



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Mariana Almeida de Vilhena e Silva Pontes

Relatórios de Estágio sob orientação do Dr. Raúl Almeida e Dr. Arnaldo Gomes e Monografia intitulada “As Potencialidades Medicinais dos Líquenes” sob a orientação da Professora Doutora Lígia Salgueiro Couto referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2023



UNIVERSIDADE D COIMBRA

Mariana Almeida de Vilhena e Silva Pontes

Relatórios de Estágio sob orientação do Dr. Raúl Almeida e Dr. Arnaldo Gomes e Monografia intitulada “As Potencialidades Medicinais dos Líquenes” sob a orientação da Professora Doutora Lígia Salgueiro Couto referentes à Unidade Curricular “Estágio”, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2023

Eu, Mariana Almeida de Vilhena e Silva Pontes, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2018283087, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “As Potencialidades Medicinais dos Líquenes” apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 7 de Setembro de 2023

Mariana Almeida de Vilhena e Silva Pontes

Mariana Almeida de Vilhena e Silva Pontes

Agradecimentos

À minha família pelo apoio incessante, pela confiança que depositaram em mim e pelo amor que sempre me demonstraram. Acima de tudo, pelo esforço que fizeram para tornar isto possível. Sem vocês, não estaria onde estou hoje. Dedico-vos esta monografia.

À minha avó pelo carinho constante, pelos conselhos e pela pureza de alma. Serás sempre como uma mãe para mim.

Aos meus avôs e avó, por todos os conselhos, amor e memórias. Sei que estariam orgulhosos de mim.

À Fifi que foi das melhores coisas que me aconteceu. Nunca me esquecerei dos 16 anos que vivemos juntas. Obrigada por teres sido a minha melhor companhia.

Aos meus amigos, pelos incentivos, acompanhamento e cumplicidade. À Kika e à Joana por serem as minhas melhores amigas. Obrigada por me terem acompanhado nesta etapa e me terem ajudado nos meus piores momentos. Para sempre o melhor trio.

À Professora Doutora Lígia Salgueiro Couto, pela disponibilidade e dedicação e por todas as correções, sugestões e ajuda prestadas ao longo da realização da minha monografia, motivos pelos quais presto o meu sincero agradecimento.

À Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra pelo percurso que me proporcionou.

A Coimbra que me viu crescer, desde pequenina a agora como futura farmacêutica. Levar-te-ei para sempre no meu coração.

Por fim, agradeço a todas as pessoas que, de alguma maneira, contribuíram para este percurso.

Índice

PARTE I - Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas.....	7
1. Introdução.....	8
2. Análise SWOT.....	8
2.1 Pontos Fortes (<i>Strengths</i>).....	8
2.1.1 Preparação Individualizada da Medicação (PIM).....	8
2.1.2 Farmácia domiciliária.....	9
2.1.3 Localização e acessos.....	9
2.2 Pontos Fracos (<i>Weaknesses</i>).....	9
2.2.1 Preparação de Manipulados.....	9
2.2.2 Produtos médico-veterinários.....	10
2.3 Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	10
2.3.1 Diversidade de Atendimentos.....	10
2.3.2 Horário alargado.....	10
2.4 Ameaças (<i>Threats</i>).....	11
2.4.1 Medicamentos esgotados.....	11
2.4.2 Erros no <i>stock</i>	11
3. Casos Práticos.....	11
4. Considerações Finais.....	14
5. Referências Bibliográficas.....	15

PARTE II - Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica

1. Introdução.....	18
2. Análise SWOT.....	18
2.1. Pontos fortes (<i>Strengths</i>).....	18
2.1.1. Integração.....	18
2.1.2. Experiência adquirida.....	19
2.2. Pontos fracos (<i>Weaknesses</i>).....	19
2.2.1. Desorganização inicial de estágio.....	19
2.2.2. Duração do estágio.....	19
2.3. Oportunidades (<i>Opportunities</i>).....	19
2.3.1. Conhecimento de 2 unidades distintas.....	19
2.4. Ameaças (<i>Threats</i>).....	20
2.4.1 Falta de disponibilidade dos orientadores.....	20
3. Considerações Finais.....	20
4. Referências Bibliográficas.....	21

PARTE III - Monografia - As potencialidades dos Líquenes

1. Introdução.....	26
2. Líquenes: o que são?.....	26
2.1 Definição	28
2.2 Estrutura, morfologia e reprodução	28
2.3 Relação simbiótica.....	29
2.4 Habitats e adaptabilidade	29
3. Importância dos líquenes.....	29
3.1 Papel ecológico	29
3.2 Uso na medicina tradicional.....	30
3.3 Uso contemporâneo.....	30
4. Compostos bioativos.....	31
4.1 Principais classes.....	31
4.2 Funções.....	32
5. Atividades farmacológicas.....	32
5.1 Atividade antimicrobiana	32
5.2 Atividade antioxidante.....	33
5.3 Atividade anti-inflamatória.....	34
5.4 Atividade antitumoral/ anticancerígena	35
5.5 Outras atividades farmacológicas relevantes	36
6. Estudos de caso: líquenes com potencial terapêutico.....	38
6.1 <i>Lobaria pulmonaria</i>	38
6.2 <i>Cetraria islandica</i>	39
6.3 <i>Usnea barbata</i>	42
7. Aplicações potenciais dos líquenes na medicina.....	44
7.1 Desenvolvimento de novos fármacos a partir de compostos liquênicos	44
7.2 Potencial terapêutico em doenças específicas	46
8. Conclusão.....	49
9. Referências Bibliográficas.....	51

PARTE I

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Santa Ana



Lista de Abreviaturas

FFUC: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

FSA: Farmácia Santa Ana

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM: Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

PIM: Preparação Individualizada da Medicação

SWOT: Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats

I. Introdução

O presente relatório de estágio foi elaborado no âmbito da unidade Estágio Curricular, integrado no plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC). O meu estágio teve lugar na Farmácia Santa Ana, localizada na Figueira da Foz, com uma duração de 4 meses e no qual tive a oportunidade de integrar uma equipa excepcional, sob a orientação de Dr. Raul Almeida.

O Mestrado em Ciências Farmacêuticas é um curso universitário que permite adquirir conhecimentos acerca da ciência e tecnologia envolvidas no desenvolvimento de medicamentos. Dado o seu amplo plano de estudos, este mestrado abrange uma grande diversidade de áreas nas quais se destacam, particularmente, farmacologia, tecnologia farmacêutica, farmacocinética e assuntos regulamentares. A adaptabilidade e versatilidade de que MICF dispõe, concede aos finalistas a flexibilidade de explorar diferentes oportunidades profissionais e ter um impacto significativo nos vários setores da área farmacêutica. Desta forma, MICF proporciona uma formação polivalente e, por conseguinte, inúmeras oportunidades de carreira e crescimento profissional.

Ao integrar um estágio curricular em Farmácia Comunitária, foi-me possível consolidar e aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos, como também ganhar experiência ao observar, aprender e participar no ambiente de trabalho de uma farmácia comunitária, constituindo assim o meu primeiro contacto real com a profissão farmacêutica.

O presente relatório foi desenvolvido sob a forma de análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*), na qual será feita uma análise do ambiente interno, onde estão incluídos os pontos fortes e fracos, e a análise do ambiente externo, onde serão identificadas as ameaças e oportunidades. Assim, este relatório será uma análise crítica ao estágio e da sua integração no plano curricular do curso, sem deixar de parte as atividades desenvolvidas na farmácia.

2. Análise SWOT

2.1 Pontos Fortes (Strengths)

2.1.1 Preparação Individualizada da Medicação (PIM)

A Preparação Individualizada da Medicação (PIM) define-se como “o serviço a partir do qual o farmacêutico organiza as formas farmacêuticas sólidas, para uso oral, de acordo com a posologia prescrita, por exemplo, em um dispositivo de múltiplos compartimentos (ou em fita organizada por toma em alvéolos), selado de forma estanque na farmácia e descartado após a sua utilização.”^[1]

Desta forma, a FSA contribui diretamente para a redução de erros de administração da medicação prescrita, facilidade e comodidade de toma, melhorando assim a adesão à terapêutica e a segurança e, de certa forma, auxilia também nos cuidados prestados aos doentes pelos seus cuidadores, no caso de utentes institucionalizados.

Este serviço é direcionado principalmente a doentes crónicos e pessoas idosas, polimedicados e de uso continuado que não tenham capacidade de gerir a sua medicação, sinalizados pelo seu médico de família ou enfermeiro da unidade de saúde ou até pelo próprio farmacêutico da sua farmácia habitual.

2.1.2 Farmácia domiciliária

O atendimento ao domicílio consiste num serviço de atenção farmacêutica disponibilizado pela farmácia na residência do próprio utente, nomeadamente para entrega da medicação e/ou serviços de manuseamento de medicação. Ao estar localizada numa zona rural habitada predominantemente por população idosa, este serviço torna-se imperativo na medida em que grande parte dos habitantes demonstra dificuldades de locomoção e, conseqüentemente, problemas em deslocar-se à farmácia. Ao disponibilizar esta possibilidade, a Farmácia consegue superar estas adversidades ao levar os seus serviços até aos utentes, chegando assim a todos sem exceção.

2.1.3 Localização e acessos

A localização de uma farmácia é um fator importante que impactua de forma significativa o seu sucesso. Tendo isto em consideração, a FSA localiza-se numa das ruas mais movimentadas da zona de Santana, à beira da estrada, estando assim inserida numa área estratégica e conveniente para os utentes, disponibilizando parque de estacionamento próprio, e, desta forma, assegura uma vasta diversidade de clientes. Outros aspetos que contribuem para o sucesso da FSA é o facto de estar estabelecida nas proximidades de uma unidade de saúde e apresentar uma rampa que permite maior acessibilidade a pessoas com dificuldades de locomoção e/ou de cadeira de rodas.

2.2 Pontos Fracos (Weaknesses)

2.2.1 Preparação de Manipulados

Um medicamento manipulado tem por definição “qualquer fórmula magistral ou preparado oficial preparado e dispensado sob a responsabilidade de um farmacêutico”^[2]. Estes medicamentos são preparados no laboratório da farmácia, sendo o farmacêutico responsável pela sua preparação, acondicionamento, rotulagem e controlo de qualidade. A manipulação de

medicamentos surge como oportuna quando existe “a necessidade de adaptar a terapêutica medicamentosa de um determinado utente nos casos em que não exista disponível no mercado alternativa que satisfaça os requisitos face a: substância ativa ou combinação de substâncias ativas, dose adaptada à indicação terapêutica e características metabólicas do utente, intolerância a um ou mais dos componentes da fórmula industrial, forma farmacêutica viável, ou adesão à terapêutica” [3]. Apesar deste estágio constituir uma experiência enriquecedora e valiosa para o desenvolvimento profissional, foram poucas as oportunidades que tive para explorar extensivamente a preparação de manipulados.

2.2.2 Produtos médico-veterinários

É importante notar que, apesar de MICF facultar uma formação extensiva em redor da ciência farmacêutica, não dedica muita atenção a medicamentos veterinários. Este curso é essencialmente “desenhado” para equipar os futuros profissionais com conhecimento e *skills* relacionados com a saúde humana. Embora possa haver sobreposição de determinadas áreas, a medicina veterinária é um campo da saúde especializado que requer uma formação e *expertise* específicas, abordando os aspetos únicos da saúde e fisiologia animais. Desta forma, contemplar somente uma cadeira dedicada a produtos veterinários no plano de estudos demonstra-se insuficiente para compreender e aconselhar esta categoria. Por consequência, aquando de alguns atendimentos, experienciei dificuldades na sua recomendação, tendo tido necessidade de pedir ajuda à equipa que prontamente me auxiliou em momentos de dúvida.

2.3 Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1 Diversidade de Atendimentos

Apesar de estar inserida numa área rural, a localização e a elevada afluência da FSA permitiram-me ter contacto com uma enorme diversidade de utentes de várias situações socioeconómicas e com necessidades variadas o que me obrigou a adotar diferentes abordagens. Esta pluralidade de clientes fez com que o meu estágio fosse extremamente completo e sobretudo desafiante, proporcionando assim uma melhor preparação para futuras situações e realidades. Por outro lado, as horas de maior afluência exigiram um atendimento íntegro no menor tempo possível puxando pela minha capacidade de atenção e rápida resolução.

2.3.2 Horário alargado

A FSA tem um horário de funcionamento bastante alargado, estando aberta das 9h até às 21h perfazendo sendo que aos domingos opera das 9h até às 13h. Desta forma, consegui

vivenciar os diferentes ambientes e ritmos de trabalho ao longo do meu estágio. Contudo, era nas horas de menor afluência que conseguia fazer atendimentos mais pormenorizados e estabelecer uma melhor relação com o utente. Era também nestes períodos que aproveitava para aprofundar o meu conhecimento e esclarecer dúvidas/ preocupações com a equipa.

2.4 Ameaças (*Threats*)

2.4.1 Medicamentos esgotados

Os medicamentos fora de *stock* estão a tornar-se um problema cada vez mais recorrente, dificultando os esforços das farmácias em dispensar a medicação em tempo útil. Infelizmente, a FSA não foi exceção. Durante o meu estágio, foram várias as vezes que, juntamente com a equipa técnica, tive de lidar com a frustrante situação que os medicamentos esgotados representam. A falta de medicamentos considerados essenciais levou a atrasos no cumprimento de prescrições, quer por ausência de alternativas quer por insistência dos utentes em não mudar para outras opções. Como resultado, a FSA aplicou um plano de reservas, organizadas cronologicamente, com os dados do utente, por forma a fazer uma melhor gestão das ínfimas quantidades disponíveis.

