

A BRIEF HISTORY OF DRUG DISCOVERY AND SEMINAL NOBEL LAUREATES IN PHARMACOLOGY

UMA BREVE HISTÓRIA DO ESTUDO DOS FÁRMACOS E OS GANHADORES DO NOBEL

Ferro, Emer Suavinho¹; Reis, Ricardo Augusto de Melo²; Freitas, Hércules Rezende³.

ABSTRACT

The art to teach pharmacology to biomedical students in undergraduate courses (medicine, nursing, dentistry, veterinary medicine, pharmacy, nutrition, physical education, biology, among others) faces several challenges. The first is to decide which concepts should be presented, given such vast knowledge acquired over more than a century. Historical and primary concepts of drug-receptor interaction (agonist, antagonist and dose-response curve) should be emphasized, from which all pharmacology emerges. It is important that students understand basic pharmacology as the result of atomic interactions between drug and the therapeutic target, a discipline that interacts with many others such as medicinal chemistry, biology, physiology, biochemistry and structural biology. A phrase mentioned by Earl Sutherland to Alfred Goodman Gilman (both Nobel Prize winners) to convince him to enroll in the doctoral program at Vanderbilt University School of Medicine in Nashville, Tennessee, USA, is the synthesis of this article - Sutherland said, "pharmacology is biochemistry with purpose". Using the reference article (1) as an adaptation, we developed a historical summary of pharmacology, considering landmark moments and discoveries by dozens of researchers, which led to numerous Nobel Prizes; for us, a certification that information is a historical milestone. In summary, we will present a propositional text on how the study of pharmaceuticals promotes improvements in the quality and life expectancy of the population and, consequently, generates innovation in the most different areas of knowledge.

Keywords: Pharmacology; drug; discovery; Nobel Prize; quality of life; biotechnology.



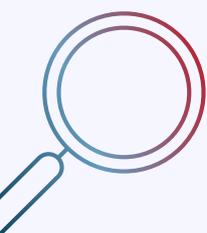
NEUROCIÊNCIAS & SOCIEDADE

RESUMO

Quando se ensina farmacologia aos estudantes de cursos de graduação como medicina, enfermagem, odontologia, medicina veterinária, farmácia, nutrição, educação física, ciências biomédicas, entre outros, nos deparamos com desafios didáticos. O primeiro é decidir quais os conceitos devem ser apresentados, diante de um conhecimento tão vasto adquirido ao longo de mais de um século. Não podem faltar conceitos históricos e primários de interação droga-receptor (agonista, antagonista e curva dose-resposta), a partir dos quais toda farmacologia emerge. É importante que os estudantes compreendam a farmacologia básica como fruto de interações atômicas entre o fármaco e o alvo terapêutico, uma disciplina que interage com muitas outras como a química medicinal, biologia, fisiologia, bioquímica e biologia estrutural. Uma frase mencionada por Earl Sutherland a Alfred Goodman Gilman (ambos ganhadores do prêmio Nobel) para convencê-lo a se inscrever no programa de doutorado na Vanderbilt University School of Medicine em Nashville, Tennessee, EUA, é a síntese desse artigo; Earl Sutherland disse "farmacologia é a bioquímica com propósito". Tendo como referência o artigo anterior (1), desenvolvemos um resumo histórico da farmacologia, considerando momentos e descobertas marcantes por dezenas de pesquisadores, que levaram a inúmeros prêmios Nobel; para nós, uma certificação de que aquela informação é um marco histórico. Em síntese, apresentaremos um texto propositivo de como o estudo dos fármacos promove melhoria na qualidade e expectativa de vida da população e, por consequente, gera inovação nas mais diferentes áreas do conhecimento.

Palavras-chave: Desenvolvimento de fármacos; inovação farmacológica; medicamentos; saúde pública.

Texto adaptado de A Brief History of Great Discoveries in Pharmacology: In Celebration of the Centennial Anniversary of the Founding of the American Society of Pharmacology and Experimental Therapeutics (1).



INTRODUÇÃO

É curioso que o termo fármaco, de origem grega, tenha origem na dramaturgia e não na alquimia ou química medicinal como intuitivamente poderíamos imaginar. Eurípides (dramaturgo grego, 480 a.C.) em Palamedes (415 a.C.), o herói se gaba de ter inventado um *phármakon* (fármaco) contra o esquecimento. A escrita é relatada por Eurípides como um *phármakon* para a memória, que torna as pessoas mais sábias à medida que podem registrar o que desejassem não esquecer na posteridade. Eurípides usa a palavra *pharmakon* em seu significado positivo, no sentido de uma droga curativa. Mas, *phármakon* também significava, entre outros, “veneno”, “mal”. Sócrates (filósofo grego, 470 a.C.) admite ser “doente por discursos”, que qualifica como um *phármakon* (um “remédio”, um “encanto”, uma “poção”, um “veneno”) capaz de levá-lo às ações mais inesperadas, como a de empreender uma longa caminhada pela Ática somente para ouvir um discurso. Platão (filósofo grego, 428 a.C.), descreve que escrever é um *phármakon* quase venenoso, que causa esquecimento por incitar as pessoas a negligenciar sua memória. Assim, a analogia positiva oferecida por Eurípides entre a escrita e o *phármakon*, pode ser facilmente invertida considerando a visão de Sócrates ou Platão. É justamente esse aspecto paradoxal que define a propriedade inerente dos fármacos: simultaneamente causar efeitos desejados e indesejados, sem a possibilidade de dissociação.

Ao longo do tempo, fármaco se tornou um termo que significa uma molécula responsável pelo efeito desejado, e indesejado, dos medicamentos, o princípio ativo contido nos medicamentos. Fármaco é uma

molécula com estrutura e função conhecidas, capaz de produzir um efeito biológico, alterando o protoplasma celular; a água, por exemplo, ao ser utilizada para a reidratação do paciente pode ser considerada um fármaco.

O fármaco pode agir sobre alvos fisiológicos buscando recompor a homeostase, bem como pode agir para inibir a patogenicidade de organismos como vírus, bactérias, fungos e parasitas. A ciência que estuda os fármacos é denominada “farmacologia”; do grego, *pharmakos* e *logos*, que significa estudo dos fármacos.

Há indícios do uso medicinal de plantas pelo homem de Neandertal (*Homo neanderthalensis*), espécie que conviveu com o *Homo sapiens* a cerca de 80-40 mil anos. Há nas cavernas habitadas pelos Neandertais vestígios de ervas mil-folhas (de atividade antibacteriana) e camomila (de atividade anti-inflamatória, antibacteriana), ambas de sabor amargo e pouco valor nutritivo. Em um esqueleto Neandertal encontrou-se evidências de choupou-branco, uma árvore da família Salicaceae, fonte do ácido salicílico, ingrediente ativo da moderna aspirina. Há também vestígios do fungo *Penicillium*, antibiótico presente nas formulações modernas de penicilina, encontrados em um indivíduo Neandertal que apresentava evidências de parasitas intestinais que causam diarreia aguda; outros indivíduos encontrados nessa mesma caverna e que não apresentavam parasitas não apresentaram vestígios do fungo, levando a sugestão que os Neandertais faziam uso do *Penicillium* para tratamento de parasitas. Esses achados apontam para a conclusão de que os Neandertais tinham conhecimento de seu ambiente, e estavam se medicando.

Registros históricos mais modernos remetem a origem do uso de princípios ativos para a melhoria da saúde há cinco milênios, com a fermentação para produção de etanol na Mesopotâmia (2) e o uso de centenas de plantas medicinais como a *Cannabis* (3) e a *papoula* (4).

Não se pode deixar de mencionar a participação dos alquimistas do século XVI, que buscaram isolar de plantas e outros organismos biológicos a “quintessence”, ou, a essência de algo em sua forma mais pura e concentrada; hoje chamado de princípio ativo ou fármaco. O alquimista mais conhecido foi Paracelso, médico e astrólogo, professor na *Universit di Basilea*, 1524, que viveu entre 1493-1541; Phillipus Theophrastus Aureolus Bombastus von Hohenheim era o seu nome, nascido em Einsiedeln, Suíça, em 1493. A ele é atribuída a famosa frase: “a diferença entre um medicamento e um veneno está na dose”.

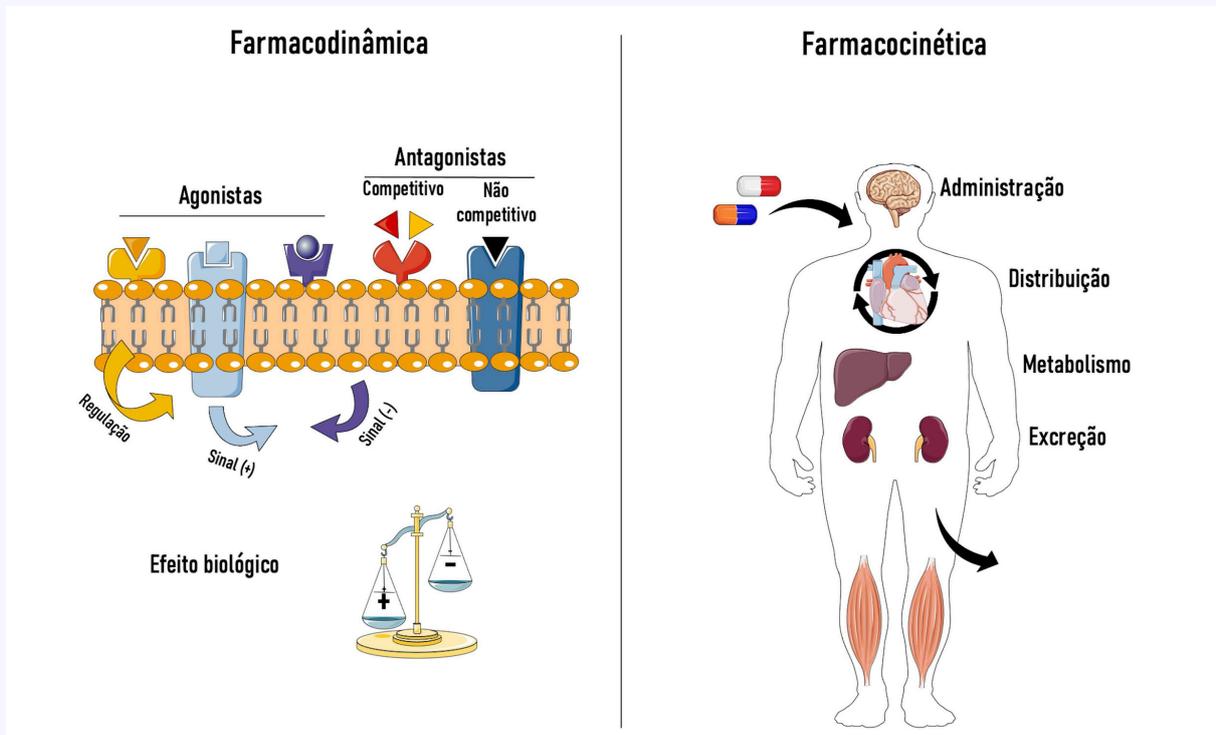


Figura 1 - Farmacodinâmica e farmacocinética, os pilares da farmacologia. São dois ramos fundamentais da farmacologia que estudam, respectivamente, os efeitos dos fármacos no organismo e o destino desses fármacos após sua administração. Farmacodinâmica (do grego "pharmakon", que significa "remédio" ou "fármaco", e "dynamis", que significa "força" ou "poder") se refere ao estudo dos mecanismos de ação dos medicamentos, incluindo como eles interagem com receptores celulares e produzem efeitos terapêuticos e adversos. Farmacocinética (do grego "pharmakon" e "kinetikos", que significa "movimento") é a ciência que investiga como o organismo absorve, distribui, metaboliza e excreta os fármacos. Em resumo, a farmacodinâmica trata do que o fármaco faz ao corpo, enquanto a farmacocinética trata do que o corpo faz ao fármaco.

Fonte: Servier Medical Art Creative Commons 4.0.

Esse processo avança até a segunda revolução industrial (1850-1945), marcada por inovações e avanço na industrialização e produção de derivados do petróleo, fertilizantes e fármacos (medicamentos). Justus von Liebig (1803–1872), renomado professor de química em Munique, descobriu o clorofórmio líquido volátil (CHCl_3), que mais tarde se tornou importante como anestésico geral. O uso do clorofórmio em cirurgia é creditado ao médico escocês James Young Simpson (1811–1870). Simpson demonstrou os benefícios do clorofórmio para aliviar a dor associada ao parto, e uma de suas primeiras pacientes em 1872 foi ninguém menos que a Rainha Vitória da Inglaterra. Entre os primeiros medicamentos sintéticos, o hidratode cloral, foi descoberto em 1869 e introduzido como um sedativo-hipnótico; hoje em dia ainda está disponível para uso médico em alguns países (5).

