *Behav Pharmacol*. 2012; 23(1):14-24.

Konno K, Picolo G, Gutierrez VP, Brigatte P, Zambelli VO, Camargo AC, Cury Y. Crotalphine, a novel potent analgesic peptide from the venom of the South American rattlesnake *Crotalus durissus terrificus*. *Peptides*. 2008; 29(8):1293-304

Hannon HE, Atchison WD. Omega-conotoxins as experimental tools and therapeutics in pain management. *Mar. Drugs* 2013, 11:680-699.

Harvey AL. Toxins and drug discovery. *Toxicon* 92 (2014) 193e200.

Kohno T, Kim JI, Kobayashi K, Kodera Y, Maeda T, Sato K. Three-dimensional structure in solution of the calcium channel blocker omega-conotoxin MVIIA. *Biochemistry*. 1995 Aug 15;34(32):10256-65.

Lam KS. New aspects of natural products in drug discovery TRENDS in Microbiology Vol.15 No.6, 2007.

Leach, A.R. Molecular Modelling: Principles and Applications. 2 ed. England: Pearson Education, 2001.

Machado FC, Zambelli VO, Fernandes AC, Heimann AS, Cury Y, Picolo G. Peripheral interactions between cannabinoid and opioid systems contribute to the antinociceptive effect of crotalphine. *Br J Pharmacol*. 2014; 171(4):961-72.

McGivern JG. Ziconotide: a review of its pharmacology and use in the treatment of pain. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2007 Feb;3(1):69-85

Morgon, NH, Coutinho, K. *Métodos de Química Teórica e Modelagem Molecular*. São Paulo: Editora Livraria da Física, 2007.

Nasiripourdori A, Taly V, Grutter T, Taly A. From toxins targeting ligand gated ion channels to therapeutic molecules. *Toxins* (Basel). 2011 3(3):260-93.

Natesh R, Schwager SL, Evans HR, Sturrock ED, Acharya KR. Structural details on the binding of antihypertensive drugs captopril and enalaprilat to human testicular angiotensin I-converting enzyme. *Biochemistry*. 2004 Jul 13;43(27):8718-24.

Nogueira-Neto F de S, Amorim RL, Brigatte P, Picolo G, Ferreira WA Jr, Gutierrez VP, Conceição IM, Della-Casa MS, Takahira RK, Nicoletti JL, Cury Y. The analgesic effect of crotoxin on neuropathic pain is mediated by central muscarinic receptors and 5-lipoxygenase-derived mediators. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008; 91(2):252-60.

Oliveira DG, Alvarez-Flores MP, Lopes AR, Chudzinski-Tavassi AM. Functional characterisation of vizottin, the first factor Xa inhibitor

purified from the leech Haementeria vizottoi. *Thromb Haemost*. 2012 Sep; 108(3):570-8.

Pasqualoto KFM, Carrijo-Carvalho LC, Chudzinski-Tavassi AM. Rational development of novel leads from animal secretion based on coagulation and cell targets: 1. In silico analysis to explore a peptide derivative as lipocalins' signature. *Toxicon*. 2013 Jul; 69:200-10.

Pasqualoto KF, Balan A, Barreto SA, Simons SM, Chudzinski-Tavassi AM. Structural findings and molecular modeling approach of a TFPI-like inhibitor. *Protein Pept Lett*. 2014 May; 21(5):452-7.

Patrick, GL. *An Introduction to Medicinal Chemistry,* fourth edition, Oxford, 2010.

Picolo G, Giorgi R, Cury Y. delta-opioid receptors and nitric oxide mediate the analgesic effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom. Eur *J Pharmacol*. 2000; 391(1-2):55-62.

Picolo G, Cassola AC, Cury Y. Activation of peripheral ATP-sensitive K+ channels mediates the antinociceptive effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom. *Eur J Pharmacol*. 2003; 469(1-3):57-64.

Picolo G, Cury Y. Peripheral neuronal nitric oxide synthase activity mediates the antinociceptive effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom, a delta- and kappa-opioid receptor agonist. *Life Sci*. 2004; 75(5):559-73.

Smith CG, Vane JR. The Discovery of Captopril. *The FASEB Journal,* vol. 17 no. 8 788-789, 2003.

Sigaud JFX. – *Dicionário Histórico-Biográfico das Ciências da Saúde no Brasil (1832-1930)* – Casa de Oswaldo Cruz/ Fiocruz, p.1-7 (http://www.dichistoriasaude.coc.fiocruz.br).

Snutch TP. 2004. N-type channels, small organic molecules and pain. *Spring Pain Research Conference, Grand Cayman, BWI.*

Snutch TP, Feng ZP, Belardetti F, et al. 2003. Novel N-type calcium channel blockers efficacious in animal models of chronic pain. *226th American Chemical Society National Meeting,* New York, NY.

Wermuth, C.G. The Practice of Medicinal Chemistry, third edition, *Academic Press,* 2008.

Wolz-Richter S, Esser KH, Hess A. Antinociceptive activity of crotoxin in the central nervous system: a functional Magnetic Resonance Imaging study. *Toxicon*. 2013; 74:44-55.

Zambelli VO, Fernandes AC, Gutierrez VP, Ferreira JC, Parada CA, Mochly-Rosen D, Cury Y. Peripheral sensitization increases opioid receptor expression and activation by crotalphine in rats. *PLoS One*. 2014; 9(3):e90576.

Zhang HL, Han R, Chen ZX, Chen BW, Gu ZL, Reid PF, Raymond LN, Qin ZH. Opiate and acetylcholine-independent analgesic actions of crotoxin isolated from *crotalus durissus terrificus* venom. Toxicon. 2006; 48(2):175-82.

Zhu Q, Wu DC, Zhou XP, Gong S, Cheng BC, Qin ZH, Reid PF, Yin QZ, Jiang XH. Inhibitory effect of crotoxin on the pain-evoked discharge of neurons in thalamic parafascicular nucleus in rats. *Toxicon*. 2008; 51(1):102-11.

Data de Recebimento: 31/07/2015
Data de aprovação: 24/08/2015