2.4.2 Erros no *stock*

Ao longo do meu estágio, identifiquei algumas situações em que o *stock* informático não coincidia com o *stock* físico. Ao presenciar tais momentos, tive a oportunidade de vivenciar como estes erros afetam as operações diárias e a qualidade dos serviços prestados aos utentes. Apesar de desafiante, a FSA mostrou sempre bastante profissionalismo em lidar com estes constrangimentos.

3. Casos Práticos

CASO I

Um homem entre os 50 e os 60 anos, queixa-se de ter diarreia e tosse seca há 4 dias que o tem andado a incomodar bastante. Afirmo ter tomado Imodium® (loperamida 2mg) e que sentiu alívio imediato. De imediato, fiz algumas questões ao utente nomeadamente se ingeriu algum alimento fora do habitual/ fora de validade, se iniciou recentemente alguma medicação nova (antibióticos p.e.) ou se esteve em contacto com alguém que apresentasse o mesmo quadro clínico e que, desta forma, lhe pudesse ter transmitido uma virose ao qual me respondeu que não a todas as questões. Assim, foi aconselhado a cessar a toma da loperamida uma vez que a diarreia é um mecanismo de defesa pelo que não deve ser interrompido. Por

outro lado, ao tomar este medicamento, o utente acaba por atrasar a sua própria recuperação. Desta forma, para a diarreia foi aconselhado Biofast® (complexo de probióticos, prebióticos e vitaminas) 1 saqueta 1 i.d. durante 8 dias e Lacteol 5000® (Lactobacilos) 2 comprimidos 3 i.d. durante 1 dia e depois 1 comprimido 3 i.d. até a diarreia parar, ambos com o objetivo de repor a flora intestinal e, desta forma, acelerar a recuperação do utente. Para a tosse seca, dispensou-se Tussis Terapharma® o qual contém Hortelã-Pimenta e o Tomilho que vão ter uma ação antitússica, Líquen-da-Islândia que tem uma ação calmante, Alcaçuz que diminui a tosse e Mel que humedece as vias aéreas e acalma a tosse 5ml 2 a 3 i.d. Como medidas não farmacológicas, foi aconselhado a aumentar a ingestão de líquidos uma vez que, ao ter diarreia, apresenta um maior risco de desenvolver um quadro de desidratação (principal complicação da diarreia aguda) e também a evitar comidas ricas em gorduras.

CASO II

Senhor com cerca de 70 anos com historial de hemorroidas. Queixa-se de presença de sangue, fezes duras e dificuldade defecatória e pede uma pomada para aliviar as hemorroidas. Foi dispensada a pomada Faktu® (policresuleno 50mg/g e cloridrato de cinchocaína 10mg/g) a ser aplicada de manhã e à noite sobre as lesões para alívio da dor, prurido, exsudação, hemorragia e inflamação ao mesmo tempo que promove a regeneração do tecido afetado e DulcoSoft (macrogol) saquetas para amolecer as fezes 1 i.d. antes do pequeno-almoço e, se necessário, uma também antes de jantar num copo de água morna. Como medidas não farmacológicas, foi aconselhado a ingerir mais líquidos, a evitar esforço defecatório, manter bons hábitos defecatórios (ir à casa de banho quando der vontade e não adiar) e após cada ida à casa de banho, a fazer uma lavagem suave com água fria e sabão. Foi também informado de que, se não sentir alívio ou melhora, para se dirigir ao seu médico.

CASO III

Mulher com cerca de 60 anos desloca-se à FSA e pede aconselhamento farmacêutico. Afirma que há cerca de 3 dias tem tido dificuldade em defecar, com fezes duras e sensação de evacuação completa, o que não é habitual. Perante esta situação, questionei a utente se tinha algum problema de saúde ou se tem alguma medicação implementada, respondendo que não a ambas as questões. Primeiramente, informei a utente de algumas medidas não farmacológicas que poderia adotar nomeadamente o aumento de ingestão de água, preferencialmente 1 a 2 litros de água por dia e de ingestão de fibras bem como a prática de exercício físico. Também foi indicada a não usar roupas apertadas e a não ignorar o seu reflexo de defecação, indo à casa de banho assim que possível. Posteriormente, aconselhei a toma de Dulcolax® 5mg

comprimidos revestidos, cujo princípio ativo é o bisacodilo, um laxante de contacto que atua ao aumentar a secreção de água e eletrólitos pela mucosa intestinal e pela estimulação dos movimentos intestinais. Uma vez que a sua ação laxante se manifesta ao fim de 8-12 horas após a ingestão, a utente foi indicada a tomar um comprimido ao deitar por forma a que o efeito se manifestasse no dia seguinte de manhã. Foi também advertida a tomar apenas em situações de crise e pontuais dada a ação potente do princípio ativo em questão.

CASO IV

Mulher com cerca de 30 anos afirma que vai fazer uma viagem e que precisa de algo para os enjoos que costuma sentir durante viagens longas. Perguntei se a utente costuma tomar algum produto para o alívio das náuseas ao que afirma que sim, que já tomou Vomidrine® (50 mg de dimenidrinato) e que se deu bem com o medicamento. Também foi perguntado se a utente tomava alguma medicação e/ou se tinha alguma patologia ao qual respondeu que não. Desta forma, dispensei Vomidrine® a tomar 1 a 2 comprimidos 30 minutos antes de fazer a viagem e, se fosse necessário, repetir passadas 4 a 6 horas. Foi alertada para a possibilidade de sentir sonolência e tonturas pelo que deve evitar conduzir bem como ingerir álcool e também possível secura da boca e dos olhos, contudo estes últimos efeitos secundários são menos prováveis uma vez que se manifestam sobretudo com uma toma crónica e a longo prazo. Como medida não farmacológica, a utente foi aconselhada a abster-se de comer alimentos gordos e líquidos em excesso, algumas horas antes da viagem.

CASO V

Uma utente, de aproximadamente 30 anos, procurou a FS em busca de aconselhamento na prevenção do agravamento de uma infeção urinária. A mesma relatou sintomas leves e um ardor ao urinar ligeiro, tendo um historial de infeções do trato urinário (ITUs). Neste sentido, recomendei a realização do UriTest®, um teste de urina que permite confirmar a presença de uma ITU. Por forma a abordar o problema recorrente, aconselhei a toma de um suplemento alimentar contendo arando vermelho, D-manose e vitamina C, com o objetivo de prevenir eventuais reinfecções. Além disso, informei a utente de medidas não farmacológicas que podia adotar, nomeadamente a importância de manter uma hidratação adequada por forma a promover a diurese, evitar não urinar por longos períodos de tempo, adotar uma higiene íntima adequada e evitar o uso de roupas com tecidos sintéticos e/ou muito apertadas. Foi também aconselhada, em caso de agravamento da sintomatologia, a se dirigir ao seu médico.

4. Considerações finais

A minha experiência em farmácia comunitária foi certamente transformadora, fomentando o meu crescimento quer profissional quer pessoal. Ao longo deste estágio, pude estabelecer contacto com diversos utentes com diferentes *backgrounds*, envolvendo-me diretamente no seu aconselhamento e presenciei o inegável impacto que nós, farmacêuticos, temos na promoção da saúde e bem-estar. Esta experiência não só aprimorou o meu conhecimento e capacidades na prática farmacêutica como também me mostrou a importância de uma comunicação eficiente e, acima de tudo, da empatia. Este estágio não só me preparou para a minha carreira profissional, mas também me permitiu crescer enquanto pessoa, tornando-me mais resiliente e confiante nas minhas competências. Com este estágio conclui que, como farmacêuticos, ano após ano, superamos inúmeros desafios, mas nunca perdemos a nossa capacidade de cuidar do próximo e de servir a comunidade, sempre em busca do bem-estar coletivo.

5. Referências bibliográficas

1. INFARMED - Normas Infarmed Medicamentos Manipulados. [s.d.].
2. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Norma Geral Preparação Individualizada da Medicação (PIM)**
3. ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Norma específica sobre manipulação de medicamentos**

PARTE II

Relatório de Estágio em Indústria Farmacêutica **Laboratórios Basi**



Lista de Abreviaturas

FFUC: Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

IGV: Injetáveis de grande volume

IJM: Injetáveis

IPV: Injetáveis de pequeno volume

LSM: Líquidos e semissólidos

MICF: Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

SWOT: *Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*

I. Introdução

A conclusão do programa de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) abre portas para a realização de estágios em diversas áreas das ciências farmacêuticas. Entre elas, destaca-se a oportunidade de estagiar na indústria farmacêutica, que proporciona uma experiência única na rotina de uma empresa farmacêutica e oferece uma visão aprofundada do papel desempenhado pelos farmacêuticos neste contexto.

Há mais de cinquenta anos em operação, sediados na zona industrial de Mortágua, os Laboratórios BASI destacam-se pela sua flexibilidade, inovação, competitividade e eficiência, sendo reconhecidos como uma referência europeia^[1].

O meu estágio teve a duração de três meses e foi realizado no departamento da Produção na unidade de Injetáveis (IJM), sob a orientação da Dra. Marisa Lopes e na unidade de Líquidos e Semissólidos (LSM), sob a orientação do Dr. Álvaro Bastos.

Este relatório apresenta uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities e Threats*) do meu estágio nos Laboratórios Basi.

2. Análise SWOT

2.1. Pontos fortes (*Strengths*)

2.1.1. Integração

A unidade de produção de IJM e LSM envolvem várias equipas com diferentes formações e experiências, nos quais se incluem os operadores (especialistas em procedimentos técnicos); os supervisores (organizam as equipas e resolvem problemas diários); o suporte técnico (responsável pela documentação necessária para a produção) e, por fim, o/a responsável pelo fabrico que possui profundo conhecimento técnico-científico e é responsável por delegar funções, otimizar procedimentos e tomar decisões diante de dificuldades.

Esta equipa, na qual fui incorporada durante o meu estágio, demonstrou um compromisso imediato em apresentar-me as instalações, envolver-me nos diversos processos e partilhar os seus conhecimentos e experiências. Este ambiente empático e colaborativo concedeu-me autonomia e confiança essenciais para desempenhar minhas funções e progredir no meu desenvolvimento profissional.

2.1.2. Experiência adquirida

A necessidade de familiarização com terminologias, equipamentos e processos se tornou evidente ao lidar com uma escala industrial, onde todos os detalhes ganham importância. Participar diretamente nos procedimentos em conjunto com operadores especializados não apenas me permitiu aprender técnicas específicas, mas também identificar as principais dificuldades que surgem durante a execução. Deste modo, a prática na unidade de IJM e LSM possibilitou-me a aplicação e aquisição ativa de conhecimentos e competências.

2.2. Pontos fracos (*Weaknesses*)

2.2.1. Desorganização inicial de estágio

Apesar de ter sido uma experiência enriquecedora, houve algumas falhas na integração dos estagiários a começar pelo acesso aos balneários e à própria unidade de IJM aos quais, durante todo o meu estágio, não pude entrar autonomamente, apenas com o cartão de operadores, resultando em perdas de tempo útil e atrasos. Apesar de comunicar este problema, não houve alteração da situação. Por outro lado, houve uma certa demora na obtenção de calçado próprio para aceder às instalações e código de utilizador necessário para o registo no sistema informático da cantina, tendo de pedir o mesmo aquando do meu almoço diariamente.

2.2.2. Duração do estágio

Tratando-se de uma área complexa e marcada pela constante inovação de produtos farmacêuticos e respetivos procedimentos, a duração do estágio (3 meses) mostrou-se insuficiente para acompanhar a constante mudança. Por outro lado, a divisão do estágio em duas unidades de produção distintas dificultou-me a aprendizagem na íntegra de cada unidade, tendo apenas me permitido ficar com uma ideia generalizada.

2.3. Oportunidades (*Opportunities*)

2.3.1. Conhecimento de 2 unidades distintas

O departamento de Produção compreende duas unidades industriais: a unidade de produção de Líquidos e Semissólidos (LSM) e a unidade de produção de Injetáveis (IJM). A primeira possui autorização para fabricar diversas formas farmacêuticas, incluindo xaropes, soluções orais, suspensões orais, soluções cutâneas, géis, cremes, pomadas e enemas. Por outro lado, a unidade de IJM, estabelecida em 2017, é autorizada a fabricar tanto injetáveis de pequeno volume (IPV) quanto de grande volume (IGV). No meu estágio, tive a oportunidade de conhecer as 2 unidades, por igual período de tempo. Desta forma, consegui observar a

aplicação dos procedimentos característicos de cada unidade e os múltiplos desafios que ambas enfrentam diariamente.

2.4. Ameaças (*Threats*)

2.4.1 Falta de disponibilidade dos orientadores

Atendendo à elevada exigência e rigor que uma indústria farmacêutica requer, é compreensível as faltas de disponibilidade momentâneas por parte dos orientadores, os quais assumem grandes responsabilidades ao garantirem o bom funcionamento da produção. Contudo, considero que as mesmas impactaram o meu estágio, estagnando a minha aprendizagem numa fase inicial. Porém, este obstáculo não impediu a aquisição de conhecimento graças à amabilidade dos operacionais, os quais sempre prontamente me receberam e explicaram o funcionamento das unidades.