Porém, apenas em meados do século XIX que Rudolf Buchheim fundou o primeiro Instituto de Farmacologia, na Universidade de Dorpat, na Estônia (6). Com o desenvolvimento da química medicinal, a farmacologia ganha projeção à medida que o número de moléculas com potencial efeito biológico aumenta significativamente. Para os diversos cursos da área médica, a farmacologia tem duas divisões principais de

estudo: 1) farmacodinâmica, que estuda o mecanismo de ação dos fármacos; ou, como os fármacos produzem seus efeitos biológicos, e 2) farmacocinética, que estuda os processos de administração, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) de fármacos pelos organismos vivos; ou, quais são os processos necessários para que os fármacos produzam seus efeitos em um organismo. Ambas as divisões são áreas essenciais da farmacologia básica, igualmente críticas quando se pretende que um determinado fármaco possa ser empregado como medicamento.

Consideramos importante nesse momento definirmos as diferenças entre remédio e medicamento. Remédio não necessariamente possui um fármaco, podendo ser um abraço, uma refeição saborosa, férias, algo que implique em qualidade de vida, torne o paciente, curado, ou o faça sentir melhor. Medicamento, por sua vez, precisa conter um fármaco, ou seja, uma molécula com estrutura e função conhecidas e que produza um efeito biológico. Conceitualmente, medicamento implica numa formulação farmacêutica para o determinado fármaco; por exemplo, um comprimido de analgésico e antitérmico contendo ácido acetil salicílico como princípio ativo (fármaco), pode conter o veículo inerte celulose microcristalina que auxilia no preparo do

medicamento final. Assim, todo medicamento é um remédio, mas nem todo remédio é um medicamento. Os medicamentos usados em natura, como chás e infusões, quando possuem atividade terapêutica comprovada, possuem pelo menos um fármaco em sua composição.

A “Bala mágica” e os antibióticos

Paul Ehrlich (bacteriologista alemão, de 14 de março de 1854 a 20 de agosto de 1915) e os primórdios da **Farmacologia Moderna**

No século XIX, pesquisadores alemães descobriram que micro-organismos, como estafilococos e estreptococos, causavam doenças, levando ao uso de técnicas microscópicas para investigação. O médico Paul Ehrlich, que trabalhava no Laboratório de Bacteriologia de Robert Koch, procurou por produtos químicos que identificassem germes específicos para torná-los visíveis sob o microscópio, usando o azul de metileno (AM). Depois de descobrir que o AM marcava plasmódios (agente da malária), administrou o corante a dois pacientes portadores de uma forma leve de malária. O relato da cura, resultante dessa prescrição, representa a primeira referência de uma droga usada com sucesso para tratar uma doença específica (7). Ehrlich argumentou que não só poderia marcar, mas também neutralizar esses “germes”, se fosse possível encontrar uma substância química que se ligasse a eles e os eliminasse. Ele chamou esses produtos químicos de “balas mágicas”, projéteis encantados que atingissem uma pessoa seletivamente. Ehrlich pretendia que sua moderna versão química de “balas mágicas” encontrasse o germe de forma seletiva, mas não danificasse tecidos no corpo do paciente. Ehrlich e colaboradores tentaram centenas de produtos químicos em micróbios causadores da sífilis. Em 1909, um colaborador de Ehrlich, Sahachiro Hata (1873-1938), aplicou um método de produzir infecções por sífilis em coelhos de laboratório e descobriu que a droga não funcionava. A primeira “bala mágica” foi encontrada derivada do arsênio e comercializada sob o nome de **Salvarsan** (8, 9).

Posteriormente, Salvarsan, deu lugar a arsfenamina, substituída por neoarsfenamina – com 19% de arsênico e, portanto, menos tóxico do que outros compostos derivados. Na época, a sífilis era uma doença debilitante crônica, e fatal em última instância, assim como foi a AIDS no final do século XX. Após cinco anos do início dessas prescrições com Salvarsan, a incidência de sífilis em vários países europeus diminuiu em cerca de 50%.

Desta forma, Ehrlich (além de famoso pela “bala mágica”, ou seja, pela descoberta de alvos farmacológicos, ou sítios receptores) forneceu a base para tratamento quimioterápico moderno. **Em 1908, Ehrlich recebeu o Prêmio Nobel de Medicina** por “descrever os princípios da toxicidade seletiva dos fármacos e por demonstrar a erradicação preferencial de células por produtos químicos”. O objetivo de Ehrlich foi colocar a Química à serviço da Medicina - ele cunhou a palavra “quimioterapia” para denotar o uso de substâncias químicas no tratamento ou controle de doenças (10).

Encorajado por esse sucesso, Ehrlich e outros cientistas, como o fisiologista alemão Emil von Behring, propuseram que os pesquisadores desenvolvessem drogas seletivas para atacar germes específicos, enfrentando diretamente a causa da doença, em vez de tratar os sintomas. Em 1927, Gerhard Johannes Paul Domagk, foi contratado pela Bayer (conglomerado alemão I.G. Farben) como Diretor de Pesquisas do Instituto Experimental de Patologia, encarregado de identificar atividade antibacteriana em corantes azo. Domagk, um clínico com experiências na primeira guerra mundial, estava empenhado em desenvolver um tratamento eficaz para doenças infecciosas. Embora pesquisadores anteriores tenham demonstrado que certos corantes de acridina possuem atividade antibacteriana de amplo espectro, centenas de tais corantes feitos por químicos da Hoechst não tiveram êxito na produção de um agente antibacteriano eficiente.

A recém-nascida indústria farmacêutica, estreitamente aliada aos produtores de corantes sintéticos, começou a prosperar com o estabelecimento da classe das sulfonamidas (11), e que efetivamente deu continuidade ao trabalho de Paul Ehrlich na investigação de corantes como agentes antimicrobianos. Um aluno de Ehrlich, Roehl, foi contratado pela Bayer (parte da IG Farben, juntamente com a AGFA, BASF e Hoechst) e desenvolveu alguns dos primeiros antimaláricos, trabalho que eventualmente concretizou a importância global da cloroquina (11).

Na década de 30, um corante vermelho, denominado **Prontosil**, foi produzido por uma equipe de pesquisa liderada por Fritz Mietzsch e Josef Klarer, também dos laboratórios Bayer, (IG Farben, Alemanha), como parte de um programa de pesquisa destinado a encontrar corantes que pudessem atuar como drogas antibacterianas no organismo. A molécula foi testada por Gerhard Domagk, e no final do outono de 1932 foi considerada eficaz contra algumas infecções

bacterianas em ratos. Prontosil foi mostrada como uma droga antibacteriana com efeitos relativamente amplos contra cepas Gram-positivas, mas não contra enterobactérias. Em 1935, Gerhard Domagk proclamou uma taxa de sucesso de 100% de proteção em camundongos quando Prontosil foi administrado anteriormente a um teste com os micro-organismos potencialmente letais. A descoberta e desenvolvimento desta primeira droga sulfonamida abriu uma nova era na Medicina. Outros nomes para esta substância incluem sulfamidocristoidina, rubiazol, prontosil rubrum, asjertil rojo, sulfato de estreptocida e cloridrato de sulfamidocristoidina.

Essa droga não tinha recebido a devida atenção até que o filho do Presidente Franklin D. Roosevelt fosse tratado com sucesso de uma amidalite, e o *The New York Times* relatar que "um novo controle para infecções foi descoberto". Após anos de pesquisas para encontrar substâncias que eliminassem bactérias, o patologista e bacteriologista alemão Gerhard Johannes Paul Domagk (1895–1964) descobriu os efeitos antibacterianos do prontosil. Por essa descoberta, Domagk recebeu o Nobel de Medicina em 1939, mas teve de recusá-lo por pressão da ditadura nazista e ainda acabou preso por uma semana. Em 1947 recebeu a medalha e o diploma referente ao prêmio Nobel (<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1939/summary/>).

Logo depois da primeira publicação de Domagk, membros da *Fourneau's* Laboratório no Instituto Pasteur em Paris (incluindo Daniel Bovet), descobriram que a ligação azo do Prontosil poderia ser quebrada em tecidos, produzindo sulfanilamida, demonstrando que este agente era a única unidade ativa do corante vermelho. Os outros componentes do complexo eram completamente desnecessários para a atividade antibiótica. Nesse sentido, o Prontosil era uma pró-droga que, quando processada pelo organismo, produzia a sulfonilamida. Como a patente sobre sulfanilamida há muito havia expirado, houve suspeitas, porém infundadas, de que I.G. Farben (e talvez o próprio Domagk) haviam "redescobertos" a sulfanilamida. Daniel Bover recebeu um prêmio Nobel por descobertas relacionadas a compostos sintéticos que inibem a ação de certas substâncias do corpo, em particular no sistema vascular e músculos esqueléticos. Daniel Bovet avaliou substâncias que inibem a histamina e, em 1937, encontrou o primeiro anti-histamínico, que mais tarde levou a outras formulações para aliviar as alergias.

Detalhe: Em 1915, Walter Jacob e Michael Heidelberger, no Instituto Rockefeller (NY, USA), sintetizaram derivados da p-aminobenzeno sulfonamida (sulfanilamida), mas não testaram como antibacterianos, pois não imaginavam que um composto tão simples pudesse combater diretamente infecções bacterianas (em 1975, Heidelberg disse: "Como escravos de uma ideia, perdemos o barco em 1915, perdendo a chance de salvar milhares de vidas, e o desenvolvimento das sulfonamidas foi atrasado por mais de vinte anos"). O trabalho de Domagk levou outros pesquisadores a procurar novos e mais eficazes agentes antibacterianos. Alexander Fleming, o descobridor da penicilina comentou: "Sem Domagk, não haveria sulfonamida. Sem sulfonamida, não haveria penicilina! E sem penicilina, não haveria antibióticos".

Em 1922, o escocês **Fleming isolou a lisozima** (que apresenta atividade antibacteriana) de passagens nasais de um paciente que sofria de rinite aguda. Essas descobertas e a caracterização da lisozima em secreção lacrimal e na saliva, o motivaram a buscar outras substâncias que naturalmente exibiam atividade antibacteriana. Trabalhando no *St. Mary's Hospital*, Fleming tinha um laboratório repleto de placas de Petri contaminadas por longos períodos. O estado desorganizado do laboratório de Fleming teria uma importância enorme na descoberta da penicilina, como conta a história: **um dia, no verão de 1928** um esporo de um fungo transportado pelo ar do andar de cima do laboratório de Fleming, contaminou algumas de suas placas de Petri contendo *Staphylococcus*, criando um halo com bactérias mortas ao redor dessas colônias. Esse fungo, mais tarde caracterizado como sendo do gênero *Penicillium* por Fleming, o levou a cunhar a palavra penicilina ao se referir a essa substância antibacteriana. **No entanto, apesar de sua enorme utilidade como novo fármaco, a penicilina demorou outros 10 anos até se tornar uma droga de escolha no tratamento de infecções bacterianas.**

Ernest Chain, codescobridor da penicilina e co-recipiente do prêmio Nobel de medicina, especulou que uma única injeção não diluída de penicilina em um camundongo era inócua. Fleming deveria repetir estas injeções por duas ou três vezes em intervalos apropriados. Ele, então, persuadiu uma série de químicos para isolar o princípio ativo da penicilina (12).

Além das modestas tentativas de Fleming em empregar a penicilina no tratamento de feridas infectadas, o primeiro a obter curas com a penicilina foi um cirurgião chamado Cecil Paine, em 1930. Paine administrou a

penicilina por via tópica e obteve sucesso tratando pacientes com infecções oculares no Hospital Sheffield em Londres. Usando o método descrito por Fleming, Cecil Paine cresceu *Penicillium notatum* em caldo de carne feito de culturas obtidos de Fleming. Embora como estudante de Medicina Paine tivesse ouvido falar da penicilina das palestras de Fleming e tivesse lido sua publicação de 1929, ele nunca consultou Fleming durante o período de tratamento, tendo sucesso, em oito pacientes administrados topicamente com penicilina. **Pela descoberta da penicilina, Fleming, Florey, e Chain receberam o Prêmio Nobel em 1945.**

Pouco depois da Segunda Guerra Mundial, a penicilina ficou disponível para o público; porém cara, valorizada e tratada como ouro, ao contrário de hoje, em que está prontamente disponível, em muitas formas diferentes. Embora a "mão do destino" tenha sido, em parte, responsável por um resultado favorável, a história da

penicilina representa o principal exemplo de compromisso e do esforço gasto por um grupo de investigadores internacionais para produzir um agente terapêutico que efetivamente cure doenças infecciosas e, assim, promova a preservação da vida.

Selman Abraham Waksman: um dos maiores benfeitores da humanidade

Depois que Robert Koch descobriu que a tuberculose é causada por uma bactéria, a busca da cura começou. Em 1939, Selman Waksman e seus colegas iniciaram estudos sistemáticos de como os micro-organismos do solo afetam as bactérias dos tubérculos. Eles descobriram que seu crescimento foi impedido por outra bactéria, *Streptomyces griseus*. Em 1943, o colega de Selman Waksman, Albert Schatz, isolou a estreptomicina dessa bactéria, que se mostrou um remédio eficaz contra a tuberculose. Em 1952, o time

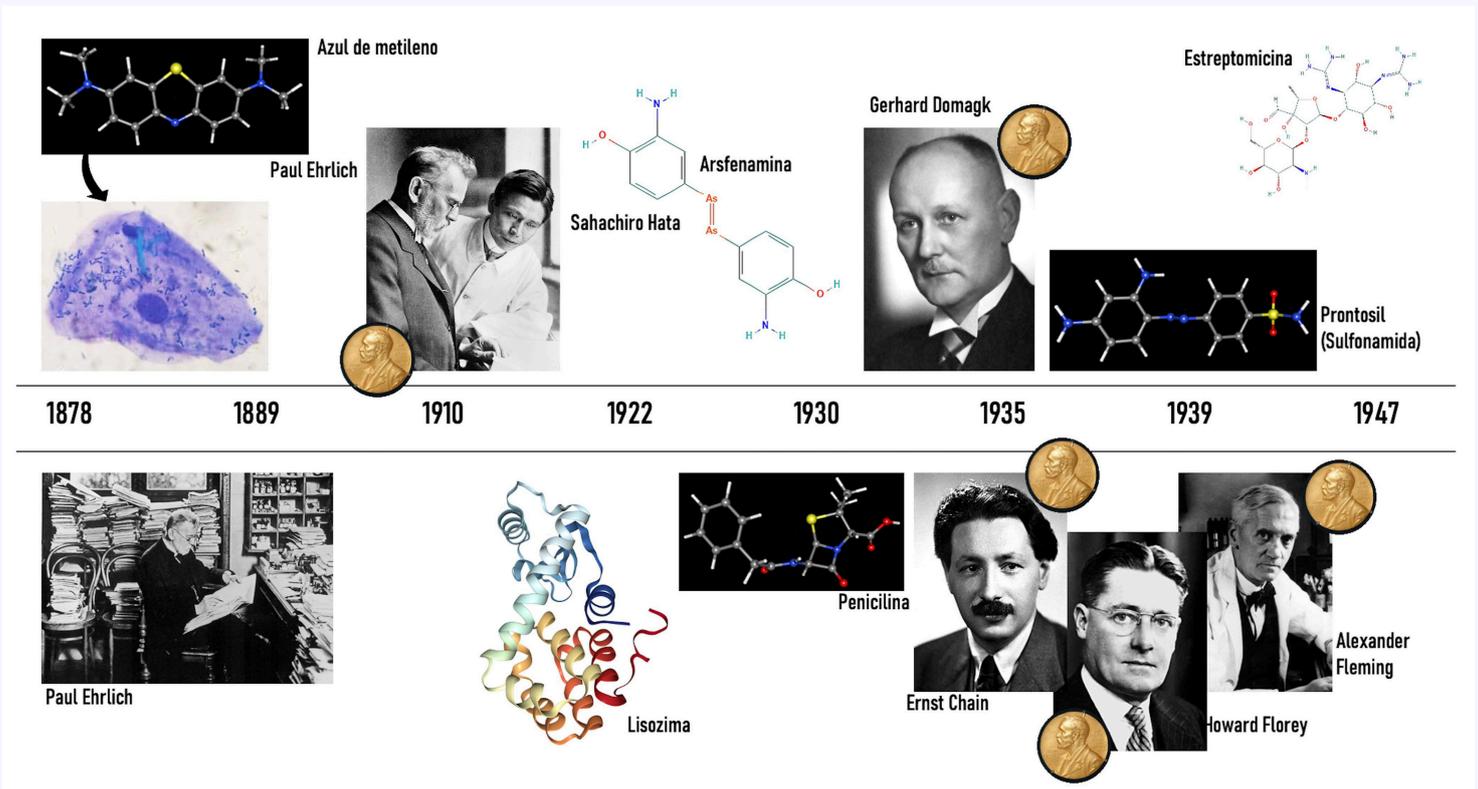


Figura 2 - Uma perspectiva histórica do desenvolvimento de fármacos – a “bala mágica”. Linha do tempo destacando marcos históricos na descoberta e desenvolvimento de agentes antimicrobianos. Começando em 1878, Paul Ehrlich, um dos pioneiros da quimioterapia, é mostrado no início da carreira com a descoberta do azul de metileno, utilizado para tingir células, como um tratamento experimental para doenças infecciosas. Em 1910, Ehrlich e Sahachiro Hata desenvolveram a arsfenamina (Salvarsan), o primeiro agente eficaz contra a sífilis, marcando o início da era da quimioterapia moderna. Em 1922, Alexander Fleming descobriu a lisozima, uma enzima com propriedades antibacterianas. Em 1930, Gerhard Domagk descobriu o Prontosil (sulfonamida), o primeiro antibiótico sintético, pelo qual foi agraciado com o Prêmio Nobel. Em 1935, a descoberta da penicilina por Alexander Fleming, e posteriormente o trabalho de Ernst Chain e Howard Florey em 1939 para isolá-la e produzi-la em massa, revolucionou o tratamento de infecções bacterianas. Finalmente, em 1947, a estreptomicina, um antibiótico eficaz contra a tuberculose, é representada, completando a série de descobertas que transformaram a medicina no século XX.

Fonte: Servier Medical Art Creative Commons 4.0.

...a cada descoberta tomamos consciência de como a biologia é dinâmica, e muito mais complexa do que sequer imaginamos.

de Selman Abraham Waksman caracterizou dez novos antibióticos, três dos quais tinham aplicações práticas: a actinomicina em 1940, estreptomycin em 1944 e neomicina em 1949 (13-15). Waksman recebeu o Prêmio Nobel em 1952. O Comitê Nobel o aclamou como "um dos maiores benfeitores para a humanidade que drasticamente alterou o prognóstico da tuberculose".

Os autacóides: Farmacologia revelada a partir da Fisiologia

John Newport Langley é conhecido como um dos pais da teoria dos receptores químicos e da origem do conceito de "substância receptiva". O conceito de receptores específicos que se ligam a drogas ou mediadores à célula, iniciando efeitos biológicos estimulantes ou inibitórios as funções celulares, é hoje uma pedra angular da pesquisa farmacológica e do desenvolvimento farmacêutico. No entanto, enquanto as ideias básicas desse conceito foram explicitamente formuladas em 1905 pelo fisiologista de Cambridge, John Newport Langley (1852-1925), os receptores de fármacos permaneceram como entidades hipotéticas pelo menos até o final da década de 1960, presentes na membrana plasmática, que teve o seu modelo atual elaborado na década de 1970 (16).

Langley descobriu que o jaborandi, uma planta brasileira que ocorre majoritariamente na floresta Amazônica (contendo pilocarpina, um alcaloide colinérgico) aumentava o efeito inibitório da estimulação do nervo vago no coração. No entanto, por injeção ou aplicação local de atropina, corações que haviam sido parados desta maneira podiam recuperar o ritmo normal. Em experimentos posteriores com sapos, investigou-se a ação antagônica do jaborandi e da atropina no coração. Aplicando soluções das duas substâncias diretamente no coração de um sapo, cujo cérebro e medula espinhal foram destruídos, Langley mostrou "que uma quantidade definida de atropina poderia impedir uma quantidade

definida proporcional do ingrediente extraído das folhas de jaborandi de produzir seus efeitos sobre o coração, e que "a condição do coração depende das quantidades relativas de jaborandi (pilocarpina) e atropina presentes" (17). Além disso, o antagonismo entre os dois venenos poderia ser demonstrado localmente, por meio de aplicação direta, em diferentes partes do coração; por exemplo, somente nas aurículas, no seio venoso ou nos ventrículos. Esta observação sugeriu a Langley que as drogas agiam diretamente no tecido neuromuscular do coração – mas não em algum sítio nervoso que controla o batimento cardíaco. Langley formulou perguntas que o levaram à teoria de substâncias receptivas: as drogas atuavam diretamente sobre as células efectoras (neste caso, nas células do coração) ou agiriam primariamente nas terminações dos nervos que chegam nos tecidos do órgão? Além disso, como as drogas se combinam com os tecidos que eles afetam? E como eles causam mudanças na função da célula?

Em 1895, George Oliver, médico da área rural no Reino Unido, visitou Edward Schaefer no UCL, Londres para atestar a veracidade de experimentos que mostravam um "efeito pressor" de extratos de adrenais em vários animais. Depois que o Prof. Schaefer concordou em colaborar, os dois conduziram uma série de experimentos para examinar os efeitos dos extratos adrenais na circulação sistêmica. Por causa do potencial efeito terapêutico deste trabalho, a publicação desses achados solicitava a caracterização do princípio ativo envolvido. "Quando Oliver e Schaefer adicionaram extrato da suprarrenal no sistema arterial perfundido de rãs, cujo sistema nervoso central (SNC) foi destruído, as arteríolas se contraíam tanto, que o fluxo do fluido de perfusão circulante chegava quase a ser interrompido" (18).

Em 1897, John Jacob Abel da Universidade John Hopkins, juntamente com A. C. Crawford, isolaram e purificaram o princípio ativo dos extratos da adrenal, que Abel mais tarde chamou de epinefrina. John Abel é considerado por muitos o pai da farmacologia americana e cerca de 30 anos mais tarde, fez outra descoberta importante, cristalizando a insulina. No entanto, como os extratos de Abel não apresentavam forte efeito fisiológico, um químico industrial chamado Jokichi Takamine desenvolveu outro método de purificação desses extratos de adrenal e, junto com Parke, Davis & Company, conseguiu sintetizar a "adrenalina" como conhecemos hoje, que ficou conhecida como o princípio ativo da glândula adrenal (19).

O conceito de transmissão de elétrica para química começou a mudar na década de 1920, após a demonstração clássica alcançada por um experimento engenhoso, realizado por Otto Loewi. Depois de um sonho, Loewi formulou uma ideia para testar a hipótese de transmissão química e escreveu algumas notas em um caderno. No dia seguinte, ele achou seus escritos ininteligíveis. Mas na manhã seguinte às 3 da manhã, a ideia lhe ocorreu novamente. Então, Loewi foi ao laboratório e realizou os experimentos, que revolucionaram os conceitos da transmissão nervosa. Loewi colocou dois corações de sapo em um único banho: o nervo vago de um coração foi estimulado desacelerando aquele coração, enquanto a taxa do segundo, desnervado, também diminuiu a frequência de contração. A partir desta experiência, Loewi chegou à conclusão óbvia de que uma substância liberada do primeiro coração era responsável por causar inibição na contração do segundo coração. Ele chamou a substância desconhecida de *vagusstoff* (“fator do vago”), que mais tarde foi identificada como sendo a acetilcolina (ACh) (20). A *Wellcome Trust*, uma fundação de pesquisa do Reino Unido, originou-se em 1894 por Henry Wellcome (farmacêutico formado nos Estados Unidos), para produzir antitoxinas séricas para aplicações clínicas. Em 1895, Wellcome estabeleceu os primeiros laboratórios de pesquisa, um segundo ramo da empresa dedicado exclusivamente a conduzir pesquisa original e separada da subdivisão comercial.

A *Wellcome Laboratories* teve um forte interesse nas propriedades de derivados do fungo de centeio, e Sir Henry Dale foi designado como responsável por este projeto. Dale justificou à empresa e para si mesmo, argumentando que um componente de extratos de Ergot, a ACh, provavelmente ocorre naturalmente e, portanto, seu estudo tinha significado fisiológico. Em sua abrangente farmacologia, a análise publicada em 1914, Dale e Laidlaw encontraram as ações de ACh na pressão sanguínea do gato e nas glândulas exócrinas, bem como no músculo liso do rato. Esses resultados lembravam os extratos do alcaloide muscarina. Eles também observaram que os efeitos farmacológicos da ACh exógena exibiram uma semelhança com os efeitos da estimulação nervosa parassimpática muscarínica (bloqueada pela atropina) e ações nicotínicas. Dale sugeriu que uma esterase tissular ou plasmática deveria estar inativando a ACh muito rapidamente. Subsequente, artigos de Otto Loewi de 1930 forneceram provas adicionais de que a ACh teria importância fisiológica; e já era aceito que o sistema nervoso autônomo era regulado por duas substâncias com ações antagônicas: um agente semelhante a ACh,

liberado por fibras parassimpáticas e uma substância parecida com epinefrina (adrenalina), liberada por fibras nervosas do sistema simpático.

Em reconhecimento as realizações extraordinárias, Dale e Loewi compartilharam o Prêmio Nobel em 1936 pelo trabalho na transmissão química de impulsos nervosos. Dois anos depois de se tornar um nobelista, Loewi foi preso pelos nazistas por suas crenças religiosas. No entanto, Loewi foi liberado para sair da Áustria, mas apenas depois de transferir seu prêmio em dinheiro para um banco controlado por nazistas, e foi privado de todas suas propriedades e pertences.