3. Considerações finais

A experiência de realizar um estágio na Indústria Farmacêutica provou ser incrivelmente enriquecedora para minha formação como estudante e futura farmacêutica. Durante o estágio, tive o meu primeiro contato com a realidade do dia a dia de uma indústria farmacêutica, especificamente no departamento de produção nas unidades de IJM e LSM.

Estar em uma unidade industrial onde a precisão é crucial, as responsabilidades são complexas e diversificadas, e a interação com uma variedade de profissionais é constante, incentivou-me a adotar uma abordagem proativa e confiante. Também me motivou a buscar conhecimento adicional para superar eventuais desafios e inseguranças.

Ao refletir sobre meu período como estagiária, sinto que alcancei os objetivos estabelecidos para o estágio.

4. Referências bibliográficas

- 1. Laboratórios Basi - Your Health, Our World - Sobre os Basi - [Consult. 7 ago.2023]. <https://www.basi.pt/sobre-basi/>**

PARTE III

MONOGRAFIA

“As Potencialidades dos Líquenes”

Resumo

Os líquenes são organismos simbióticos únicos, que têm sido amplamente utilizados ao longo da história por diferentes culturas com o objetivo de tratar diversas condições de saúde. Estudos científicos têm revelado a presença de várias classes de compostos bioativos nos líquenes, demonstrando assim o seu potencial terapêutico e diversidade de atividades farmacológicas exercidas por estes.

Neste sentido, a presente monografia propõe uma exploração profunda das potencialidades medicinais dos líquenes, revelando sua estrutura, composição química diversificada e atividades farmacológicas. Além disso, examina-se a importância dos líquenes tanto do ponto de vista ecológico quanto cultural, explorando as suas utilizações tradicionais e contemporâneas. Alguns líquenes específicos com potencial terapêutico são apresentados, destacando suas diferentes características e aplicações possíveis na medicina, nomeadamente a *Lobaria pulmonaria*, com atividades anti-proliferativas, antioxidantes e antibacterianas. Por sua vez, a *Cetraria islandica*, também designado Musgo da Islândia, tem uma ampla gama de propriedades farmacológicas, incluindo as imunomoduladoras, antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias, constituindo um dos poucos líquenes com ensaios clínicos, incorporado em produtos farmacêuticos, particularmente xaropes antitússicos. No que respeita a *Usnea barbata*, comumente conhecido como Barba-de-Velho, é uma das espécies mais estudadas dentro do seu género, possuindo propriedades antioxidantes, citotóxicas, antitumorais, anti-inflamatórias e antimicrobianas, devido ao seu elevado teor em ácido úsnico. A monografia examina, também, as aplicações prospetivas dos líquenes no desenvolvimento de novos medicamentos e terapias.

Ao abordar a complexidade dos líquenes, esta pesquisa visa contribuir para o conhecimento atual destes organismos simbióticos e destacar seu potencial papel nos cenários farmacológico e médico em constante evolução.

Palavras-Chave: líquen, micobionte, fotobionte, metabolito, extrato, ácido úsnico, antioxidante, citotóxico, *in vivo*, *in vitro*.

Abstract

Lichens are unique symbiotic organisms and have been widely used throughout history by different cultures to treat various health conditions. Scientific studies have revealed the presence of several classes of bioactive compounds in lichens, and demonstrated their therapeutic potential and the diversity of pharmacological activities.

In this regard, this monography proposes a deep exploration of the medicinal potential of lichens, revealing their structure, diverse chemical composition and pharmacological activities. Furthermore, it examines the importance of lichens from both an ecological and cultural perspective, regarding their traditional and contemporary uses. Some specific lichens with therapeutic potential are presented, highlighting their distinct characteristics and possible applications in medicine, notably *Lobaria pulmonaria*, with anti-proliferative, antioxidant, and antibacterial activities. Similarly, *Cetraria islandica*, also known as Iceland Moss, with a wide range of pharmacological properties, including immunomodulatory, antioxidant, antimicrobial, and anti-inflammatory properties, being one of the few lichens with clinical trials and incorporated into pharmaceutical products, particularly cough syrups. Regarding *Usnea barbata*, commonly known as Old Man's Beard, it is one of the most studied species within its genus, possessing antioxidant, cytotoxic, antitumor, anti-inflammatory, and antimicrobial properties, due to its high content of usnic acid. The monography also examines the prospective applications of lichens in the development of new drugs and therapies.

By addressing the complexity of lichens, this review aims to contribute to the current knowledge about these symbiotic organisms and highlight their promising role in the ever-evolving medical landscape.

Keywords: lichen, mycobiont, photobiont, metabolite, extract, usnic acid, antioxidant, cytotoxic, *in vitro*, *in vivo*.

Lista de Abreviaturas

(-)-UA: Enantiómero negativo de ácido úsnico

(+)-UA: Enantiómero positivo de ácido úsnico

12-HETE: Ácido 12-hidroxi-5,8,10,14-eicosatetraenóico

2OCAA: Ácido 2-O-cafeoil alfitólico

AU: Ácido úsnico

COX-1: Cicloxigenase 1

COX-2: Cicloxigenase 2

DM I: Diabetes Mellitus tipo I

F-UBAs: Filmes mucoadesivos orais contendo o extrato seco de acetona de *U. barbata*

HSV-1: Vírus Herpes simplex I

IL-10: Interleucina 10

mPGES-1: Prostaglandina E sintase-1 microssomal

NO: Óxido nítrico

PGE2: Prostaglandina E2

RNS: Espécies reativas de azoto

ROS: Espécies reativas de oxigénio

SCE: Extrato supercrítico de CO₂

I. Introdução

Atualmente, a busca por novas moléculas farmacêuticas ativas a partir de fontes naturais, como líquenes, têm recebido considerável atenção da comunidade científica. A associação simbiótica dos líquenes é formada por um fungo, designado de micobionte, e um microorganismo fotossintético, conhecido como fotobionte, que normalmente é uma alga verde, ou uma cianobactéria^[5]. Os líquenes podem ser encontrados desde regiões tropicais até os polos, principalmente devido à sua capacidade de sobreviver a temperaturas extremas e aos mecanismos de adaptação^[6,7]

Os metabolitos secundários dos líquenes têm um elevado grau de diversidade, estimado em mais de 1000 compostos diferentes^[8]. Eles podem ser classificados como compostos fenólicos (dibenzofuranos, depsídeos e depsidonas), ácidos alifáticos, quinonas, derivados de ácido pulvínico, entre outros^{[7][9]}. O ácido úsnico (C₁₈H₁₆O₇) é o metabolito mais estudado à data, e o único no qual os efeitos toxicológicos foram bem estabelecidos, nomeadamente a hepatotoxicidade^[7].

Com a identificação destes compostos (metabolitos secundários) e o conhecimento das suas atividades biológicas, foi possível estabelecer as propriedades terapêuticas que incluem: a antimicrobiana, a antioxidante, a anti-inflamatória, a antitumoral, a antiviral, entre outras^[7]. A maioria dos metabolitos que possuem principais atividade antimicrobiana são o ácido úsnico, classe fenólica (depsídeos e depsidonas) e triterpenos^[6]. Na atividade antioxidante, onde por definição um composto tem capacidade em inibir os efeitos dos radicais livres, destacam-se os compostos fenólicos, sendo os grupos hidroxilo responsáveis pela atividade antioxidante^{[3] [7] [8]}. Por sua vez, metabolitos secundários como depsídeos, depsidonas, dibenzofuranos e também os polissacarídeos, destacam-se no âmbito da inflamação, pelas suas capacidades em inibir enzimas que estão envolvidas no processo da inflamação, sendo exemplos; cicloxigenases, lipoxigenases e síntese de prostaglandinas^[9].

Os líquenes demonstram também potencial antitumoral devido às suas propriedades antioxidantes (inibição da oxidação de macromoléculas como proteínas e DNA), citotóxicas (p.e. indução de stress oxidativo), anti-proliferativas (p.e. bloqueios no ciclo celular), anti-migração e anti-inflamatórias. Estas propriedades tornam-se ainda mais relevantes uma vez que os metabolitos liquénicos demonstram ser seletivos para células cancerígenas^[10].

Alguns líquenes que se destacam são *Lobaria pulmonaria* com atividades anti-proliferativas, antioxidantes e antibacterianas comprovadas^[11], sendo o seu extrato uma fonte promissora de substâncias citotóxicas e eficaz contra o *S. aureus*. Na atividade anticancerígena,

o ácido estíctico isolado deste líquen bem como o extrato metanólico são os principais responsáveis por esta propriedade^{[12][13]}.

Por sua vez, *Cetraria islandica* é um líquen que apresenta também propriedades biológicas tais como, imunomoduladoras, antioxidantes, antimicrobianas, antivirais e anti-inflamatórias. De acordo com o Comité de Medicamentos à Base de Plantas (HMPC), este líquen pode ser usado como demulcente para irritações no trato respiratório superior, laringite, tosse seca, e no tratamento da perda de apetite temporária, sendo dos poucos líquenes incorporados em produtos farmacêuticos, nomeadamente em xaropes antitússicos^[14]. Entre os seus metabolitos, os ácidos úsnico, protocetrárico, fumarprotocetrárico e protoliquesterínico destacam-se pelas suas propriedades farmacológicas e as substâncias liquenina e isoliquenina por serem os principais glucanos presentes no *C. islandica*^[15].

O *Usnea barbata* é um líquen que devido ao seu elevado teor em ácido úsnico, apresenta uma grande variedade de propriedades farmacológicas, nomeadamente antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e anti-inflamatória. O seu extrato supercrítico de CO₂ (SCE) apresentou o maior teor de ácido úsnico, revelando atividades citotóxica e antioxidante, as mais potentes^[16]. Também o extrato seco de acetona, o acetato de etilo, o metanólico, o óleo de canola e o metabolito ácido 2-O-cafeoil alfitólico (2OCAA) demonstraram atividade antitumoral promissora em laboratório^{[17][18][19]}. Já na atividade antibacteriana, destacam-se extratos de metanol e de acetato de etilo^[20]. O extrato deste líquen também se mostrou capaz de inibir a síntese de prostaglandinas induzidas pela radiação UV-B^[21].

Contudo, apesar da multiplicidade de atividades exibidas por estes organismos, constata-se uma escassez de estudos clínicos que avaliem as atividades biológicas destes organismos e seus metabolitos, sendo que os estudos mais recentes envolvem revisões de estudos experimentais anteriores, principalmente ensaios *in vitro* e *in vivo*.

Deste modo, a presente monografia tem como objetivo final fornecer uma compilação sólida acerca das potencialidades medicinais dos líquenes, com base fundamentalmente em estudos *in vitro* e *in vivo*, e que possa ser útil como base para futuras investigações, desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos e, o mais importante, melhorar a compreensão e utilização dos líquenes no campo da farmacologia/medicina, beneficiando assim a saúde humana.

2. Líquenes: o que são?

2.1 Definição

Os líquenes são organismos resultantes de uma associação simbiótica entre fungos (micobiontes) e um ou mais parceiros fotossintéticos, o fotobionte, que tanto pode ser uma alga verde (ficobionte) como uma cianobactéria (cianobionte)^[1]. Nestes organismos, o micobionte pertence, na sua maioria, ao filo *Ascomycota*, podendo pertencer também ao filo *Basidiomycota*^[22]. Por sua vez, os cianobiontes mais comuns são pertencentes aos géneros *Nostoc* e *Scytonema*, no que concerne à alga verde mais comum temos o género *Trebouxia* encontrado em cerca de 40% dos líquenes^[23].

2.2 Estrutura, morfologia e reprodução

Em cultura, os micobiontes não liquenizados permanecem relativamente amorfos. Contudo, iniciam o desenvolvimento do seu talo aquando do contacto com o fotobionte^[1]. Desta forma, o talo é uma estrutura restrita a fungos liquenizados não sendo observado quando o micobionte cresce em isolamento.

Este corpo liquénico é constituído e determinado maioritariamente pelo micobionte e pode exibir três formas de crescimento principais: crostoso, fruticoso e folioso^[24].

No entanto, o espaço interno do talo pode adotar uma estratificação interna constituída por quatro camadas distintas, três das quais formadas pelo fungo (córtex superior, medula e córtex inferior) e somente uma pelo fotobionte, que representa a maioria dos casos (estratificação heterómera). Por outro lado, pode apresentar uma organização homómera, na qual o micobionte e fotobionte estão distribuídos uniformemente, não havendo divisão por camadas. No talo heterómero, adjacente ao córtex superior, encontra-se a camada que contém o fotobionte, constituída pelas células deste, envolvidas pela hifa fúngica proveniente da medula^[25].

No que diz respeito à forma como se reproduzem, os líquenes podem fazê-lo de duas formas distintas: por reprodução sexuada, realizada apenas pelo micobionte que envolve o desenvolvimento de corpos frutíferos (apotécios) que, por sua vez, produzem esporos (ascósporos ou basidiósporos, se pertencer ao filo *Ascomycota* ou ao filo *Basidiomycota*, respetivamente)^[22]. Os apotécios têm a forma de taça e são estruturas perenes^[26].

Doutro modo, a reprodução vegetativa ou assexuada pode ocorrer por dispersão de propágulos contendo ambos os simbiontes ou por fragmentação do talo. Para este efeito, os líquenes desenvolveram os sorédios e os isídios^[26].