Em 1947, Daniel Bovet (citado pelo envolvimento com o antibiótico **Prontosil**) sugeriu que substâncias de origem natural, tais como a toxina do Ergot, o curare e a atropina, serviam como modelo para o desenvolvimento de antagonistas mais seletivos de receptores. Ele estabeleceu a ideia da relação estrutura-atividade, adotando esta abordagem para estudar atividade farmacológica. Bovet examinou uma série de derivados químicos através de várias etapas para determinar quais grupos eram responsáveis pelo antagonista ou atividade agonista em questão.

Bovet definiu os passos para caracterização de um fármaco como sendo: 1) análise da estrutura dos compostos parentais que possuem uma atividade farmacológica específica, seguida de, 2) síntese e teste de vários derivados químicos ou análogos para atividade agonista ou antagonista. Testou e comparou atividade farmacológica de análogos da d-tubocurarina. Como resultado, descobriu que a succinil-colina possuía uma curta duração de ação como relaxante muscularem comparação com d-tubocurarina e decametônio, permitindo o uso clínico como adjuvante na anestesia. Assim, poderia ser empregado como um adjuvante na forma de um gotejamento para controlar de forma mais precisa o nível de relaxamento muscular durante a anestesia geral. Desta forma, os perigos potenciais da anestesia cirúrgica foram reduzidos. Daniel Bovet e Anne-Marie Staub estavam entre os pesquisadores que iniciaram esforços para produzir antagonistas da histamina, pela sua importância clínica no tratamento da alergia. Bovet examinou vários aspectos da farmacologia do SNC. Foram dele as primeiras observações que o ácido lisérgico e seus derivados tinham efeitos farmacológicos. Daniel Bovet e seus colegas produziram o primeiro anti-histamínico, timoxidietilamina. Embora esta droga tenha impedido o choque anafilático em animais, provou ser muito tóxica para ser administrada a pacientes.

Os princípios da Farmacologia Moderna e os primeiros antitumorais

Em 1950, Sir James Black se interessou em descobrir como a adrenalina afeta o coração humano, particularmente nos que sofrem de angina. Ele foi o pioneiro no método de pesquisa em que protótipos de fármacos eram propositadamente construídos, em vez de serem inicialmente sintetizados, e depois investigados quanto a seus potenciais usos clínicos. Por exemplo, o gráfico de Schild, que analisa a ligação de um antagonista competitivo ao seu receptor, ajudou em grande medida a definir as características e propriedades do antagonismo competitivo. Os antagonistas beta-adrenérgicos, que já eram conhecidos desde a descoberta de ergotamina por Henry Dale no início do século XX, eram considerados como antagonistas de receptores alfa, enquanto o isoproterenol era um conhecido antagonista seletivo de receptores beta. Com isso, James Black, Gertrude Elion, e George Hitchings, chegaram à descoberta do propranolol (desenvolvimento por química racional), que possui uma atividade bloqueadora dez vezes maior de beta receptores e quase nenhuma atividade agonista. A **descoberta do propranolol** foi saudada como o maior avanço no tratamento de doenças cardíacas desde a descoberta dos digitálicos, revolucionando o tratamento médico da angina do peito. Esses desenvolvimentos contribuíram imensamente não somente para aliviar a dor da angina de peito, mas para a redução da pressão arterial em hipertensos e aumento da taxa de sobrevivência dos pacientes após um enfarte do miocárdio. Até hoje, é considerada uma das mais importantes contribuições para a Medicina clínica e para a Farmacologia do século XX.

Em 1975, a perseverança de Black foi eventualmente recompensada quando ele e sua equipe desenvolveram um antagonista do receptor de H₂ chamado cimetidina. Este trabalho também forneceu suporte experimental para a hipótese de que a histamina endógena pode estar envolvida na secreção de ácido no estômago. Talvez o significado vital da contribuição de James Black possa ser melhor percebida pela percepção de que a cimetidina, que foi comercializada sob a marca **Tagamet**, tornou-se a primeira droga do mundo a faturar bilhões de dólares.

No início da década de 1950, James Black, Gertrude Elion e George Hitchings propuseram que "com a ajuda de drogas, é possível inibir seletivamente a síntese de ácidos nucleicos utilizados por micro-

organismos e células tumorais". Essa hipótese baseou-se na teoria dos anti-metabólitos, publicada por Donald Woods e Paul Fildes em 1940, para explicar o mecanismo de ação das sulfas, que haviam sido desenvolvidas na época. Em 1951, depois de examinar mais de uma centena de purinas na cepa *Lactobacillus casei*, Elion descobriu que a substituição de oxigênio pelo enxofre na posição 6 de guanina e hipoxantina produziu inibidores eficazes do metabolismo da purina. Dois destes compostos, **6-mercaptopurina (6-MP)** e **6-tioguanina**, apresentaram atividade significativa contra uma grande variedade de tumores de roedores e leucemias. Quando testados em ensaios clínicos no Memorial Sloan-Kettering Hospital em Nova York, demonstrou-se a eficácia e segurança de 6-MP como agente anti-leucêmico. A descoberta adicional de que uma remissão com 6-MP foi induzida em um paciente que havia sido tratado com um antagonista do ácido fólico, indicava a não tolerância cruzada entre 6-MPE e o antagonista do ácido fólico. Isso representou uma descoberta significativa, estabelecendo o regime de quimioterapia combinada, que é rotineiramente usada hoje em muitas áreas de farmacoterapia. Hoje, como consequência dos esforços combinados de Elion e Hitchings no desenvolvimento de 6-MP, a maioria das crianças com leucemia aguda pode antecipar uma remissão quando o medicamento é usado em combinação com dois ou três outros agentes, incluindo metotrexato, com alguns pacientes curados. Da mesma forma, a 6-tioguanina é particularmente importante no tratamento de leucemia granulocítica aguda, quando empregada em combinação com a citarabina. A descoberta adicional por Roy Calne no Reino Unido, de que 6-MP e azatioprina impediam a rejeição dos homoenxertos de rins caninos, levou ao uso bem sucedido de uma combinação de azatioprina e prednisona para transplante de órgãos em seres humanos, começando em 1962 (21). Até hoje, azatioprina continua a ser um componente farmacológico chave nas combinações de drogas usadas no transplante renal, e no tratamento de doenças autoimunes, como a artrite reumatoide. A 6-tioguanina ainda é utilizada como imunossupressor, especialmente em pacientes com nefrose e distúrbios vasculares relacionados ao colágeno. Desenvolveram ainda o aciclovir, muito utilizado para o tratamento de infecções herpéticas.

O tema ressonante intrínseco à estratégia usado por esses três talentosos cientistas tem a ver com alcançar a seletividade da ação da droga usando o funcionamento básico do sistema fisiológico, associados

a princípios farmacológicos. As descobertas de princípios relacionados ao tratamento de drogas feito por James Black, Gertrude Elion e George Hitchings lhes valeu o prêmio Nobel em 1988.

A neurotransmissão sináptica química

Devido às conquistas combinadas de von Euler, Axelrod e Katz, a comunidade científica finalmente aceitou sem equívoco o conceito de transmissão química dos impulsos nervosos, e a teoria da excitação elétrica do sistema nervoso, que teve o conceito modificado.

Em 1940, Ulf von Euler e Nils-Ake Hillarp mostraram que uma fração particulada, isolada a partir de um homogeneizado de tecido nervoso adrenérgico, sequestrou uma quantidade desproporcionalmente grande de norepinefrina. O emprego de microscopia eletrônica revelou que esta fração de partículas era composta de estruturas granulares encontradas sequestrando aminas biogênicas (levando a descoberta da recaptação neuronal, alvo de inúmeros fármacos que agem como antidepressivos e estimulantes do SNC). Esses estudos enfatizaram os eventos que ocorrem nas terminações nervosas adrenérgicas durante a transmissão sináptica, e complementou as principais investigações relativas à síntese e ao destino metabólico dos neurotransmissores adrenérgicos. **Ulf von Euler**, trabalhando no laboratório de Sir Henry Dale com Sir John Henry Gaddum, descobriu um “fator resistente à atropina” que reduzia a pressão arterial e contraía o músculo liso intestinal isolado. Esse fator mais tarde foi chamado de **substância P** (22). A disciplina e a determinação foram características da abordagem de von Euler à pesquisa experimental, levando a descoberta de substância P, e descrevendo sua natureza peptídica, a distribuição geral no corpo e métodos para a sua purificação e ensaio.

Julius Axelrod, um dos ganhadores do Prêmio Nobel mais renomados e apreciados de todos os tempos, se tornou doutor com 42 anos de idade (1955) e com inúmeros trabalhos publicados. Desenvolveu métodos para analisar a acetanilida, e logo descobriu que essa era uma pró-droga que exercia suas ações terapêuticas por metabolização de N-acetil-p-aminofenol (acetaminofeno). No início da década de 1970, a Johnson & Johnson iniciou a comercialização da droga como tylenol, uma alternativa eficaz e rentável à aspirina. Julius Axelrod foi responsável por encontrar os metabólitos de efedrina e da anfetamina em microsomas hepáticos, e pela descoberta original do sistema microsomal hepático (atribuída erroneamente ao chefe do laboratório de química farmacológica,

Bernard Brodie, do *National Heart Institute do NIH*). Em 1959, apenas dois anos após ser apontado como pesquisador independente, fez uma descoberta fundamental para o metabolismo de neurotransmissores, que desde então está presente em todos os livros textos de farmacologia: isolamento e purificação da enzima, por ele nomeada, catecol-O-metiltransferase (23). Axelrod realizou estudos complementares demonstrando o sistema de recaptação neuronal de catecolaminas; descobriu que certas drogas psicoativas, como cocaína e desmetilimipramina, bloqueavam a recaptação de catecolaminas. As descobertas de Axelrod forneceram a base para os avanços feitos no tratamento de ansiedade e depressão. Por exemplo, não houve tratamento efetivo para a depressão até o surgimento da imipramina, um inibidor clássico da recaptação da norepinefrina, útil no tratamento da esquizofrenia. Esses achados levaram à triagem de drogas que bloqueiam a recaptação de catecolaminas e serotonina. Inibidores seletivos da recaptação da serotonina (ISRS) ainda constituem a base farmacológica para o desenvolvimento de potenciais antidepressivos e agentes ansiolíticos. Fez ainda importantes descobertas sem conjunto com Richard Wurtman, sobre a glândula pineal e a produção de melatonina, um hormônio chave para o controle do ritmo circadiano.

Em 1950, **Sir Bernard Katz**, utilizando novas técnicas eletrofisiológicas previamente desenvolvidas por Sir Alan Hodgkin (1914–1998) e Sir Andrew Huxley (1917–2012) na Universidade de Cambridge no Reino Unido, utilizaram o modelo do axônio gigante de lula para desenvolver as bases da bioeletrogênese, que mais tarde deu origem a grande parte da neurofisiologia de canais iônicos e da excitabilidade celular, que incluíam registro intracelular e micro iontoforese em células isoladas; Bernard Katz mostra que o terminal nervoso em repouso libera porções de ACh, cerca de 100 moléculas, aproximadamente, responsáveis pelos potenciais em miniatura - responsável pela demonstração da liberação vesicular (ou quantal) de neurotransmissores. Ou seja, Bernard Katz foi responsável pela hipótese da exocitose para explicar a liberação dos neurotransmissores (“as vesículas sinápticas contendo ACh sofrem frequentes colisões aleatórias”). A liberação de muitas vesículas, após o influxo de cálcio, é responsável pela geração de um potencial de ação neuronal ou na placa neuromuscular. Esses achados são fundamentais para, em 1970, aceitar-se de maneira definitiva que a transmissão nervosa era química e não elétrica. Os canais de Ca^{2+} dependentes de voltagem que hoje são sabidamente críticos na terminação nervosa para a exocitose,

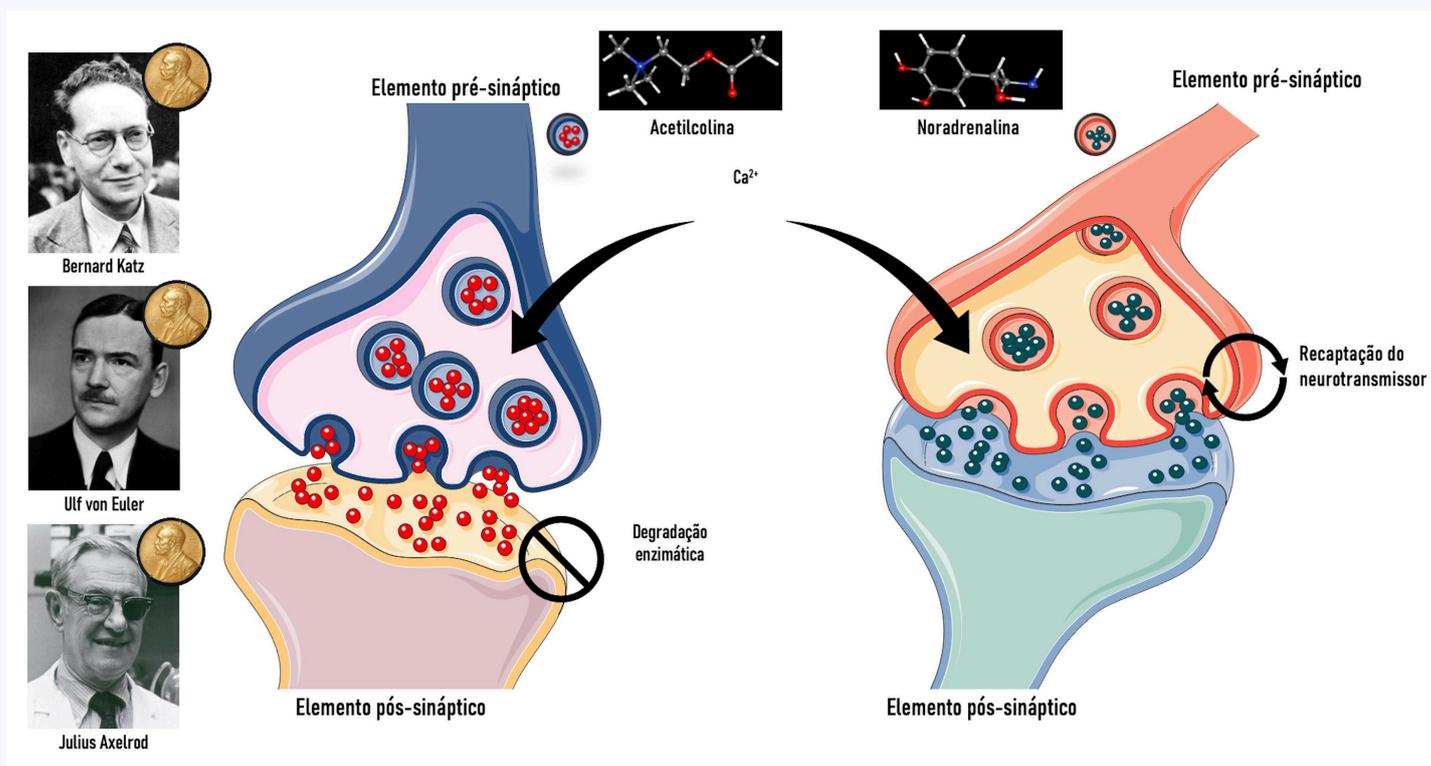


Figura 3 - A descoberta dos mecanismos de neurotransmissão química. Mecanismos fundamentais da neurotransmissão na sinapse, destacando as descobertas de três cientistas laureados com o Prêmio Nobel: Bernard Katz, Ulf von Euler e Julius Axelrod. À esquerda, observa-se a sinapse colinérgica, onde a acetilcolina é liberada pelo elemento pré-sináptico em resposta à entrada de íons cálcio (Ca^{2+}) e, posteriormente, degradada enzimaticamente na fenda sináptica antes de ser recaptada. À direita, a sinapse noradrenérgica mostra a liberação de noradrenalina, com destaque para o processo de recaptação, um mecanismo crucial para a regulação da neurotransmissão. As contribuições desses cientistas foram fundamentais para o entendimento dos processos de liberação, ação e recaptação de neurotransmissores, áreas essenciais para a neurociência moderna. Fonte: Servier Medical Art Creative Commons 4.0

começaram a ser imaginados com os trabalhos clássicos desenvolvidos por Katz (24) com a hipótese da entrada de Ca^{2+} na região pré-sináptica, que mais tarde seria denominada zona ativa.

Entre 1940-1970, juntos, Von Euler, Axelrod e Katz, não só demonstraram que a transmissão nervosa é química, como elucidaram os processos envolvidos com a biossíntese, liberação, ativação, e inativação de neurotransmissores. Em 1970, juntos, os três, receberam o Prêmio Nobel pelas suas contribuições científicas.

A neurotransmissão e a transdução de sinal no SNC

O Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina de 2000 foi atribuído em conjunto a Arvid Carlsson, Paul Greengard e Eric R. Kandel pelas descobertas relativas à transdução de sinal, que marcou um ciclo de importantes descobertas sobre a transmissão sináptica no SNC, onde bilhões de células nervosas se conectam para se comunicar umas com as outras.

Na década de 50, Arvid Carlsson foi responsável pelo conceito de “transdução de sinal” no sistema nervoso, ao demonstrar que certos agentes farmacológicos podem produzir mudanças no cérebro que se correlacionaram a mudanças no comportamento de indivíduos. Ele descobriu que a dopamina era um neurotransmissor, e não apenas um metabólito da via de síntese de noradrenalina. Mostrou que a dopamina estava concentrada nos gânglios da base, porção do cérebro que controla o movimento. Durante seus estudos, Carlsson observou que ao esgotar os estoques de catecolaminas com a administração de reserpina, produzia sintomas semelhantes ao Parkinson, isto é, rigidez e incapacidade de reagir a estímulos externos. A administração de L-DOPA para animais não apenas melhorava os níveis da dopamina que havia sido depletadas pela reserpina, como produzia uma redução dos sintomas de Parkinson. A partir desses estudos, Carlsson concluiu que a etiologia da doença de Parkinson envolve um esgotamento dos níveis de dopamina na substância negra do cérebro de pacientes com Parkinson, o que leva a uma falha na liberação de

dopamina. Com base nesses trabalhos, o uso de LDOPA no tratamento de Parkinson foi instituído. Essas conquistas de Carlsson colocam o desenvolvimento de um número de drogas psicotrópicas de forma mais eficiente. Carlsson também foi responsável por descobrir fármacos que bloqueiam diferencialmente a absorção neuronal da serotonina sem afetar a de norepinefrina. Assim, vários inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina (ISRN) foram desenvolvidos, incluindo sertralina (Zoloft), fluoxetina (Prozac) e paroxetina, medicamentos que não são apenas úteis em pacientes deprimidos, mas também podem aliviar os sintomas de ansiedade. Hoje, os ISRN representam um grande avanço na farmacoterapia por sua capacidade de alterar a personalidade dos indivíduos com problemas psicológicos, e permitir que pacientes possam ter uma vida mais produtiva.

Na década de 1960, Paul Greengard usou modelos animais para investigar o mecanismo de ação da dopamina e outros neurotransmissores. A comunicação neuronal é governada em alguns princípios gerais de forma similar à ação hormonal periférica. Adenilil ciclase desempenha papel chave na transmissão sináptica. Paul Greengard e colegas da Universidade de Columbia mostraram que a magnitude da neurotransmissão, em resposta a um impulso nervoso, é regulada por reações de fosforilação/desfosforilação. Como consequência, foi estabelecida uma base para elucidar os processos biológicos associados à transmissão sináptica. Paul Greengard e Arvid Carlsson fizeram descobertas complementares (e até mesmo sinérgicas) que conhecemos hoje como a transdução do sinal. Esses achados aumentaram nossa compreensão de certas drogas que surtem efeito, influenciando a comunicação entre as células nervosas.

A partir dos anos 1960, Eric Kandel usou principalmente lesmas do mar (*Aplysia*) para estudar o papel da transmissão sináptica na aprendizagem e na memória. Usando este organismo simples, Kandel fez descobertas que se mostraram aplicáveis a sistemas nervosos complexos de mamíferos. Ele descobriu que a base para a aprendizagem e a memória estava nos circuitos sinápticos de neurônios sensoriais e motores, com estímulos fracos levando a mudanças químicas nas proteínas sinápticas que formam memórias de curto prazo. Estímulos mais fortes podem afetar a síntese de novas proteínas e alterar a forma e a função das sinapses, resultando em memórias de longo prazo. O trabalho de Kandel marca um ponto importante no caminho para entender como as memórias são feitas, iluminando investigações sobre os tratamentos para melhorar a memória para quem sofre de demência.

Insulina: “O que começou como um projeto de verão virou uma das maiores descobertas da história da ciência”

Os diabéticos eram frequentemente colocados em dietas de fome, e seus fenótipos pareciam de sobreviventes dos campos de concentração nazistas durante a década de 1940. Uma visão importante da fisiopatologia da diabetes foi alcançada na última parte do século XIX, quando Paul Langerhans, então estudante alemão de medicina, identificou células de ilhotas no pâncreas sem, contudo, explicar suas funções. Em 1889, a associação entre o pâncreas endócrino e o diabetes havia sido estabelecida quando Joseph von Mehring e Oskar Minkowski relataram que o diabetes se desenvolvia quando o pâncreas era removido de cães (25). No final da Primeira Guerra Mundial, os cientistas já sabiam que uma substância localizada no pâncreas reduzia o açúcar no sangue. Extratos de pâncreas eram usados para tratar diabéticos.

Frederick Banting era um jovem cirurgião-ortopedista, lutando para fazer sucesso na prática da medicina na cidade canadense de Londres, Ontario. Com um número insuficiente de pacientes para ganhar um salário bom, Banting trabalhou em regime parcial no ensino de fisiologia para estudantes de medicina por 2 US\$ /hora. Depois de preparar uma palestra sobre o metabolismo de carboidratos, que ele pouco conhecia, Banting adormeceu e ficou relembrando sobre o trabalho que ele havia lido para as aulas. Um patologista chamado Moses Barron, na Universidade de Minnesota, durante uma autópsia de rotina, observou um caso raro de pedra no pâncreas que obstruía o principal ducto pancreático. Essa oclusão produziu uma degeneração dos ácinos, enquanto as células das ilhotas permaneceram praticamente intactas (Barron, 1920). Depois de pensar sobre este artigo, Banting teorizou que tentativas anteriores de isolar a “insulina” (naquela época ainda desconhecida) do tecido pancreático falharam porque ela era destruída pelas enzimas digestivas do pâncreas. Então, na primavera de 1921, depois de finalmente ter persuadido o Professor John Macleod a fornecer-lhe algum espaço em seu laboratório, dois assistentes de pós-graduação e vários cães, Fred Banting mudou-se para Toronto para testar suas hipóteses. Macleod selecionou Charles Best e Clark Noble, que eram estudantes de 4º ano no curso de bioquímica, aprovados com honras na disciplina de fisiologia, para ajudar Banting.

Banting foi encarregado de realizar as cirurgias com o objetivo de obstruir os ductos pancreáticos em cães e

assim, permitir que as glândulas atrofiassem após um determinado tempo. Com isso, o pâncreas era removido e um extrato, preparado. De início, os extratos mais efetivos prolongavam de forma modesta a vida nos cães diabéticos. Primeira publicação: *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, Banting and Best, 1922. Macleod participou da edição do manuscrito, mas não aceitou se tornar coautor.

O extrato de pâncreas foi chamado “isletin”, primeiro nome dado a insulina.

Frederick Banting e John Macleod (Charles Best e James Collip) descobrem a insulina, que foi utilizada no mesmo ano em pacientes, e cristalizada em 1926 por John Jacob Abel, e posteriormente sequenciada por Frederick Sanger em 1955 (Nobel de Química em 1958). A insulina foi sintetizada em 1966 por Katsyannis. Em 1967, depois de décadas de esforço,

Dorothy Hodgkin determina a conformação espacial da molécula de insulina por difração de raios-X e é premiada com o Prêmio Nobel. Uma colaboração foi estabelecida com a empresa farmacêutica Eli Lilly em maio de 1922 para produção de insulina, o que aconteceu no verão desse mesmo ano. Em 1923, o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia é dado a Fred Banting e John Macleod pela descoberta da insulina.

Insulina humanizada como exemplo de inovação biomédica

Nos anos 1970, o tratamento do diabetes dependia de insulina extraída de animais, como porcos e bovinos, o que apresentava limitações, incluindo alergias e resposta imunológica em alguns pacientes. A busca por uma insulina mais eficaz e com menos efeitos colaterais levou ao desenvolvimento da insulina recombinante, uma forma de insulina humanizada.