2.3 Relação simbiótica

O micobionte é um organismo heterotrófico que obtém os seus nutrientes através do fotobionte, assimilando-os e metabolizando-os imediatamente^[1].

O fluxo de carboidratos está bem estudado e estabelecido: é constituído, maioritariamente por polióis (sorbitol, ribitol, eritritol), no caso das algas verdes e por glucose no caso de cianobactérias, do fotobionte para o micobionte. Este é um benefício essencial para o desenvolvimento e reprodução do micobionte, o qual resulta do fato das paredes celulares do fotobionte serem mais permeáveis à perda de carboidratos no estado liquenizado do que no estado livre. Adicionalmente, o micobionte tem à sua disposição uma fonte de nitrogénio no caso de estar presente uma cianobactéria, que possui a capacidade de fixação deste elemento que, muitas vezes, é limitante, mas crucial para a síntese proteica^[1]. Por sua vez, a componente fúngica do líquen fornece estrutura e proteção contra a dissecação com a formação do talo, mas também disponibiliza água e minerais obtidos a partir da atmosfera e ambiente envolventes. Assim, o processo de liquenização estimula a *upregulation* de mecanismos fotoprotetores do micobionte, ficando o fotobionte também protegido da radiação UV^[27].

2.4 Habitats e adaptabilidade

Em geral, a simbiose dos líquenes é muito bem-sucedida, uma vez que estes organismos são encontrados em quase todos os habitats^[1], sendo que podem crescer em várias superfícies como rocha, casca de árvores, solo e em superfícies sintéticas^[22]. Como resultado da simbiose, quer o micobionte quer o fotobionte expandiram-se para múltiplos habitats, nos quais, separadamente, seriam raros ou até inexistentes^[1].

Esta versatilidade deve-se às múltiplas estratégias de adaptação que estes organismos desenvolveram, consoante o ambiente em que estão inseridos, nomeadamente a capacidade de anidrobiose, mecanismos antioxidantes, pigmentos fotoprotetores, entre outros processos^[28].

3. Importância dos líquenes

3.1 Papel ecológico

Os líquenes, em habitats extremos, muitas vezes, constituem grande parte da biomassa presente e são os pioneiros na sua colonização. Os líquenes, principalmente os crustosos e endolíticos, seja por processos físicos (penetração de hifas e expansão do talo) seja por químicos (excreção de ácidos), conseguem provocar o intemperismo rochoso como primeira

etapa na formação de solo o que, posteriormente, permite o desenvolvimento de outras espécies^{[29][30]}. Muitos dos metabolitos secundários por eles produzidos atuam como agentes complexantes, contribuindo também para a desintegração da superfície rochosa^[31].

Por sua vez, devido à sua capacidade de absorver e acumular, os líquenes, em alguns ecossistemas adversos, podem armazenar uma proporção substancial de nutrientes, os quais alcançam outros componentes do ecossistema através da decomposição destes organismos e consumo por animais. Além disso, em locais com baixa precipitação, os líquenes absorvem água a partir do nevoeiro e, dessa forma, providenciam água aos solos subjacentes, aumentando assim a disponibilidade de água para o eventual crescimento de plantas e árvores^[32].

Além disto, os líquenes podem igualmente providenciar abrigo a vários invertebrados, que se alimentam ou não destes, como ácaros e espécies de tardígrado^[32,33].

3.2 Uso na medicina tradicional

Na medicina tradicional, vários líquenes são usados para o tratamento de feridas, como desinfetantes, como anti-hemorragicos, para problemas de pele, respiratórios, e ginecológicos. Além disso, algumas espécies são preparadas por decocção para ingerir com o propósito de aliviar maleitas digestivas ou pulmonares. Outros usos tradicionais envolvem o tratamento de problemas oculares^{[6][3]}.

Cerca de 60 gêneros de líquenes estão reportados como sendo utilizados tradicionalmente, sendo o gênero *Usnea* o mais comumente utilizado; é usado para o tratamento da diarreia, úlceras, infecções urinárias, tuberculose, pneumonias e dores de barriga. Também é usado para perda de peso, alívio da dor, tratamento de feridas. As espécies pertencentes a este gênero são a fonte mais comum de ácidos liquênicos com propriedades antibióticas e antifúngicas, com especial relevância para o ácido úsnico^{[6][3][34]}.

Os líquenes, em algumas culturas, têm sido utilizados na alimentação, sobretudo fruticosos e foliosos. No entanto, são utilizados majoritariamente como iguarias e, mais frequentemente, como alimentos de último recurso^[31].

3.3 Uso contemporâneo

Para além dos seus propósitos medicinais, os líquenes têm várias outras aplicações, nomeadamente como tintas (orceína), indicadores de pH (Litmus) e também como fragrâncias. Exemplos disto é a espécie *Evernia prunastri*, que constitui uma fragrância importante na indústria da perfumaria e, por sua vez, a espécie *Letharia vulpina* que é utilizada na indústria têxtil para aproveitamento da sua cor amarela vibrante^[5].

Por outro lado, os líquenes são extremamente sensíveis à poluição atmosférica na medida em que obtêm todos os seus nutrientes e água através da atmosfera. De um modo geral, os líquenes são principalmente sensíveis ao dióxido de enxofre mas também a halogénios (p.e. fluoretos), nitrogénio, ácidos e ozono. Desta forma, os líquenes tornaram-se bioindicadores importantes na monitorização da poluição atmosférica na medida em que as concentrações destes compostos químicos estão diretamente correlacionadas com as do ambiente envolvente^[31].

A eficiência dos líquenes como bioindicadores ecológicos está ligada à sua natureza poiquilohídrica e poiquilotérmica, uma vez que não são capazes de autorregulação no que respeita ao seu conteúdo em água, temperatura e nutrientes, respondendo diretamente à sua disponibilidade no ambiente circundante^[35].

Por fim, o crescimento lento e a sua natureza sensível podem também ser empregues na datação das superfícies rochosas onde estes organismos se desenvolvem. Neste sentido, surgiu a liquenometria, um método de datação geocronológica que se baseia no crescimento dos líquenes, usado para determinar a idade da rocha, tendo como princípio a taxa específica presumida de aumento no tamanho radial do líquen ao longo do tempo^[36].

4. Compostos bioativos

4.1 Principais classes

Os líquenes têm mais de mil compostos identificados, incluindo metabolitos primários e secundários. O metabolismo primário é o conjunto das substâncias básicas que constituem a estrutura do líquen e inclui proteínas, aminoácidos, polissacarídeos e vitaminas^[4], sendo que alguns destes são produzidos pelo micobionte e outros pelo fotobionte. A maioria dos metabolitos primários são inespecíficos e podem estar presentes em fungos não liquenizados, algas e plantas vasculares^[6].

Por outro lado, o metabolismo secundário não é essencial para a sobrevivência dos líquenes, não está diretamente envolvido no seu crescimento, mas é sintetizado para os proteger de alguns fatores ambientais^{[4][37]}. A maioria dos metabolitos secundários são exclusivos dos líquenes pelo que, a sua ocorrência reitera a singularidade desta simbiose^[6]. Os metabolitos secundários, com base na sua estrutura química, podem ser classificados como compostos fenólicos (a maioria, incluindo as depsidonas, p.e. ácidos salazínico e lobárico e os seus precursores), os depsídeos (p.e. atranorina e ácido barbático), dibenzofuranos (ácido úsnico $C_{18}H_{16}O_7$), ácidos alifáticos (p.e. ácido protoliquesterínico), quinonas (p.e. parietina), derivados do ácido pulvínico (p.e. ácido vulpínico), cromonas, terpenos, esteróides, entre

outros^{[3][5]}. Os líquenes também apresentam pigmentos produzidos pelo micobionte como sejam os carotenóides (β -caroteno)^[29].

4.2 Funções

Com a síntese de ácido pulvínico e pigmentos (melaninas e parietina), os líquenes conseguem adaptar-se ao stress UV pela absorção e reflexão da radiação como fluorescência ou calor^[4]. No entanto, o córtex superior contém outros compostos protetores da radiação UV como sejam as antraquinonas e xantonas^[38]. Similarmente, as ficobilinas sintetizadas pelo fotobionte, atuam como receptores de energia luminosa e auxiliam na proteção da clorofila da degradação pelo oxigénio^[39].

Por sua vez, o córtex superior possui também polissacarídeos que absorvem água e hidrofobinas (proteínas hidrofóbicas ricas em cisteína) que protegem o líquen da desidratação e ajudam na regulação da humidade. Além disso, acredita-se que vários metabolitos secundários desempenham funções importantes na competição de nicho^[38].

5. Atividades farmacológicas

5.1 Atividade antimicrobiana

Tendo em consideração a preocupação crescente no que concerne à resistência a antibióticos e a falta de novos princípios ativos antimicrobianos, os agentes patogénicos Gram-positivos e Gram-negativos multirresistentes constituem uma grande ameaça^[40].

A atividade antimicrobiana é, frequentemente, encontrada nos líquenes (cerca de 50% dos líquenes testados apresentam atividades antimicrobianas promissoras), na qual se inserem as propriedades antibacterianas e antifúngicas contra microrganismos que afectam a saúde humana^{[40] [41]}. A maioria dos metabolitos que possuem atividade antimicrobiana são o ácido úsnico, compostos fenólicos (depsídeos e depsidonas) e triterpenos^[6]. O ácido úsnico, sendo um dos compostos mais estudados, exerce a sua atividade antibacteriana, maioritariamente, através da interferência na síntese de RNA e, por inerência, pelo comprometimento da replicação de DNA, com especial enfoque nas bactérias Gram-positivas^[40]. Outros mecanismos de ação possíveis são a dissipação do potencial membranal das células bacterianas e inibição da formação de biofilmes^{[42][6]}. Contudo, este metabolito existe sob dois enantiómeros: positivo e negativo, sendo o positivo mais comum e o que apresenta, na maioria das vezes, maior atividade^[43].

No que respeita aos compostos fenólicos, as suas propriedades antimicrobianas devem-se fundamentalmente à presença de grupos hidroxilo, cujo número é diretamente

proporcional à sua toxicidade contra os microrganismos. Alguns mecanismos de ação possíveis são a inibição de enzimas microbianas ou ação direta no metabolismo através da inibição da fosforilação oxidativa^[6].

Por sua vez, o mecanismo de ação dos terpenos não é totalmente conhecido. Tendo em consideração a sua natureza lipofílica, acredita-se que estes metabolitos atuam interferindo nas funções das membranas celulares dos microrganismos, e alguns autores acreditam que possam causar aumento inespecífico da permeabilidade da membrana celular para as moléculas de antibióticos^[6]. Por outro lado, alguns terpenos estão descritos como agentes complexantes de proteínas, como adesinas e proteínas da parede celular e, conseqüentemente, levando à rutura da membrana celular^[44].

No que diz respeito às depsidonas, estas podem atuar como inibidores da enzima RecA (enzima envolvida na reparação do DNA em bactérias), que potenciam a atividade bactericida e reduzem a resistência aos antibióticos^[45].

Outros metabolitos com atividade antimicrobiana são ésteres de escabrosina identificados em alguns líquenes que pertencem à família epipolítiodioxopiperazina (ETP) de toxinas fúngicas, que atuam ao inibir a função mitocondrial, levando à morte celular^[40].

Além disso, alguns estudos reportam que os compostos liquénicos podem exercer a sua atividade por meio de um efeito sinérgico entre si. Contudo, de acordo com vários artigos científicos, a conclusão a que se chega é que estes metabolitos, em geral, são mais ativos contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas e leveduras^[46]. A diferença na sensibilidade entre Gram-positivos e Gram-negativos e fungos pode ser atribuída a diferenças morfológicas entre esses microrganismos, sobretudo a diferenças na permeabilidade da parede celular. As paredes celulares das bactérias Gram-positivas são constituídas por peptidoglicanos e ácidos teicóicos, enquanto as bactérias Gram-negativas possuem um envelope formado por três camadas as quais são constituídas por peptidoglicanos, lipopolissacarídeos e lipoproteínas. Por fim, as paredes celulares dos fungos são pouco permeáveis e consistem em polissacarídeos como glucanos e quitina^[6].

5.2 Atividade antioxidante

Os radicais livres, quando em elevadas quantidades, induzem stress oxidativo, que se não for devidamente regulado, pode levar ao desenvolvimento de doenças crônicas e severas tal como doença de Alzheimer, doença de Parkinson, cancro, entre outras^[7]. Neste sentido, e uma vez que a atividade antioxidante de um composto ou enzima envolve a sua capacidade em inibir os efeitos de espécies reativas de oxigénio (ROS)^[3], os antioxidantes naturais podem interferir na progressão destas doenças^[47].

De uma forma geral, os compostos fenólicos são considerados os metabolitos liquénicos mais abundantes que demonstram atividade antioxidante, consoante o arranjo dos grupos funcionais nas suas estruturas (configuração, substituição e número de grupos hidroxilo). Vários estudos confirmam uma correlação positiva entre o número de compostos fenólicos e a eliminação de radicais livres^[7], sendo que são os seus grupos hidroxilo os responsáveis pela atividade antioxidante^[8]. Contudo, as diferenças no teor destes metabolitos são dependentes da espécie, da natureza do extrato e também dos métodos de extração na medida em que, em alguns estudos, foi observado que diferentes métodos de extração têm influência na atividade antioxidante^[48].