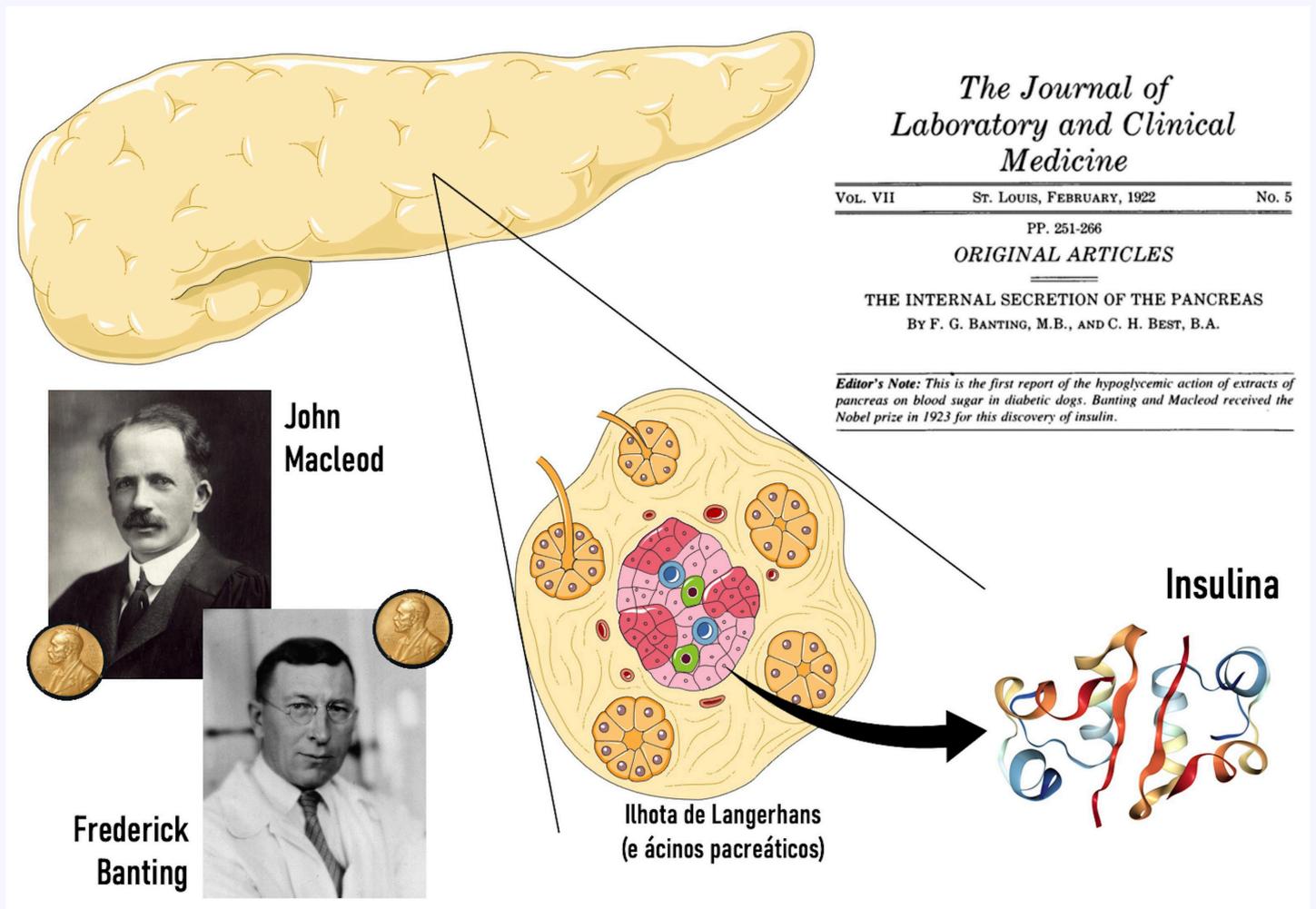


Figura 4 - Insulina, um “projeto de verão”. Descoberta da insulina, uma das maiores conquistas da medicina moderna, realizada por Frederick Banting e John Macleod, que receberam o Prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina em 1923. No centro da imagem, observa-se uma representação do pâncreas, com ênfase nas ilhotas de Langerhans, onde a insulina é produzida. A descoberta foi publicada em 1922 no *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, marcando o primeiro relato sobre a ação hipoglicêmica dos extratos pancreáticos em cães diabéticos. A imagem também destaca a estrutura molecular da insulina, um hormônio crucial para o controle dos níveis de glicose no sangue.

Fonte: Servier Medical Art Creative Commons 4.0.

A empresa americana Genentech, fundada em 1976 como uma das pioneiras na área da biotecnologia, desenvolveu uma técnica inovadora para inserir genes humanos em bactérias, permitindo que produzissem proteínas humanas, como a insulina. Em 1978, a equipe da Genentech, liderada por Herbert Boyer, conseguiu sintetizar pela primeira vez genes de insulina humana e inseri-los em bactérias *Escherichia coli*, que começaram a produzir a insulina com atividade farmacológica.

Apesar do sucesso técnico, a Genentech não tinha a capacidade de produção de insulina como um medicamento em larga escala, nem a experiência de mercado necessária para fabricar o medicamento em quantidade comercial. Foi quando entrou a empresa Eli Lilly, uma das maiores fabricantes de insulina de origem animal, com vasta experiência em produção farmacêutica e distribuição.

Em 1979, a Genentech e a Eli Lilly firmaram um acordo de colaboração. A Genentech licenciou sua tecnologia de engenharia genética para a Lilly, que investiu na ampliação da produção em larga escala, desenvolvimento clínico e comercialização da insulina recombinante.

A Lilly usou a tecnologia da Genentech para desenvolver uma forma de insulina que fosse idêntica à insulina humana, que ficou conhecida como "Humulin" (insulina recombinante humanizada). Este processo envolveu a expressão do gene de insulina em bactérias *Escherichia coli*, purificação da proteína e rigorosos testes clínicos para garantir segurança e eficácia.

Em 1982, a Humulin tornou-se a primeira insulina humana recombinante a ser aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*) e lançada no mercado. Este lançamento revolucionou o tratamento do diabetes, pois oferecia uma alternativa mais segura e eficaz em comparação à insulina de origem animal.

Essa colaboração não só revolucionou o tratamento do diabetes, mas também estabeleceu um modelo para o desenvolvimento de outros medicamentos biotecnológicos. A parceria foi um exemplo bem sucedido de como empresas de biotecnologia e farmacêuticas podem trabalhar juntas para transformar descobertas científicas em produtos comerciais que beneficiam milhões de pacientes.

Descoberta da adenina monofosfato cíclico (AMPc) e guanilato monofosfato cíclico (cGMP) – segundos mensageiros por Earl Sutherland

Earl Sutherland estudava como hormônios, especialmente aqueles que não conseguem entrar diretamente nas células, como adrenalina, insulina e glucagon, conseguem exercer suas funções dentro do corpo. Ele focou na compreensão dos mecanismos moleculares que permitem a comunicação entre hormônios e células. Sutherland e Ted Rall observaram que a resposta hormonal era perdida quando o homogeneizado do fígado era centrifugado, na remoção de detritos celulares, mas que poderia ser restaurado por recombinação da fração de partículas com o sobrenadante. O fator termoestável foi determinado como um nucleotídeo de adenina, produzido pelo fígado, coração, músculo esquelético e cérebro. O fator foi identificado como cAMP (26, 27). Sutherland e colaboradores identificaram a adenilato ciclase como a enzima que catalisa a síntese de cAMP. A descoberta por Sutherland e Rall de que epinefrina melhora a produção de glicose elevando os níveis de cAMP, promovendo a conversão de uma fosforilase inativa para uma enzima ativa, revelou o mecanismo celular pelo qual o reconhecimento do receptor de um hormônio desencadeia a resposta de um efetor. Essa é a base para toda a transdução na sinalização celular. Earl Sutherland foi o único recipiente do prêmio Nobel em 1971, algo que não ocorria há 11 anos.

Edwin Krebs (que não é Sir Hans Adolf Krebs, do ciclo de Krebs) complementou o trabalho de Sutherland ao descobrir que a proteína quinase dependente de cAMP mediava várias das ações do AMPc invocadas por hormônios e agentes farmacológicos (28). Depois de se tornar aparente que a fosforilação proteica reversível era de natureza generalizada e afetava uma grande quantidade de processos biológicos, Krebs e Fischer foram premiados com o Nobel Prêmio em 1992.

Proteínas G e o papel na transdução do sinal celular: Martin Rodbell e Alfred G. Gilman

Rodbell e Lutz Birnbaumer demonstraram em uma série de estudos realizados entre 1969 e 1971, que a ação da insulina era mediada por um processo dependente de GTP. Naquele tempo, observaram que o uso de uma combinação de hormônios em concentrações máximas era de grande importância, revelando que adenilato ciclase era ativada por múltiplos receptores, que interagiram com uma unidade catalítica comum. Esta ideia englobava um sistema bastante complexo, no qual

cada receptor continha regiões específicas de ligação, mas, um único elemento interagiu com o componente catalítico, que promove a conversão de ATP em AMPc. Martin Rodbell cunhou o termo “transdução de sinal” em 1969, revolucionando o estudo da Biologia Celular e Molecular. Rodbell postulou a existência de um interruptor (ou processo de acoplamento) interposto, entre o discriminador (receptor) e o amplificador (enzima), que chamou de transdutor. Ele também propôs que o transdutor fosse chamado de proteínas G, pois se ligavam ao GTP, medindo o processo de transmissão de sinais através da membrana celular. Rodbell hipotetizou que as proteínas G eram compostas de três subunidades, uma capaz de se ligar e degradar o GTP, além de um complexo de subunidades acessórias. A descoberta adicional de que as células de gordura também continham receptores de adenosina que expressaram seus efeitos inibindo adenilil ciclase através de um processo dependente de GTP, forneceu evidências decisivas de que os nucleotídeos de guanina poderiam representar também um papel inibitório na transdução de sinal. Este novo paradigma descreveu que a transdução envolvia tanto condições estimulantes quanto inibitórias, mediadas por proteínas de ligação ao GTP distintas. Esses nucleotídeos das proteínas reguladoras foram inicialmente chamados Ns e Ni, para identificar as proteínas G estimulatórias e inibitórias, respectivamente, e posteriormente, designadas Gs e Gi. A atividade ou inatividade de proteínas G específicas podem ser implicadas na fisiopatologia de doenças como cólera, pseudo-hipoparatiroidismo, acromegalia e certos tipos de câncer.

Alfred Goodman Gilman, recipiente de uma excelente herança como filho de Alfred Gilman que, com Louis Goodman, foram os primeiros coautores do clássico livro texto *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, agora na sua 14ª edição.

Gilman e Ross propuseram que a função da proteína termoestável era permitir que a adenilil ciclase catalisasse a síntese de cAMP em resposta ao hormônio, e que o receptor hormonal servia para regular a interação entre a proteína distrital e a enzima (29). A proteína G reguladora foi originalmente designada G/F, e depois chamada Gs como o local de ação do GTP (30-33). Experimentos desenvolvidos no laboratório de Gilman levaram ao isolamento das subunidades alfa e beta da proteína G (32). O terceiro componente, a subunidade gama, foi identificada mais tarde. Eventualmente, foi determinado que a ativação hormonal de um receptor apropriado desencadeia a troca de GTP para GDP, causando uma mudança conformacional no complexo de proteína G. A mudança

de conformação leva à dissociação da subunidade alfa das beta-gama, causando a ativação da adenilil ciclase por Galfa-GTP. **Por suas contribuições fundamentais para a compreensão básica da transdução de sinal e como as células respondem de maneira integrada aos mensageiros celulares, Martin Rodbell e Alfred G. Gilman foram premiados conjuntamente com o Prêmio Nobel em 1994.**

Robert Furchgott, Ferid Murad, e Louis Ignarro: Descoberta do óxido nítrico (NO)

Sabendo que a ACh é um potente vasodilatador in vivo e em perfusão de órgãos isolados, foi com surpresa a observação de que a ACh provoca uma resposta contrátil da tira aórtica (34). Este efeito atípico da ACh permaneceu um enigma até 1978, quando, devido a um inadvertido erro cometido por seu técnico, Furchgott descobriu que os agonistas muscarínicos provocariam relaxamento se a preparação tivesse pré- tratada com um agente contrátil, como norepinefrina (35). Após várias semanas, Furchgott pareceu resolver o paradoxo aparente quando observou que essa fricção gerou a remoção da superfície íntima da vasculatura.

A resposta de relaxamento induzida por ACh após o pré-tratamento com norepinefrina foi determinada por análise microscópica, além da fricção da superfície, que provocou uma perda da resposta de relaxamento pela remoção de células endoteliais da tira aórtica. Usando o chamado "procedimento sanduíche", Furchgott reforçou suas conclusões ao demonstrar que uma tira de aorta transversa desprovida de células endoteliais, relaxaria após a exposição a ACh, se fosse montada com sua superfície livre de endotélio e colocada contra uma superfície íntima de uma segunda tira possuindo células endoteliais (36). Furchgott propôs, em 1982, que a ACh, ao interagir com seus receptores muscarínicos na superfície das células endoteliais, provocava a liberação de uma substância desconhecida do endotélio, que faria com que esta substância se difundisse para perto das células musculares para induzir relaxamento. Ele chamou isso de EDRF - fator relaxante derivado de endotélio. Furchgott estendeu essas descobertas ao determinar que histamina, serotonina e bradicinina também poderiam servir como agentes relaxantes dependentes do endotélio em leitos vasculares com músculo liso (37). Com base no conhecimento anterior, de que em certas preparações musculares lisas há uma relação positiva entre níveis de cGMP e relaxamento, Furchgott eventualmente propôs uma via na qual o ACh induzia a liberação de EDRF que, por sua vez, estimulava a guanilil ciclase vascular, causando um aumento no GMPc e conseqüente relaxamento da

musculatura lisa vascular (vasodilatação). A ligação entre cGMP e relaxamento do músculo liso também teve suporte pelos estudos realizados por vários outros grupos, incluindo os de Ferid Murad e Louis Ignarro. Eles empregaram corações bovinos e artéria pulmonar, bem como aorta de coelho, para provar que o GMPc tem um papel relaxante de músculo liso vascular. No entanto, a identidade do EDRF ainda permanecia evasiva. Ao tentar descobrir o fator crítico responsável para ativar a guanilil ciclase, Furchgott estava consciente de que Ferid Murad havia demonstrado que o óxido nítrico (NO) era um ativador potente de guanilil ciclase. Ele também sabia disso, pois Louis Ignarro mostrou que o relaxamento de artéria coronária de bovinos por NO era acompanhada por um aumento de cGMP. Depois de descobrir que as características funcionais do NO e do EDRF eram notavelmente similares, Furchgott propôs em um simpósio na Clínica Mayo, em julho de 1986, que EDRF era o NO (35). Na mesma reunião, Louis Ignarro da UCLA, chegou a mesma conclusão de forma independentemente, ao relatar que o NO causou a relaxamento da artéria pulmonar bovina. O trabalho de Furchgott, Murad e Ignarro teve ramificações de longo alcance, tanto na parte heurística como de perspectiva terapêutica. A descoberta de NO como vasodilatador representou o surgimento de uma nova era. Este processo envolve uma produção endógena de um gás que serve como uma molécula de sinalização. Um fármaco muito bem-sucedido foi o Sildenafil (Viagra), que se baseia no aumento dos efeitos do NO ao inibir seletivamente a fosfodiesterase-5 no corpo cavernoso (músculo liso) do pênis. Em reconhecimento às suas realizações científicas inestimáveis, que levaram a avanços ímpares em nossa compreensão de mecanismos cardiovasculares básicos e, ao mesmo tempo, aumentaram as oportunidades de desenvolvimento de drogas, Robert Furchgott, Ferid Murad e Louis Ignarro foram premiados em 1998 com o Prêmio Nobel.

Esteroides e o composto E

Em 1940, diversos esteroides adrenais foram isolados por Kendall e Reichstein, incluindo cortisona, hidrocortisona (cortisol), corticosterona e 11-desoxicorticosterona. Uma tonelada de extrato de adrenal foi obtida para a produção de 1 g de corticosteroide. Uma vez que o composto denominado E (cortisona) foi encontrado, sendo particularmente eficaz na preservação da vida de animais adrenalectomizados, Hench concluiu que E poderia ser a substância X relacionada às doenças reumatóides. Então, em 1947, com a ajuda de Kendall e sua equipe, os químicos da Merck desenvolveram um método econômico para sintetizar cortisona (38), revisado em (39). Hench, que

estava esperando há duas décadas a disponibilidade dos corticosteroides para uso clínico, teve a oportunidade de solicitar formalmente o composto. Em 1948, a primeira paciente foi tratada com cortisona e os resultados clínicos dramáticos foram posteriormente duplicados por adrenocorticotrofina (ACTH), sugerindo que este liberasse o cortisol do córtex da glândula adrenal. Em novembro de 1950, a Merck fez a cortisona disponível para os médicos nos Estados Unidos a um preço de US\$ 200 por grama.

G.D. Searle & Company e Upjohn também desenvolveu novos métodos para a produção de corticosteroides, principalmente a hidrocortisona, produzindo corticosteroides disponível para o público em geral por um preço final razoável. Em 1950, o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina foi dado a Philip Hench, Edward Kendall e Tadeus Reichstein pela descoberta da cortisona.

Eicosanoides: prostaglandinas e correlatos.

Em 1957, houve o isolamento das primeiras prostaglandinas (PGs) por Sune Bergstrom e colaboradores. A partir de glândulas vesiculares de ovelhas, foram isoladas as prostaglandinas PGE1 e PGF1. Em 1962, com o advento da técnica de espectrometria de massas, Bergstrom e seu grupo demonstraram que o ácido araquidônico era o precursor das PGs, além de isolar e caracterizar seis PGs e o tromboxano B2 trabalhando no Instituto Karolinska. Em 1963, descobriu-se que PGE1 e PGE2 inibiam os efeitos estimuladores da epinefrina, do glucagon e da corticotrofina sobre a lipólise em tecido adiposo de ratos.

Bengt Samuelsson descobre os leucotrienos em 1976 como metabólitos do ácido araquidônico (leucotrieno A4). Samuelsson também descobriu que alguns leucotrienos contêm cisteína em uma variedade dos sistemas biológicos. Esses mediadores pró-inflamatórios e imunorreguladores (LTB4, LTC4, LTD4 e LTE4) foram nomeados leucotrienos porque foram primeiro identificados em leucócitos (neutrófilos) e apareciam sempre conjugados a um grupo trieno. Os efeitos biológicos dos leucotrienos incluíram efeito broncoconstritor potente, atividades vasoconstritoras e quimiotáticas, bem como efeitos inotrópicos negativos no coração (40, 41). Como os leucotrienos possuem essas diversas ações, eles foram implicados nos processos fisiopatológicos associados às vias aéreas e na anafilaxia.

No final da década de 1960, Sir John Vane começou a pesquisar o papel das prostaglandinas no processo inflamatório nos laboratórios da Wellcome no Reino

Unido. Vane entendeu que o uso de bioensaios poderia distinguir entre compostos fisiologicamente relevantes e metabólitos sem importância biológica. Vane empregou a superfusão em cascata, usando uma combinação de tecidos como o estômago, tiras de cólon de ratos, juntamente com o reto de aves (42). Vane também utilizou tiras de coronária bovina para identificar e quantificar eicosanoides específicos, já que essa preparação contraía na presença de PGE2 e relaxava em resposta a PGI2 (prostaciclina). Vane descobriu que contrações do estômago de ratos provocadas pela serotonina eram abolidas por um antagonista seletivo (metisergida), produzindo deste modo uma preparação mais sensível às prostaglandinas. John Vane foi o descobridor do mecanismo de ação da aspirina: ele hipotetizou que o fluxo sanguíneo pulmonar era regulado por uma distensão do pulmão, após uma descarga de prostaglandinas. Ao realizar experiências para testar esta hipótese, Vane foi surpreendido, descobrindo que a infusão de aspirina em um cão hiperventilado resultava em uma atenuação da resposta hipotensora. A redução da resposta hipotensiva da aspirina foi acompanhada por uma redução na liberação de prostaglandinas. Com base nestas descobertas, Vane não apenas concluiu que a liberação de prostaglandinas é um fator chave na regulação regional do fluxo sanguíneo, como também postulou que a aspirina interferia com a síntese de prostaglandinas (43). A ideia de que as drogas poderiam aliviar a dor inibindo a síntese de prostaglandinas foi apoiada por evidências de que certas prostaglandinas desempenhavam um papel fundamental na percepção da dor. Como as prostaglandinas também participavam da patogênese da inflamação e da febre, tais achados favoreceram a ideia de que a inibição da síntese de prostaglandinas poderia ainda explicar as ações anti-inflamatórias e antipiréticas da aspirina e de drogas relacionadas. Vane descobriu a prostaciclina ou PGI2, como o maior produto do ácido araquidônico no tecido vascular. PGI2 foi considerada um agente hipotensivo eficaz *in vivo* e um dos mais potentes inibidores endógenos da agregação plaquetária (44, 45). Com base na evidência crescente, Vane postulou que a combinação de PGI2 e TXA2 formado nas paredes de vasos sanguíneos controlaria a formação de trombos, regulando o tônus de vasos sanguíneos e a agregação plaquetária *in vivo* (46). Por suas descobertas relacionadas com as prostaglandinas, que pavimentaram o caminho para enormes avanços terapêuticos neste campo, Bergstrom, Samuelson e Vane receberam o Prêmio Nobel em 1982.

A descoberta do sistema opióide endógeno

Hans Kosterlitz, cientista alemão que fugiu do nazismo, é reconhecido como um dos principais pesquisadores na descoberta de endorfinas, sistema de peptídeos gerados pela clivagem da pro-opiomelanocortina (POMC). Ele estimulou eletricamente o ducto deferente de camundongo isolado e registrou suas contrações em polígrafo, revelando que o músculo não se contraía na presença de opiáceos no meio. Descobriu-se que essas contrações eram reiniciadas na presença tanto de opiáceos como de antagonista como a naloxona. Mais tarde, as endorfinas endógenas foram descobertas aplicando homogenato de células cerebrais de porco ao aparelho. Isso causou a cessação das contrações. Kosterlitz propôs a ideia de que a verdadeira função destes receptores não era a sua interação com os alcalóides da papoula, mas com compostos endógenos no sistema nervoso dos animais e do homem. Este conceito desencadeou a procura das encefalinas e possibilitou o acompanhamento eficiente do progresso no isolamento e purificação das encefalinas e da família das endorfinas e dinorfinas. Suas observações foram essenciais para o sucesso da utilização destes modelos para avaliação da ação dos analgésicos narcóticos e posteriormente das encefalinas. O grau em que um agonista opiáceo inibe as contrações do ducto deferente do camundongo, e outros tecidos como o íleo do porquinho-da-índia, é altamente correlacionado à sua potência como analgésico.

John Hughes, neurocientista britânico que participou da descoberta da met-enkefalina e da leu-enkefalina, dos receptores opióides e dos ligantes naturais. Hughes buscava a presença de uma substância endógena semelhante a morfina no doutoramento, e analisou a inervação não-adrenérgica e não-colinérgica de vasos sanguíneos. O curioso é que trocava garrafas de uísque num açougue em troca de toneladas de cabeças de porco, com o objetivo de obter extratos cerebrais usando acetona. Utilizando os ensaios de Kosterlitz, ambos conseguiram isolar e identificar os peptídeos met- e leuencefalina, compostos naturais com atividade semelhante aos opióides, apresentando os dados iniciais em uma conferência científica em maio de 1974 e publicando as estruturas em 1975. Em 1978, eles compartilharam o prêmio Lasker com Solomon H. Snyder (47).

Farmacologia molecular

A pergunta feita por biólogos envolvia a natureza bioquímica dos cromossomos e como a herança seria transmitida: seriam as proteínas responsáveis pela herança genética ou os ácidos nucleicos que transmitiriam tais características hereditárias? Os ácidos nucleicos pareciam improváveis candidatos por serem representados por apenas quatro bases nitrogenadas, enquanto as proteínas representadas por 20 aminoácidos seriam as mais prováveis candidatas na transmissão da herança genética. Com base nos experimentos iniciais de Frederick Griffith (1928), demonstrou-se que essas particularidades poderiam ser, não apenas transmitidas/herdadas, mas transferidas de um indivíduo a outro. Ou seja, a informação sobre as características fenotípicas residia em estruturas celulares, que poderiam ser identificadas.

Oswald Avery, Maclyn McCarty e Colin MacLeod (1944) identificaram o DNA como sendo a molécula responsável por transmitir as características genéticas/fenotípicas de uma cepa a outra de bactérias, utilizando experimentos onde o material genético foi inativado por diferentes classes de enzimas. A partir daí, começa uma busca incansável pela determinação da estrutura da molécula do DNA. A determinação da estrutura de uma molécula muitas vezes nos permite entender o seu funcionamento. E foi exatamente o que correu após a determinação da estrutura do DNA (1954) por James Watson e Francis Crick: passamos a entender como as quatro bases nitrogenadas do DNA se organizavam, e qual é o mecanismo molecular pelo qual ocorre a duplicação do DNA e consequente transferência das características hereditárias de forma semiconservativa.

Em 1962, o Prêmio Nobel de Fisiologia e Medicina foi concedido em conjunto a Francis Crick, James Watson e Maurice Wilkins "por suas descobertas sobre a estrutura molecular dos ácidos nucleicos, e sua importância para a transferência de informações em materiais vivos". Logo em seguida, o prêmio Nobel de Medicina de 1968 foi concedido a Marshall W. Nirenberg, Har Gobind Khorana, e Robert W. Holley, pela "interpretação do código genético e de sua função na síntese de proteínas". Ou seja, como as informações contidas nos cromossomos davam origem às proteínas, que são o maior alvo de fármacos.