Dentro dos compostos fenólicos, as depsidonas têm demonstrado a sua atividade antioxidante ao, diretamente, eliminar ROS e RNS (espécies reativas de azoto) e ao modular a atividade e síntese de enzimas redox (p.e. superóxido dismutase e catalase). Além disso, as depsidonas têm a capacidade de se incorporar nos microdomínios da membrana celular o que as torna mais eficientes como antioxidantes. Algumas depsidonas de destaque são: o ácido fumarprotocetrárico que exerce a sua atividade antioxidante ao reduzir a formação de ROS e peroxidação lípida e a panarina pela sua capacidade em eliminar radicais superóxido e prevenir danos no DNA induzidos por óxido nítrico (NO)^[45].

5.3 Atividade anti-inflamatória

A inflamação desempenha um papel crucial no sistema imunitário como um mecanismo de defesa^[49]. Em resposta a um determinado estímulo agressor (p.e. agentes infecciosos), um repertório de substâncias químicas é libertado, recrutando um conjunto de células imunitárias (neutrófilos, eosinófilos, mastócitos, monócitos), juntamente com várias quimiocinas e citocinas. Contudo, em determinadas circunstâncias, a resposta do nosso organismo é inadequada com a acumulação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias. Uma desregulação na libertação de mediadores pró-inflamatórios pode levar à destruição celular, danos tecidulares ou até ao desenvolvimento de uma diversidade de patologias com uma componente inflamatória crónica, de que são exemplos aterosclerose, asma, artrite reumatóide, cancro, entre outros^[50].

Alguns compostos liquénicos, nomeadamente depsídeos, depsidonas, dibenzofuranos e polissacarídeos são caracterizados pela sua atividade anti-inflamatória significativa, resultante, nomeadamente, da sua capacidade de inibir enzimas envolvidas no processo de inflamação, incluindo cicloxigenases, lipoxigenases e síntese de prostaglandinas^[9].

Exemplo disto são, os ácidos lobárico e protoliquesterínico, os quais demonstraram atividade inibitória importante contra a enzima plaquetária 12-lipoxigenase, responsável pela

síntese do ácido 12-hidroxi-5,8,10,14-eicosatetraenóico (12-HETE), agente quimiotático para eosinófilos e neutrófilos, conduzindo a uma migração celular de células imunológicas - uma condição presente em vários distúrbios metabólicos e autoimunes^[50].

A atranorina, um depsídeo presente em vários líquenes, também demonstra atividade anti-inflamatória, ao inibir a cicloxigenase 1 (COX-1) dose-dependente. Contudo, a sua atividade contra a cicloxigenase 2 (COX-2) é menos significativa^[9].

Num estudo, a depsidona, ácido fisódico e os depsídeos, ácido olivetórico e perlatóico inibiram significativamente a atividade da prostaglandina E sintase-I microsomal (mPGES-1), uma enzima responsável pela síntese da prostaglandina E2 (PGE2), mecanismo considerado importante no tratamento de dor, inflamação e alguns tipos de cancro^[9].

À semelhança de outros metabolitos, o ácido úsnico também possui propriedades anti-inflamatórias. Num estudo, a administração oral deste metabolito (25, 50 e 100 mg/kg) inibiu o edema das patas em murganhos. Na dose mais elevada, funcionou de forma comparável ao ibuprofeno (100 mg/kg)^[9]. Por outro lado, os efeitos de ambos os enantiômeros de ácido úsnico (AU) nas concentrações de 10 e 25 µg/mL foram comparados. Foi encontrada uma redução significativa na produção de NO para ambas as concentrações, independentemente do enantiômero utilizado. Foi também observada uma diminuição dose-dependente nos níveis de proteína COX-1 para ambos os enantiômeros, mas para (+)-AU apenas a dose mais elevada teve efeito significativo. Ambos os enantiômeros de AU diminuíram significativamente os níveis de proteína COX-2, mas para (-)-AU, o efeito foi dose-dependente^[51].

Alguns polissacarídeos liquénicos também demonstraram atividade através da alteração na síntese de várias citocinas por macrófagos, ao induzirem a secreção de IL-10 (citocina anti-inflamatória que inibe a síntese de algumas citocinas pró-inflamatórias) em células do baço de murganhos^[9].

5.4 Atividade antitumoral/ anticancerígena

São vários os estudos que comprovam as atividades anticancerígenas/antitumorais dos líquenes. Esta atividade farmacológica deve-se às suas propriedades antioxidantes (inibição da oxidação de macromoléculas como proteínas e DNA), citotóxicas (p.e. indução de stress oxidativo), anti-proliferativas (p.e. bloqueios no ciclo celular), anti-migração e anti-inflamatórias. Além disso, os compostos liquénicos induzem morte celular por apoptose, autofagia e necrose, sendo que exercem a sua atividade contra uma grande variedade de células cancerígenas^[52]. Todavia, os compostos liquénicos, bem como os seus derivados sintéticos, podem também potenciar os efeitos de alguns medicamentos anticancerígenos utilizados

atualmente e demonstram ser mais seletivos para células cancerígenas do que para células não-cancerígenas^[10].

Alguns metabolitos destacam-se neste âmbito nomeadamente, a atranorina que demonstrou afetar alguns tipos de células cancerígenas ao se intercalar no seu DNA e evitar a ação da topoisomerase 2, enzima envolvida no controlo do superenrolamento do DNA no processo de replicação e transcrição. Este depsídeo também conseguiu inibir a invasão e migração de células do cancro do pulmão em estudos *in vivo* e induziu bloqueio em etapas do ciclo celular em células de cancro colorretal e melanoma^[52].

No que respeita às depsidonas, estudos indicam que esta classe de metabolitos, especialmente a panarina, têm uma maior atividade anticancerígena que os depsídeos, podendo ser devido a uma maior penetração por parte destas nos microdomínios lípidicos das células tumorais. Por outro lado, a panarina demonstrou exercer a sua citotoxicidade ao induzir a síntese de ROS em células cancerígenas o que desencadeia a morte celular^[52].

Por sua vez, o ácido úsnico em células do carcinoma do ovário e adenocarcinoma do cólon induziu morte celular programada^[52]. Este metabolito também em células do cancro do pulmão interferiu na proliferação celular tumoral^[53]. O ácido úsnico também possui propriedades anti-angiogénicas ao evitar a angiogénese tumoral^[54]. Além disso, ambos os seus enantiómeros demonstraram-se eficazes na inibição da síntese de DNA em células do cancro da mama e do pâncreas^[55].

Alguns extratos de líquenes também possuem atividade anticancerígena, por exemplo, o extrato metalónico de *Parmotrema tinctorum* que manifestou propriedades antiproliferativas importantes através da alteração da morfologia celular, fragmentação nuclear e indução da apoptose^[56].

5.5 Outras atividades farmacológicas relevantes

A síndrome respiratória aguda grave 2, é provocada por uma estirpe do coronavírus (SARS-Cov-2) que provoca a doença Covid-19. A medicação de indivíduos infetados tem sido principalmente centrada no reaproveitamento de medicamentos antivirais disponíveis, medicamentos imunomoduladores, anticorpos monoclonais e vacinas como profilaxia. Contudo, o uso de fitometabolitos tem demonstrado eficácia no combate aos locais de ligação da proteína *Spike* presente na camada externa deste vírus, o principal meio para a fixação do vírus às células epiteliais respiratórias. Neste sentido, um estudo foi feito para avaliar as capacidades de ligação à proteína *Spike* de alguns metabolitos liquénicos. Os resultados mostraram que alguns metabolitos, nomeadamente os ácidos criptoestíctico e quaesítico foram eficazes no bloqueio das regiões de reconhecimento das células-alvo da proteína *Spike*

e, dessa forma, podem ser efetivamente utilizados no tratamento desta síndrome respiratória [57]. Noutro estudo, foi demonstrado que o ácido úsnico possui atividade antiviral contra três estirpes deste vírus: *Wuhan*, *Delta* e *Omicron*, sendo a sua atividade contra esta última comparável à do antiviral remdesivir. Na medida em que a sua atividade antiviral pode ser amplificada pela introdução de porções secundárias, a atividade de diferentes derivados foi avaliada. Similarmente ao ácido úsnico, dois derivados, um com um grupo hidroxilo adicional na posição 14, e outro resultante da hidrogenação do ácido úsnico, demonstraram atividade antiviral elevada contra as três estirpes testadas, ao se ligarem à glicoproteína de superfície S, diminuindo assim a sua reatividade e dificultando a sua interação com o receptor celular ACE2 das células-alvo [58]. Por fim, o ácido (+)-AU demonstrou maior atividade contra a variante beta comparativamente às variantes alfa e delta, concluindo assim que a sua atividade antiviral é dependente da variante [59].

O vírus Dengue é um vírus do género *Flavivirus* e é transmitido pela picada do mosquito do género *Aedes*. Num estudo, dezoito depsídeos e depsídonas liquénicos foram testados contra o vírus dengue serotipo 2. Entre estes, dois depsídeos e uma depsídona conseguiram inibir este vírus sem citotoxicidade aparente: ácido difractáico (99.98% ± 0.04%), ácido barbático (99.99% ± 0.02%) e parmosidona C (96.48% ± 2.90%). Todavia, o ácido difractáico destacou-se pela sua maior seletividade e atividade antiviral semelhante contra o vírus Dengue serotipo 1-4, vírus *Zika* e ainda vírus *Chikungunya*. A atividade foi demonstrada na fase tardia do ciclo de vida viral, na qual este metabolito impediu a produção de partículas infecciosas ao interferir com a replicação [60].

O vírus *Influenza* é um problema de saúde pública global, causando epidemias anuais e, por vezes, pandemias, sendo responsável por 3300-48600 mortes por ano. Devido à sua elevada capacidade de mutação, este vírus é capaz de desenvolver rapidamente resistência aos medicamentos, o que torna mandatória a busca de novos fármacos antivirais [61]. Neste sentido, a atividade antiviral de derivados sintéticos de AU contra várias estirpes do vírus *Influenza* foi avaliada *in vitro* e *in vivo*, tendo todos os compostos demonstrado atividade nas várias estirpes através da supressão da replicação viral. Contudo, uma enamina de AU, demonstrou a maior atividade *in vivo* com a redução significativa da letalidade de murgos infetados. Além disso, não originou estirpes resistentes e a sua hepatotoxicidade foi reduzida comparativamente ao AU, evidenciando a sua possível utilização no tratamento de infeções por vírus *Influenza* [62]. Por outro lado, a parietina e AU foram avaliados relativamente às suas atividades contra o arenavírus *Junin*, agente etiológico da febre hemorrágica argentina. O AU exibiu uma atividade antiviral, inibindo a replicação viral, enquanto a parietina uma atividade virucidal, através de um efeito sobre as partículas infecciosas [63].

Num estudo, os extratos de *Usnea longissima* e *Cetraria ornata* revelaram elevada atividade inibitória sobre a ativação do vírus de Epstein-Barr da mononucleose infecciosa, sendo que os metabolitos AU, ácido barbático, ácido difractaico e ainda ácido evérnico, foram identificados como os responsáveis por esta inibição. Destes compostos, o AU foi o que demonstrou a maior inibição^[64].

A atranorina, por sua vez, é outro metabolito com atividade antiviral comprovada, nomeadamente contra o vírus da Hepatite C (HCV), sendo o seu mecanismo de ação semelhante ao do antiviral erlotinib, através da inibição da infeção viral nas células alvo^[65].

Também os metabolitos montagnetol e orselinato de metil demonstraram atividade antiviral contra o vírus *Herpes simplex I* (HSV-I), tendo o montagnetol maior potência e menor toxicidade contra as células hospedeiras. Por outro lado, exibiu melhor estabilidade com a proteína alvo, timidina quinase (enzima essencial para a replicação do DNA viral), além de estabelecer algumas interações essenciais e necessárias para a atividade desejada, comparativamente ao antiviral aciclovir^[66].

Outro vírus para o qual os metabolitos liquénicos demonstraram atividade foi o vírus sincicial respiratório (RSV), nomeadamente o ácido sequicaico. Neste sentido, o ácido sequicaico, em dose muito baixa (EC₆₀ de 15.78 µg/ml), foi avaliado como imunomodulador celular. Os resultados revelam que este metabolito protege as células infetadas da citopatologia induzida pela infeção. Além disso, demonstrou algum grau de atividade imunorreguladora, aumentando a proporção de linfócitos T CD8⁺ e CD4⁺, comparativamente aos grupos controlo. Por fim, conseguiu ainda inibir este vírus, na fase de replicação viral^[67].

6. Estudos de caso: líquenes com potencial terapêutico

6.1 *Lobaria pulmonaria*

Lobaria pulmonaria é um líquen folioso que, comparativamente a outros líquenes, é menos tolerante à dessecação e altamente sensível à poluição atmosférica^[68]. A população mundial deste líquen diminuiu consideravelmente nos últimos 60 anos, e, atualmente, é uma espécie ameaçada em muitos países da Europa Ocidental^[69].

Esta espécie possui algumas atividades farmacológicas descritas incluindo anti-proliferativa, antioxidante, antibacteriana e até inibição da enzima acetilcolinesterase não só através de uma depsidona isolada C₂₁H₁₈O₉ na sua forma diacetato^[11] mas também a partir de uma mistura de depsidonas acetiladas, que demonstraram uma inibição moderada desta enzima^[70].

No que se refere às suas propriedades antiproliferativa, antimicrobiana e antioxidante, o extrato de *L. pulmonaria* mostrou-se como sendo uma boa fonte de substâncias citotóxicas,

com inibição da atividade metabólica em células de cancro do colo do útero, colón, mama, pulmão, ovário e leucemia. Por outro lado, o extrato deste líquen mostrou-se eficaz contra o *S. aureus*, registando a maior zona de inibição (105.41mm) e a atividade antioxidante mais promissora entre todos os extratos analisados (*C. islandica* *E. prunastri* *S. tomentosum* *X. elegans* *U. hirsuta* *P. furfuracea*)^[12].

No que toca à sua atividade anticancerígena, o ácido estíctico isolado de *L. pulmonaria* demonstrou uma atividade moderada sendo que as células do cancro do cólon foram mais sensíveis que as células do cancro da mama^[13]. Além disto, o extrato metanólico deste líquen demonstrou atividade anti-proliferativa e conseguiu reduzir a viabilidade celular de uma forma dose-dependente em células do cancro da mama e do pulmão^[71].

Ademais, num estudo *in vivo* que analisou a atividade gastroprotetora e antioxidante de extratos e dos metabolitos rizonaldeído e alcóol rizonílico deste líquen em úlceras gástricas induzidas por indometacina, foi observado que estas lesões foram significativamente reduzidas pelos extratos acetónico, de hexano e pelo metabolito alcóol rizonílico, contrariamente ao metabolito rizonaldeído. Por outro lado, todos os extratos juntamente com o alcóol rizonílico reduziram substancialmente a peroxidação lípidica e aumentaram os parâmetros antioxidantes^[72]. Noutro estudo, estes mesmos metabolitos em conjunto com isidioforina e pulmonarianina, isolados a partir de *L. pulmonaria*, demonstraram a melhor capacidade em inibir a peroxidação lípidica em comparação com os restantes compostos testados e capacidade de eliminação de radicais livres^[74].

6.2 *Cetraria islandica*

Cetraria islandica, também designado de Musgo da Islândia, é um líquen do tipo folioso que apresenta várias propriedades biológicas, imunomoduladoras, antioxidantes, antimicrobianas e anti-inflamatórias. De acordo com o Comité de Medicamentos à Base de Plantas (HMPC), este líquen pode ser usado como demulcente para irritações no trato respiratório superior, laringite, tosse seca, e no tratamento da perda de apetite temporária. A importância deste líquen é relevante no uso terapêutico tradicional e moderno, especialmente como suplementos alimentares e produtos farmacêuticos^[14]. Além disso, vale a pena referir a existência não só de uma monografia da Agência Europeia do Medicamento (EMA) como também de patentes sobre as propriedades terapêuticas desta espécie^[15].

Entre os seus metabolitos, o AU, protocetrárico, fumarprotocetrárico e protoliquesterínico destacam-se pelas suas propriedades farmacológicas e a liquenina e a isoliquenina por serem os principais glucanos presentes neste líquen^[15].

O ácido fumarprotocetrárico apresenta atividades antitumoral, anti-inflamatória, antibacteriana e inseticida. Contudo, este metabolito demonstra também atividades antioxidante e expetorante. Acredita-se que este metabolito exerce o seu efeito expetorante através da estimulação do reflexo vagal. Contudo, pode também ser explicada pela redução da viscosidade do muco e promoção do transporte mucociliar. Por outro lado, esta depsidona reduziu a peroxidação lípidica no tecido pulmonar por administração intrapleural, confirmando assim a sua atividade antioxidante^[75]. Além disso, demonstrou potencial neuroprotetor em neurónios e astrócitos contra o stress oxidativo induzido por H₂O₂ e atividade antioxidante através da eliminação de radicais livres, atenuação da síntese intracelular de ROS e da depleção dos níveis de glutathione (antioxidante intracelular não enzimático). Por outro lado, conseguiu diminuir a apoptose, evidenciado pela redução da expressão e atividade da caspase 3, enzima envolvida na apoptose^[75].

Outro metabolito predominante neste líquen é o ácido protoliqueterínico o qual existe sob a forma de 2 enantiómeros: positivo e negativo. O enantiómero positivo, à semelhança do ácido liqueterínico, revelou bom potencial como agente antitripanossomal contra *Trypanosoma brucei* (agente etiológico da doença do sono) no qual a sua hidrofobicidade relativamente elevada favoreceu a sua permeabilidade nas células patogénicas^[77]. Este metabolito também demonstrou atividade anti-proliferativa em várias linhas celulares cancerígenas. Contudo, os seus efeitos proapoptose demonstraram serem linha celular dependentes. Por outro lado, este ácido conseguiu penetrar em células pancreáticas cancerígenas e, dessa forma, induzir efeitos intracelulares^[78]. Noutro estudo, este composto provocou alterações morfológicas e inibiu a síntese de DNA em células de carcinoma mamário e leucemia^[77].

Por sua vez, o ácido protocetrárico é um bom agente antimicrobiano uma vez que inibiu significativamente o crescimento de bactérias e fungos de importância clínica, tendo mostrado maior atividade contra *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* e *Mycobacterium smegmatis*, comparativamente ao antibiótico de referência: ciprofloxacina. Uma atividade antifúngica mais pronunciada foi observada contra *Trichophyton rubrum* comparativamente ao composto de referência anfotericina B. Noutro estudo, também exibiu citotoxicidade contra células de melanoma e carcinoma do cólon^[77].

Apesar de pouco estudadas, também as melaninas deste líquen demonstraram atividade antioxidante, que pode ser explicada pela sua natureza fenólica^[79].

Por sua vez, os extratos de *C. islandica* também demonstram propriedades terapêuticas. No que toca à sua atividade antimicrobiana, o extrato de petróleo foi o que demonstrou maior atividade contra *H. pylori*, tendo sido o ácido protoliqueterínico o composto responsável por

esta ação^[15]. Noutro estudo, dentro de todos os extratos analisados foi o extrato de acetona de *C. islandica* o que demonstrou a melhor atividade contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *S. pyogenes*). Além disso, foi o extrato que demonstrou a maior atividade contra *P. aeruginosa*, atividade essa superior que alguns antibióticos de referência. Contudo, o extrato metanólico não exibiu atividade contra bactérias Gram-negativas^[80].

Relativamente à sua atividade antioxidante, o extrato metanólico de *C. islandica* demonstrou uma elevada capacidade de redução e eliminação de radicais livres. Em outro estudo, no qual se comparou a atividade antioxidante de vários extratos, foi o metanólico que demonstrou a maior atividade. Considerando as propriedades antioxidantes e as implicações de processos oxidativos na diabetes, o potencial protetor deste líquen também foi estudado. Num destes estudos, o extrato aquoso aumentou a atividade de enzimas antioxidantes e diminuiu a peroxidação lipídica em eritrócitos humanos com Diabetes *Mellitus* tipo I (DM I). Noutro estudo, este mesmo extrato diminuiu o stress oxidativo e aumentou a capacidade antioxidante em murganhos com DM I^[15].

No que diz respeito às suas propriedades antivirais, o extrato metanólico exibiu uma atividade antiviral potente contra os vírus influenza A/H3N2 e A/H5N1 aviário (subtipos do vírus influenza A) ao inibir a sua replicação enquanto o extrato aquoso apenas conseguiu exercer o mesmo efeito com uma concentração superior ($500 \mu\text{g/ml}$)^[81].

Por sua vez, a atividade imunomoduladora do extrato aquoso, dos ácidos fumarprotocetrárico e protoliquesterínico isolados, bem como dos polissacarídeos liquenina e isoliquenina na maturação de células dendríticas, foi estudada. Este estudo, mostrou que o extrato aquoso e a liquenina foram os únicos que demonstraram efeito e conseguiram aumentar a expressão de receptores envolvidos na ativação de linfócitos à superfície das células dendríticas^[82]. Outro estudo demonstrou que o tratamento de células NK com um polissacarídeo de *C. islandica* e seus derivados sulfatados aumentou a viabilidade celular, induziu a ativação destas células e, conseqüentemente, a sua citotoxicidade, demonstrando assim o seu potencial imunomodulador^[83].

Finalmente, o Musgo da Islândia é abundante em mucilagens. Devido à sua natureza aderente, essas mucilagens atuam nas membranas mucosas, aderindo a elas e formando uma camada protetora que age como uma barreira, prevenindo o contato com substâncias irritantes. Além disso, as mucilagens têm a capacidade de hidratar e lubrificar as mucosas e fluidificar o muco, reduzindo as inflamações. Neste sentido, são vários os xaropes que incluem *C. islandica* na sua composição, nomeadamente Supracare[®]; Aquilea Xarope Tosse Forte[®] e Alitussin[®], os quais se destinam a tosse seca/irritativa e também tosse produtiva^{[83][84][85]}.

6.3 *Usnea barbata*

Usnea barbata, comumente conhecido como Barba-de-Velho, é um líquen fruticoso. Em espécies do género *Usnea*, o AU representa o metabolito secundário mais predominante^[86]. Devido ao seu elevado teor em AU, este líquen apresenta uma grande variedade de propriedades farmacológicas, nomeadamente antioxidante, antimicrobiana e antitumoral^[16].

São vários os estudos que comprovam as propriedades antioxidante e citotóxica de *U. barbata*. Num estudo, o AU foi o principal composto fenólico identificado em todos os extratos de *Usnea barbata*, tendo o extrato supercrítico de CO₂ (SCE) apresentando o maior teor deste metabolito, o qual revelou não só a atividade citotóxica mais potente como também atividade antioxidante. Análises adicionais sugeriram os mesmos mecanismos citotóxicos de SCE e AU, indicando que o menor IC₅₀ do extrato estará relacionado ao maior grau de produção de ROS. Desta forma, foi possível concluir que existe uma boa correlação entre o teor de AU nos extratos e a sua capacidade antioxidante e citotóxica^[16]. Noutro estudo, foi avaliada a atividade citotóxica do extrato seco de acetona de *U. barbata*. Primeiramente, a atividade foi avaliada em larvas de artémia, a qual se mostrou diretamente proporcional à dose e tempo de exposição com um efeito letal significativo alcançado após 24 horas de tratamento. Além disso, a atividade contra células escamosas de carcinoma oral foi avaliada, tendo sido diretamente proporcional à concentração. Os resultados mostraram que o tratamento com este extrato resultou numa redução significativa da viabilidade celular e aumento considerável no número de células apoptóticas, confirmando assim a expressão do efeito citotóxico através do mecanismo da apoptose^[87]. Por sua vez, os extratos de acetona e de acetato de etilo, os quais continham o maior teor em AU, mostraram o efeito citotóxico mais significativo, com um comportamento pró-oxidante, induzindo stress oxidativo. Por oposição, em células não cancerígenas, induziram efeito antioxidante, o que indica uma citotoxicidade diferenciada entre células tumorais e células não tumorais. Por fim, observou-se que alguns extratos afetaram a capacidade das células cancerígenas de formar colónias, e, conseqüentemente metástases^[18]. Noutro estudo, o extrato metanólico de *U. barbata* demonstrou citotoxicidade contra células de carcinoma espinhocelular oral, com a indução de morte celular preferencial em células cancerígenas, através da apoptose, stress oxidativo com sobreprodução de ROS e danos no DNA^[19]. Por outro lado, foi avaliado o efeito antitumoral de metabolitos secundários isolados de *U. barbata* em células de cancro colorretal. Neste estudo, o metabolito ácido 2-O-cafeoil alfitólico (2OCAA), um triterpenóide, exibiu atividade antitumoral concentração-dependente ao induzir apoptose através da modulação da expressão de genes: supressão da expressão de genes antiapoptóticos e indução de genes apoptóticos. Além disso, este triterpenóide inibiu a migração e a invasão das células cancerígenas bem como a sua proliferação. Conjuntamente,

estes resultados sugerem que este metabolito é um bom candidato no tratamento do cancro colorectal^[88]. Por fim, avaliou-se a atividade antioxidante e citotóxica do extrato de *U. barbata* em óleo de canola, comparativamente a este óleo na forma isolada, o qual se destaca pelo elevado teor em compostos fenólicos e atividade antioxidante significativa. Os resultados obtidos demonstram que o extrato possui uma atividade antioxidante mais potente. Igualmente, a citotoxicidade foi maior no extrato do que no óleo isolado. Estes resultados sugerem assim um possível sinergismo entre os compostos liquénicos e os fitoconstituintes do óleo de canola (ácidos fenólicos, tocoferóis, fitoesteróis e carotenóides)^[89].

Relativamente à sua atividade antimicrobiana, os extratos de metanol e acetato de etilo mostraram atividade antibacteriana variável contra espécies de *Staphylococcus*, sendo as mais suscetíveis *S. xylosus*, *S. sciuri*, *S. lentus* e *S. epidermidis*. Contudo, a suscetibilidade foi superior no extrato de metanol do que no acetato de etilo, respetivamente, o que pode ser devido ao fato de o metanol extrair mais compostos antimicrobianos ativos devido à sua elevada polaridade^[90]. Noutro estudo, os resultados obtidos, mostraram que dos extratos de *U. barbata*, o de etanol demonstrou a maior atividade antioxidante. Já na atividade antibacteriana, a zona de inibição foi de 36 mm para o extrato de etanol e 35mm para o de acetona. Correlacionando o efeito antibacteriano com o potencial antioxidante dos extratos analisados, foi possível notar uma proporcionalidade direta entre ambas as atividades^[17]. Também foram desenvolvidos filmes mucoadesivos orais contendo o extrato seco de acetona de *U. barbata* (F-UBAs), os quais demonstraram atividade antitumoral sobre células do carcinoma espinhocelular oral, induzindo stress oxidativo, autofagia, bloqueios no ciclo celular e ainda diminuição da síntese de DNA. Por outro lado, demonstraram atividade inibitória dose-dependente contra bactérias e fungos implicados em infecções orais em doentes imunodeprimidos, nomeadamente *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, e *C. parapsilosis*: mostraram efeitos semelhantes em ambos os fungos e atividade inibitória superior contra *P. aeruginosa* do que *S. aureus*. Devido à sua atividade inibitória contra *C. albicans*, estes F-UBAs conseguem manter um baixo risco na medida em que este fungo promove a progressão do cancro. Todas estas propriedades levam a considerar a aplicação potencial destes F-UBAs como terapia complementar no carcinoma espinhocelular oral^[91].