Nas décadas seguintes, muitos genes foram identificados e clonados. Foi possível avançar na biotecnologia, produzindo proteínas (alvos farmacológicos como canais iônicos, receptores e enzimas) em sistemas biológicos, que passaram a

permitir o estudo desses alvos de forma isolada em sistemas celulares. Começa uma nova era no entendimento molecular dos seres vivos e das doenças e dos diagnósticos moleculares, por consequência. Na Medicina, imaginou-se que poderíamos em breve entender como as doenças alteram a homeostase, sendo possível realizar diagnósticos precisos e precoces de forma a tratar as doenças com maior eficácia e, assim, melhorar a qualidade de vida, bem como prolongar a vida das pessoas. Com a definição da estrutura do DNA e entendimento do código genético, os biólogos moleculares acreditaram que seria questão de poucas décadas para que pudéssemos entender como funciona a vida, entendermos toda a biologia; hoje, sabemos que não é bem assim, e a cada descoberta tomamos consciência de como a biologia é dinâmica, e muito mais complexa do que sequer imaginamos.

A Biologia molecular proporcionou e continua a proporcionar, avanços importantes na Medicina, tanto no desenvolvimento de diagnósticos como na aplicação terapêutica. No entanto, a Biologia continua apresentando grandes mistérios. Um deles, apresentado inicialmente em 2001, é que as proteínas não atuam sozinhas, mas em complexos de 5 a 70 componentes. Ou seja, embora tenhamos adquirido o conhecimento sobre a estrutura primária de todas as proteínas (considerando que já se conhece praticamente todos os componentes individuais – lipídeos, carboidratos, íons, vitaminas, aminoácidos), a necessidade no momento é de conhecer a organização desses complexos. Um dos entendimentos adicionais é que esses complexos são dinâmicos e podem se formar e se desfazer com diferentes componentes, dependendo do estímulo ou momento celular. No momento, nos deparamos com uma nova realidade sobre o funcionamento dos seres vivos: conhecer todo o genoma humano não basta para o entendimento da biologia, pois as proteínas não funcionam de forma isolada, mas em conjuntos dinâmicos e complexos (48).

Num mundo onde se busca a medicina personalizada, um gráfico composto por drogas e proteínas aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA, agência regulatória dos EUA que corresponde à ANVISA brasileira), conecta por associações binárias drogas alvo. A rede resultante conecta a maioria das drogas em um componente gigante altamente interligado, com forte aglomeração local de drogas de tipos similares. Análises topológicas desta rede mostraram quantitativamente uma superabundância de drogas de "follow-on", isto é, drogas que visam proteínas já conhecidas. Na busca por fármacos seletivos Santos R et al., 2017 mostrou que 1.578 drogas aprovadas pela

FDA estadunidenses agem, num total de 893 alvos humanos e de patógenos (49). Esses alvos moleculares incluem 667 proteínas derivadas do genoma humano, e a análise indica o domínio de famílias-alvo privilegiadas; há um crescimento de novos fármacos particularmente na oncologia. Esses dados se baseiam na visão do renomado cientista James Black onde a melhor maneira de se descobrir uma nova droga é começar com uma antiga. Uma conclusão que se pode fazer é que de um total de 30.000 proteínas do genoma humano, apenas 667 (~2%) são considerados alvos farmacológicos.

No entanto, empresas biotecnológicas procuram resolver esse problema realizando o “reposicionamento” de medicamentos existentes para novas indicações terapêuticas. Uma quantidade de empresas está utilizando big data para reposicionar candidatos com aumento de sucesso no reposicionamento. Nesses casos, em geral ocorre uma avaliação *in silico* do reposicionamento de fármacos com base na homologia estrutural dos alvos, assim como no conhecimento do mecanismo da doença. Como exemplo, temos o medicamento “galantamina”, utilizado originalmente na década de 60 para o tratamento da paralisia muscular (poliomielite), e atualmente para tratar a demência de Alzheimer, de intensidade leve a moderada, com ou sem doença vascular cerebral relevante.

Em conclusão, é possível sugerir que nas próximas décadas a farmacologia terapêutica se interessará por fármacos que regulam a formação de complexos proteicos, assim como no reposicionamento de fármacos já existentes para uso em novas doenças. O uso de big data para construção de novos fármacos também deve ganhar espaço. Com uma certeza, a farmacologia é uma ciência que está sempre em desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

1. Rubin RP. A brief history of great discoveries in pharmacology: in celebration of the centennial anniversary of the founding of the American Society of Pharmacology and Experimental Therapeutics. *Pharmacological reviews*. 2007;59(4):289-359.
2. Dudley R. Ethanol, fruit ripening, and the historical origins of human alcoholism in primate frugivory. *Integr Comp Biol*. 2004;44(4):315-23.

3. Crocq MA. History of cannabis and the endocannabinoid system. *Dialogues Clin Neurosci*. 2020;22(3):223-8.
4. Cohen MM. The history of opium and the opiates. *Tex Med*. 1969;65(1):76-85.
5. Jones AW. Early drug discovery and the rise of pharmaceutical chemistry. *Drug Test Anal*. 2011;3(6):337-44.
6. Lüllmann H, Hein L, Mohr K, Wirth J, Bieger D. *Color Atlas of Pharmacology*: Thieme; 2011.
7. Guttman P, Ehrlich P. Ueber die wirkung des methylenblau bei malaria. *The Collected Papers of Paul Ehrlich*: Elsevier; 1960. p. 9-14.
8. Home WE. EHRlich-HATA " 606.". *The Lancet*. 1910;176(4545):1096-9.
9. Warner VD, Soloway AH. Infections caused by resistant organisms: Could organic arsenic compounds be an effective treatment? *Med Hypotheses*. 2017;104:78-9.
10. Valent P, Groner B, Schumacher U, Superti-Furga G, Busslinger M, Kralovics R, et al. Paul Ehrlich (1854-1915) and His Contributions to the Foundation and Birth of Translational Medicine. *J Innate Immun*. 2016;8(2):111-20.
11. Wainwright M, Kristiansen JE. On the 75th anniversary of Prontosil. *Dyes and Pigments*. 2011;88(3):231-4.
12. Sir Ernst Chain. *Br Med J*. 1979;2(6188):505.
13. Schatz A, Bugie E, Waksman SA. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against grampositive and gram-negative bacteria. 1944. *Clin Orthop Relat Res*. 2005(437):3-6.
14. Waksman SA, Lechevalier HA. Neomycin, a New Antibiotic Active against Streptomycin-Resistant Bacteria, including Tuberculosis Organisms. *Science*. 1949;109(2830):305-7.
15. Waksman SA, Woodruff HB. The Soil as a Source of Microorganisms Antagonistic to Disease-Producing Bacteria. *J Bacteriol*. 1940;40(4):581-600.
16. Singer SJ, Nicolson GL. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*. 1972;175(4023):720-31.

17. Maehle AH. "Receptive substances": John Newport Langley (1852-1925) and his path to a receptor theory of drug action. *Med Hist.* 2004;48(2):153-74.
18. Barcroft H, Talbot JF. Oliver and Schäfer's discovery of the cardiovascular action of suprarenal extract. *Postgrad Med J.* 1968;44(507):6-8.
19. Ball CM, Featherstone PJ. The early history of adrenaline. *Anaesth Intensive Care.* 2017;45(3):279-81.
20. Karczmar AG. The Otto Loewi Lecture. Loewi's discovery and the XXI century. *Prog Brain Res.* 1996;109:1-27, xvii.
21. Calne RY. The rejection of renal homografts. Inhibition in dogs by 6-mercaptopurine. *Lancet.* 1960;1(7121):417-8.
22. US VE, Gaddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *The Journal of physiology.* 1931;72(1):74-87.
23. Axelrod J, Tomchick R. Activation and inhibition of adrenaline metabolism. *Nature.* 1959;184(Suppl 26):2027.
24. Katz B, Miledi R. The role of calcium in neuromuscular facilitation. *The Journal of physiology.* 1968;195(2):481-92.
25. Mering JV, Minkowski O. *Arch Exp Pathol Pharmacol.* 1889;27.
26. Rall TW, Sutherland EW. Formation of a cyclic adenine ribonucleotide by tissue particles. *The Journal of biological chemistry.* 1958;232(2):1065-76.
27. Sutherland EW, Rall TW. Fractionation and characterization of a cyclic adenine ribonucleotide formed by tissue particles. *The Journal of biological chemistry.* 1958;232(2):1077-91.
28. Walsh DA, Perkins JP, Krebs EG. An adenosine 3',5'-monophosphate-dependant protein kinase from rabbit skeletal muscle. *The Journal of biological chemistry.* 1968;243(13):3763-5.
29. Ross EM, Gilman AG. Resolution of some components of adenylate cyclase necessary for catalytic activity. *The Journal of biological chemistry.* 1977;252(20):6966-9.
30. Howlett AC, Sternweis PC, Macik BA, Van Arsdale PM, Gilman AG. Reconstitution of catecholamine-sensitive adenylate cyclase. Association of a regulatory component of the enzyme with membranes containing the catalytic protein and beta-adrenergic receptors. *The Journal of biological chemistry.* 1979;254(7):2287-95.
31. Ross EM, Howlett AC, Ferguson KM, Gilman AG. Reconstitution of hormone-sensitive adenylate cyclase activity with resolved components of the enzyme. *The Journal of biological chemistry.* 1978;253(18):6401-12.
32. Northup JK, Sternweis PC, Gilman AG. The subunits of the stimulatory regulatory component of adenylate cyclase. Resolution, activity, and properties of the 35,000-dalton (beta) subunit. *The Journal of biological chemistry.* 1983;258(18):11361-8.
33. Sternweis PC, Gilman AG. Reconstitution of catecholamine-sensitive adenylate cyclase. Reconstitution of the uncoupled variant of the S40 lymphoma cell. *The Journal of biological chemistry.* 1979;254(9):3333-40.
34. Furchgott RF, Bhadrakom S. Reactions of strips of rabbit aorta to epinephrine, isopropylarterenol, sodium nitrite and other drugs. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 1953;108(2):129-43.
35. Furchgott RF. Endothelium-derived relaxing factor: discovery, early studies, and identification as nitric oxide. *Bioscience reports.* 1999;19(4):235-51.
36. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature.* 1980;288(5789):373-6.
37. Cherry PD, Furchgott RF, Zawadzki JV, Jothianandan D. Role of endothelial cells in relaxation of isolated arteries by bradykinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1982;79(6):2106-10.
38. *Journal of Biological Chemistry.* 1946. p. 601.
39. Hillier SG. Diamonds are forever: the cortisone legacy. *Journal of Endocrinology.* 2007;195(1):1-6.
40. Borgeat P, Samuelsson B. Transformation of arachidonic acid by rabbit polymorphonuclear leukocytes. Formation of a novel dihydroxyeicosatetraenoic acid. *Journal of Biological Chemistry.* 1979;254(8):2643-6.

41. Samuelsson B, Hammarström S. Nomenclature for leukotrienes. Prostaglandins. 1980;19(5):645-8.
42. Vane JR. The use of isolated organs for detecting active substances in the circulating blood. 1964. Br J Pharmacol. 1997;120(4 Suppl):250-63; discussion 48-9.
43. Piper PJ, Vane JR. Release of additional factors in anaphylaxis and its antagonism by anti-inflammatory drugs. Nature. 1969;223(5201):29-35.
44. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. Nature. 1976;263(5579):663-5.
45. Moncada S, Higgs EA, Vane JR. Human arterial and venous tissues generate prostacyclin (prostaglandin x), a potent inhibitor of platelet aggregation. Lancet. 1977;1(8001):18-20.
46. Dyerberg J, Bang HO, Stoffersen E, Moncada S, Vane JR. Eicosapentaenoic acid and prevention of thrombosis and atherosclerosis? Lancet. 1978;2(8081):117-9.
47. Kosterlitz HW, Hughes J. Opiate receptors and endogenous opioid peptides in tolerance and dependence. Adv Exp Med Biol. 1977;85b:141-54.
48. Luck K, Kim DK, Lambourne L, Spirohn K, Begg BE, Bian W, et al. A reference map of the human binary protein interactome. Nature. 2020;580(7803):402-8.
49. Santos R, Ursu O, Gaulton A, Bento AP, Donadi RS, Bologa CG, et al. A comprehensive map of molecular drug targets. Nature reviews Drug discovery. 2017;16(1):19-34.

FINANCIAMENTO

Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)
 Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)
 Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)
 Instituto Nacional de Neurociência Translacional (INNT)

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores deste artigo, declaram não possuir conflitos de interesse de ordem pessoal, financeira, comercial, política ou acadêmica, relacionados a produção e elaboração dos conteúdos e pesquisas de sua autoria, aqui apresentados.

AUTORES

1 Professor titular da Universidade de São Paulo (USP), Instituto de Ciências Biomédicas, Departamento de Farmacologia
 Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Molecular) pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

2 Professor Associado da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)
 Doutor em Ciências Biológicas (Biofísica) pelo Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), Universidade Federal do Rio de Janeiro
 Laboratório de Neuroquímica IBCCF UFRJ

3 Doutor em Ciências Biológicas (Biofísica) pelo Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)
 Laboratório de Erros Inatos do Metabolismo, Instituto de Bioquímica Médica Leopoldo de Meis (IBqM), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

Artigo aceito em 13 de setembro de 2024.