Por fim, a *U. barbata* também demonstrou atividade anti-inflamatória, nomeadamente através da inibição da síntese de prostaglandinas induzida pela radiação UV-B em queratinócitos, sem afetar a *upregulation* da enzima COX-2, sugerindo um efeito sobre a atividade enzimática e não sobre a expressão proteica^[21].

7. Aplicações potenciais dos líquenes na medicina

7.1 Desenvolvimento de novos fármacos a partir de compostos liquênicos

A síntese de nanopartículas usando extratos de líquenes está, atualmente, no centro das atenções devido ao seu caráter econômico e ecológico: em vez de químicos tóxicos, substâncias isoladas ou presentes nos extratos são utilizadas como agentes redutores na síntese de nanopartículas. Neste sentido, os líquenes têm sido empregues nesta síntese na medida em que contêm elevadas quantidades de compostos com capacidade redutora e tampão (polissacarídeos e compostos fenólicos)^[92]. Além disso, algumas destas nanopartículas exibem maior estabilidade e, conseqüentemente, durabilidade que nanopartículas sintetizadas com outros reagentes^[93]. Num estudo, o poder redutor, a capacidade de eliminação de radicais livres, a atividade antidiabética, antibacteriana e antifúngica de nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas a partir do extrato aquoso de *Parmelia perlata* e a partir da sua fração glicosídica e alcalóide foram estudados. Observou-se que as AgNPs sintetizadas a partir da fração glicosídica apresentaram a maior atividade antibacteriana e antifúngica contra *Aspergillus niger*, maior poder redutor e maior atividade antidiabética com uma inibição de 51,85% da enzima alfa-amilase que as restantes nanopartículas^[94]. Estes resultados vão de encontro a outro estudo que indica que as diferentes biomoléculas presentes nos extratos cobrem as nanopartículas sintetizadas e, assim, potenciam não só a sua biocompatibilidade como também a sua atividade^[95].

Apesar das suas propriedades farmacológicas serem reconhecidas, a aplicação terapêutica do AU ainda não foi introduzida devido, maioritariamente, à sua elevada hepatotoxicidade e baixa solubilidade em água. Todavia, a encapsulação deste metabolito demonstra ser uma estratégia adequada para ultrapassar estas limitações, proporcionando segurança e eficácia no seu uso. Em particular, a encapsulação do AU em nanopartículas e lipossomas melhora a sua estabilidade, solubilidade e *uptake* intracelular como também garante uma libertação sustentada e controlada, modulando assim a toxicidade e favorecendo a sua acumulação no alvo. Neste sentido, foi estudada a atividade antitumoral de nanocápsulas de AU em células de sarcoma *in vivo*. Os resultados confirmaram a atividade antitumoral das nanopartículas, as quais induziram um aumento da inibição tumoral em 26.4% comparativamente ao AU livre. Por outro lado, a hepatotoxicidade foi substancialmente reduzida o que sugere que a nanoencapsulação pode ser uma forma segura de usar este metabolito no tratamento de cancros^[96]. Noutro estudo, β -ciclodextrinas (b-CD) foram usadas para melhorar a solubilidade do AU e a inclusão do complexo AU: β -CD em lipossomas por forma a explorar a atividade antibacteriana destes. Foi observado que, a solubilidade deste

metabolito aumentou na presença das β -ciclodextrinas sendo que não foram detetadas diferenças entre as atividades do metabolito isolado e dos lipossomas, favorecendo assim a hipótese de que a complexação com ciclodextrinas não interfere na atividade. Além disso, a encapsulação do complexo em lipossomas resultou numa modulação *in vitro* da cinética de libertação do AU uma vez que apresentou um perfil de libertação mais prolongado^[97]. Estes micro e nanosistemas potenciam a atividade antibacteriana deste metabolito, nomeadamente a sua capacidade de destruição de biofilmes, mostrando-se maior eficácia que o AU isolado. Isto pode ser explicado pelo perfil de libertação bifásico extenso, com uma libertação inicial rápida (*burst effect*), necessária para a erradicação do biofilme e que leva a concentrações elevadas, seguida de uma libertação mais lenta a longo prazo por forma a manter esta inibição e dificultar o crescimento do biofilme^[98]. Adicionalmente, os lipossomas de AU demonstram capacidade em estabelecer sinergismos com fármacos, nomeadamente com a rifampicina, um fármaco de 1ª linha no tratamento de tuberculose multirresistente, e com a vancomicina, antibiótico utilizado no tratamento de infeções por *S. aureus* metilina-resistente, potenciando as suas atividades antibacterianas^{[99][100]}.

Na medida em que a atranorina é uma molécula instável, especialmente em pH ácido e neutro, com capacidade de induzir anemia, foram desenvolvidas nanopartículas de óxido de ferro de atranorina por forma a avaliar as suas propriedades antitumorais contra células estaminais do cancro gástrico (GCSCs). *In vitro* e *in vivo*, foi confirmada a sua capacidade em inibir significativamente a proliferação, invasão de GCSCs e angiogénese e em induzir stress oxidativo, acumulação de Fe²⁺ e ferroptose (morte celular programada dependente de ferro). As nanopartículas também induziram a diminuição da estabilidade, tempo de semivida e atividade destas células^[101].

Contudo, é desconcertante a falta de ensaios clínicos envolvendo especificamente líquenes. Do meu conhecimento, quatro ensaios clínicos foram realizados com líquenes, dois dos quais com extrato aquoso de *C. islandica*; outro assente numa preparação homeopática de *L. pulmonaria*, *Luffa operculata* e dicromato de potássio, por fim, um ensaio clínico acerca dos efeitos de um suplemento à base de líquenes do género *Cladonia*. Apesar de serem estudos pouco representativos devido ao reduzido número de voluntários e de não serem controlados por placebo, a EMA considera que os ensaios clínicos de *C. islandica* apoiam suficientemente a sua utilização tradicional como demulcente em irritações orais ou faríngeas e tosse seca associada^[102]. Desta forma, mais ensaios clínicos e estudos *in vivo* têm de ser realizados por forma a confirmar as capacidades dos líquenes como fonte de compostos aplicados à medicina. Uma das razões plausíveis para a falta deste tipo de ensaios prende-se com a necessidade de produção em larga escala dos metabolitos liquénicos, a qual precisa de melhor compreensão

por forma a aumentar o seu rendimento em compostos clinicamente relevantes. É imperativo determinar as condições ideais necessárias para o crescimento dos líquenes^[103].

7.2 Potencial terapêutico em doenças específicas

O stress oxidativo, disfunção mitocondrial e neuroinflamação são fatores determinantes associados à doença de Parkinson, o que sugere que compostos antioxidantes e anti-inflamatórios podem constituir tratamento alternativo nesta doença. Deste modo, foi avaliado o efeito neuroprotetor e anti-inflamatório do AU em alterações cerebrais semelhantes às da doença de Parkinson induzidas em murganhos. Foi observado que o AU suprimiu a disfunção motora e atenuou eficazmente alterações neurodegenerativas (perda de neurónios) na substância nigra e corpo estriado. Além disso, os níveis de fatores pró-inflamatórios e ativação de genes inflamatórios foram reduzidos na substância nigra dos animais tratados com AU, confirmando assim a sua capacidade em inibir processos inflamatórios no sistema nervoso central (SNC) e a sua potencial aplicação terapêutica nesta doença e outras associadas à neuroinflamação^[104]. Por sua vez, o ácido evérnico protegeu neurónios contra a morte celular, disfunção mitocondrial e stress oxidativo induzidos por 1-metil-4-fenilpiridinium (MPP+), uma neurotoxina usada para induzir a doença de Parkinson. Além disso, conseguiu melhorar a disfunção motora, a perda neuronal dopaminérgica e reduzir a neuroinflamação na via nigroestriada, que contacta a substância nigra ao corpo estriado e é responsável pela função motora^[105].

Uma das possíveis causas da doença de Alzheimer é o depósito da proteína β -amilóide ($A\beta$) sob a forma de fibras amilóides ou agregados amorfos não-fibrosos, provocando uma transmissão neuronal anómala. A β 1-42 é uma das isoformas mais citotóxicas, cuja agregação no SNC causa neuroinflamação, stress oxidativo e apoptose de células neuronais. Neste sentido, foram testadas diferentes concentrações dos enantiómeros do AU para a redução dos défices cognitivos e inflamação após injeção de $A\beta$ 1-42 em murganhos. Ambos os enantiómeros mostraram uma interação com acetilcolinesterase semelhante à da galantamina e propriedades nootrópicas tendo sido observada melhoria na aprendizagem e memória nos animais^[106]. Noutro estudo, focou-se na modificação estrutural do AU mantendo as suas propriedades anti-inflamatórias, por forma a potenciar a inibição da agregação da proteína Tau (outro elemento importante na patogénese da doença de Alzheimer). Um dos compostos sintetizados, com um grupo ácido p-benzóico, mostrou ser o mais promissor na inibição da agregação desta proteína, reduzindo-a em 52%. Por outro lado, inibiu a libertação de NO pelas células da microglia em 41%, confirmando assim a sua atividade antineuroinflamatória. Por fim,

melhorou a memória espacial, capacidades cognitivas dos murghanos com doença de Alzheimer provocada^[107]. Similarmente, a parietina também demonstrou inibição da agregação da proteína Tau dose-dependente^[108].

Por outro lado, a doença de Alzheimer é também marcada pela insuficiência em acetilcolina. Uma vez que a acetilcolinesterase e butirilcolinesterase são as enzimas responsáveis pela degradação da acetilcolina, a solução para aumentar os níveis deste neurotransmissor é a de inibir estas enzimas^[109]. Neste sentido, a atividade inibitória do AU sobre as enzimas acetilcolinesterase e butirilcolinesterase foi avaliada. Observou-se uma forte inibição destas^[110]. O ácido perlatólico é outro composto a demonstrar esta atividade sobre a acetilcolinesterase semelhante à da galantamina^[111], contrariamente ao ácido lobárico que mostrou inibição moderada^[112].

A Diabetes Mellitus representa um dos maiores problemas de saúde a nível mundial, sendo a sétima maior causa de morte. Uma estratégia essencial para reduzir a glicémia é a de inibir a atividade de enzimas envolvidas na digestão de carboidratos, nomeadamente α -amilase^[113]. Alguns extratos liquénicos têm mostrado capacidade em inibir esta enzima e, dessa forma, induzir efeitos benéficos na redução do ritmo de digestão e assimilação de açúcares, conduzindo assim a uma diminuição da glicémia pós-prandial^[114]. Um exemplo é o extrato de *Usnea articulata* com uma inibição de 60% a uma concentração de 75 mg/ml. Ao analisar a sua composição, detetou-se a presença de AU, protocetrárico e fumarprotocetrárico^[115]. Esta atividade inibitória pode ser atribuída aos compostos fenólicos, na medida em que alguns estudos relatam que a inibição desta enzima é influenciada pelo número de grupos hidroxilo e as suas posições^[114].

A α -glucosidase é outra enzima chave envolvida na digestão de carboidratos. Por isso, a sua inibição é vista como uma estratégia terapêutica na diminuição da glicémia e glicémia pós-prandial. Todavia, comparativamente à α -amilase, existem poucos líquenes que demonstram atividade inibitória, sendo exemplos: *Caloplaca biatorina*, *Ramalina celastri*, *R. nervulosa* e *R. pacifica*. Os ácidos salazínico, sekikaíco e úsnico são alguns metabolitos com capacidade inibitória desta enzima com inibições de 55.1%, 68.1% e 56.3%, respetivamente^[116]. A zeorina, um triterpenóide, é outro metabolito que possui atividade α -glucosidase inibitória forte, comparativamente a acarbose^[114]. O AU, contudo, quando comparado com o extrato do líquen *Usnea sp*, demonstrou atividade inibitória moderada. Isto pode ser explicado pelo fato do extrato conter vários compostos químicos que atuam simultaneamente para inibir a α -glucosidase, enquanto que o AU é um composto isolado que não possui muitos grupos hidroxilo, que desempenham um papel ativo neste alvo^[113]. Por sua vez, num estudo, foram preparados derivados de hidrazida da atranorina, os quais demonstraram uma atividade

inibitória de α -glucosidase mais potente que a atranorina e o controle, acarbose. Contudo, o derivado com um grupo benzil na sua estrutura foi o que exerceu a inibição mais potente, por se ligar a aminoácidos chave no sítio ativo desta enzima^[117].

A proteína tirosina fosfatase IB (PTPIB) é reconhecida como o principal regulador negativo da sinalização da insulina, uma vez que provoca a diminuição da fosforilação dos recetores de insulina, resultando na insulinoresistência em vários tecidos. Alguns compostos responsáveis pela atividade inibitória PTPIB demonstrada por alguns líquenes são a zeorina, os ácidos atrárico, lecanórico, girofórico, lobárico e atranorina, sendo que a potência inibitória parece ficar mais forte com o aumento da lipofilicidade. Desta forma, a zeorina, como sendo o composto mais lipofílico, mostrou maior atividade inibitória. Curiosamente, a zeorina, atranorina e ácido lecanórico demonstraram atividades antidiabéticas em mais do que um parâmetro incluindo inibição da α -glucosidase, da PTPIB e propriedades antiglicosilação, tendo assim maior potencial antidiabético que outros metabolitos^[114]. Por sua vez, o ácido sekikaico demonstrou inibição de α -glucosidase e α -amilase mais fortes que a inibição da proteína tirosina fosfatase IB. Além disso, a sua atividade hipoglicemiante causou uma redução significativa da glicemia. Histologicamente, os pâncreas dos murganhos tratados com este metabolito mostraram aumento significativo do número de células β -pancreáticas^[118].

No entanto, a maioria dos extratos e metabolitos líquenicos reportados como antihiperlicêmicos, foram também relatados separadamente como antioxidantes, inferindo uma boa concordância entre a atividade antioxidante e antidiabética^[114]. Exemplo disto são os extratos de acetato de etilo de *G. ajarekarii* e *P. tinctorum* que, num estudo, apresentaram atividade antioxidante marcadamente superior do que os outros. Assim, a atividade antidiabética destes extratos pode ser devida às suas propriedades antioxidantes^[119].

No que diz respeito ao AU, este induziu melhorias na hiperfagia, hiperglicemia, e proteinúria *in vivo*. Contudo, não preveniu a hipoinsulinemia, o que significa que atua de forma insulino-independente. Os autores deste estudo concluíram que o efeito hipoglicêmico deste ácido está associado ao aumento da glicosúria e diminuição significativa da expressão do transportador SGLT-1, responsável pela reabsorção renal da glicose. Por fim, o tratamento com AU reduziu a urémia, melhorou a função renal e corrigiu alterações oxidativas^[120]. Noutro estudo, foram sintetizados diferentes derivados do (+)-AU, sendo que o derivado contendo um fragmento 4-trifluorometilfenil mostrou o efeito hipoglicemiante mais pronunciado com uma dosagem de 50 mg/kg/dia. Porém, o próprio AU, na mesma dose não demonstrou atividade^[121].

8. Conclusão

Nos últimos anos, existe um forte interesse na caracterização de compostos biologicamente ativos de fontes naturais, nomeadamente líquenes, pelo seu potencial terapêutico em infeções (bacterianas e fúngicas) devido à crescente resistência aos agentes antimicrobianos de uso corrente; em alguns tipos de cancro por opções terapêuticas limitadas devido aos efeitos secundários; no tratamento antiviral dado o surgimento de novos vírus e diversas estirpes o que, conseqüentemente, pode dificultar o controlo das pandemias. Emerge o seu potencial terapêutico em patologias específicas como a doença de Alzheimer, Parkinson, Diabetes *Mellitus*, caracterizadas por uma elevada prevalência mundial^[40]. A síntese de nanopartículas por “métodos verdes” a partir de extratos e metabolitos líquénicos também é uma esperança^[23].

Apesar da vasta diversidade de espécies de líquenes em todo o mundo, o número de espécies estudadas e seus derivados é mínimo^[52]. Embora os líquenes tenham sido utilizados na medicina tradicional em várias culturas, o seu papel na medicina moderna ainda não foi totalmente explorado. A realização de ensaios clínicos com líquenes é uma área de pesquisa que merece uma atenção crescente devido ao seu potencial terapêutico, propriedades farmacológicas, ainda negligenciados. A necessidade de ensaios clínicos com líquenes é de importância vital. Os líquenes contêm mais de mil compostos bioativos identificados, únicos destes organismos, com um leque de atividades farmacológicas muito promissoras. No entanto, a maioria destas atividades foi observada apenas em estudos *in vitro* e *in vivo*, e a eficácia real destes metabolitos em seres humanos ainda requer confirmação. Além disso, a crescente resistência antimicrobiana, a elevada taxa de mortalidade por doença oncológica, as suas opções terapêuticas associadas a efeitos secundários adversos e a procura de tratamentos alternativos/complementares colocam os líquenes num patamar de interesse. O estudo rigoroso sobre segurança e eficácia dos biometabolitos dos líquenes é uma prioridade antes do desenvolvimento de produtos farmacêuticos para uso nas comunidades.

Ensaio clínicos bem desenhados e conduzidos com mestria, podem fornecer dados científicos de confiança, segurança, eficácia, dose terapêutica e efeitos secundários, ajudando na orientação e tratamento de patologias. Desta forma, a realização de ensaios clínicos num futuro próximo, pode abrir portas para novos tratamentos complementares aos disponíveis e abordar questões críticas e preocupantes como a resistência aos antibióticos, tratamento das neoplasias e das pandemias virais.

Neste âmbito, os farmacêuticos desempenham um papel crucial na compreensão das propriedades farmacológicas dos líquenes e no aconselhamento de medicamentos fitoterapêuticos à base destes. Estar ciente das possíveis interações medicamentosas e efeitos

secundários associados a produtos à base de líquenes ajuda a garantir a segurança e eficácia dos mesmos quando associados à terapêutica dos utentes. Em última análise, o conhecimento das potencialidades medicinais dos líquenes oferece mais opções terapêuticas personalizadas, melhorando assim a qualidade de cuidados de saúde prestados à população. Assim, o envolvimento dos farmacêuticos no domínio das propriedades farmacológicas e aconselhamento dos líquenes é da maior importância, pois garante a utilização responsável e informada destes produtos naturais em benefício dos utentes.

9. Referências bibliográficas

1. Nash, T. H. I. (1996). Lichen Biology. *Lichen Biology*, 88–120. https://books.google.com/books/about/Lichen_Biology.html?hl=pt-PT&id=P9y60ac0wbMC
2. Armstrong, R. A. (2017). Adaptation of lichens to extreme conditions. Em *Plant Adaptation Strategies in Changing Environment* (pp. 1–27). Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6744-0_1
3. Ren, M., Jiang, S., Wang, Y., Pan, X., Pan, F., & Wei, X. (2023). Discovery and excavation of lichen bioactive natural products. Em *Frontiers in Microbiology* (Vol. 14). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1177123>
4. Poulsen-Silva, E., Gordillo-Fuenzalida, F., Atala, C., Moreno, A. A., & Otero, M. C. (2023). Bioactive Lichen Secondary Metabolites and Their Presence in Species from Chile. *Metabolites*, 13(7), 805. <https://doi.org/10.3390/metabo13070805>
5. Zakeri, Z., Junne, S., Jäger, F., Dostert, M., Otte, V., & Neubauer, P. (2022). Lichen cell factories: methods for the isolation of photobiont and mycobiont partners for defined pure and co-cultivation. *Microbial Cell Factories*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-022-01804-6>
6. Ranković, B. (2015). Lichen secondary metabolites: Bioactive properties and pharmaceutical potential. *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*, 1–202. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-13374-4/COVER>
7. El-Garawani, I., Emam, M., Elkhateeb, W., El-Seedi, H., Khalifa, S., Oshiba, S., Abou-Ghanima, S., & Daba, G. (2020). In vitro antigenotoxic, antihelminthic and antioxidant potentials based on the extracted metabolites from lichen, *candelariella vitellina*. *Pharmaceutics*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12050477>
8. Poornima, S., Rajivgandhi, G., Maruthupandy, M., Mothana, R. A., Noman, O. M., Nasr, F. A., Ponmurugan, P., Moorthy, I. G., & Sivarajasekar, N. (2022). Statistical modeling and optimization for the production of secondary metabolites by lichen mycobiont isolated from *Parmotrema austrosinense*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101760>

9. Studzińska-Sroka, E., & Dubino, A. (2018). Lichens as a source of chemical compounds with anti-inflammatory activity. Em *Herba Polonica* (Vol. 64, Número 1, pp. 56–64). Sciendo. <https://doi.org/10.2478/hepo-2018-0005>
10. Studzińska-Sroka, E., Majchrzak-Celińska, A., Zalewski, P., Szwajgier, D., Baranowska-Wójcik, E., Kaproń, B., Plech, T., Żarowski, M., & Cielecka-Piontek, J. (2021). Lichen-derived compounds and extracts as biologically active substances with anticancer and neuroprotective properties. *Pharmaceuticals*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/ph14121293>
11. Pejin, B., Tommonaro, G., Iodice, C., Tesevic, V., Vajs, V., & De Rosa, S. (2013). A new depsidone of *Lobaria pulmonaria* with acetylcholinesterase inhibition activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 28(4), 876–878. <https://doi.org/10.3109/14756366.2012.677839>
12. Kello, M., Goga, M., Kotorova, K., Sebova, D., Frenak, R., Tkacikova, L., & Mojzis, J. (2023). Screening Evaluation of Antiproliferative, Antimicrobial and Antioxidant Activity of Lichen Extracts and Secondary Metabolites In Vitro. *Plants*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/plants12030611>
13. Pejin, B., Iodice, C., Bogdanović, G., Kojić, V., & Tešević, V. (2017). Stictic acid inhibits cell growth of human colon adenocarcinoma HT-29 cells. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1240–S1242. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.03.003>
14. Ozturk, S., Erkisa, M., Oran, S., Ulukaya, E., Celikler, S., & Ari, F. (2021). Lichens exerts an anti-proliferative effect on human breast and lung cancer cells through induction of apoptosis. *Drug and Chemical Toxicology*, 44(3), 259–267. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1573825>
15. Manassov, N., Samy, M. N., Datkhayev, U., Avula, B., Adams, S. J., Katragunta, K., Raman, V., Khan, I. A., & Ross, S. A. (2023). Ultrastructural, Energy-Dispersive X-ray Spectroscopy, Chemical Study and LC-DAD-QToF Chemical Characterization of *Cetraria islandica* (L.) Ach. *Molecules*, 28(11). <https://doi.org/10.3390/molecules28114493>
16. Sánchez, M., Ureña-Vacas, I., González-Burgos, E., Divakar, P. K., & Gómez-Serranillos, M. P. (2022). The Genus *Cetraria* s. str.—A Review of Its Botany, Phytochemistry, Traditional Uses and Pharmacology. Em *Molecules* (Vol. 27, Número 15). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27154990>

17. Zugic, A., Jeremic, I., Isakovic, A., Arsic, I., Savic, S., & Tadic, V. (2016). Evaluation of anticancer and antioxidant activity of a commercially available CO₂ supercritical extract of old man's beard (*Usnea barbata*). *PLoS ONE*, *11*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146342>
18. Popovici, V., Bucur, L. A., Schröder, V., Gherghel, D., Mihai, C. T., Caraiane, A., Badea, F. C., Vochița, G., & Badea, V. (2020). Evaluation of the cytotoxic activity of the *Usnea barbata* (L.) F. H. Wigg dry extract. *Molecules*, *25*(8). <https://doi.org/10.3390/molecules25081865>
19. Popovici, V., Bucur, L., Vochita, G., Gherghel, D., Mihai, C. T., Rambu, D., Calcan, S. I., Costache, T., Cucolea, I. E., Matei, E., Badea, F. C., Caraiane, A., & Badea, V. (2021). In vitro anticancer activity and oxidative stress biomarkers status determined by *usnea barbata* (L.) f.h. wigg. dry extracts. *Antioxidants*, *10*(7). <https://doi.org/10.3390/antiox10071141>
20. Tang, J. Y., Wu, K. H., Wang, Y. Y., Farooqi, A. A., Huang, H. W., Yuan, S. S. F., Jian, R. I., Tsao, L. Y., Chen, P. A., Chang, F. R., Cheng, Y. Bin, Hu, H. C., & Chang, H. W. (2020). Methanol extract of *usnea barbata* induces cell killing, apoptosis, and dna damage against oral cancer cells through oxidative stress. *Antioxidants*, *9*(8), 1–18. <https://doi.org/10.3390/antiox9080694>
21. Chae, H. J., Kim, G. J., Deshar, B., Kim, H. J., Shin, M. J., Kwon, H., Youn, U. J., Nam, J. W., Kim, S. H., Choi, H., & Suh, S. S. (2021). Anticancer activity of 2-o-caffeoyl aliphatic acid extracted from the lichen, *usnea barbata* 2017-kl-10. *Molecules*, *26*(13). <https://doi.org/10.3390/molecules26133937>
22. Idamokoro, E. M., Masika, P. J., Muchenje, V., Falta, D., & Green, E. (2014). In-vitro antibacterial sensitivity of *Usnea barbata* lichen extracted with methanol and ethyl-acetate against selected *Staphylococcus* species from milk of cows with mastitis. *Archives Animal Breeding*, *57*(1), 1–9. <https://doi.org/10.7482/0003-9438-57-025>
23. Engel, K., Schmidt, U., Reuter, J., Weckesser, S., Simon-Haarhaus, B., & Schempp, C. M. (2007). *Usnea barbata* extract prevents ultraviolet-B induced prostaglandin E₂ synthesis and COX-2 expression in HaCaT keratinocytes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *89*(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2007.08.002>

24. Morillas, L., Roales, J., Cruz, C., & Munzi, S. (2022). Lichen as Multipartner Symbiotic Relationships. *Encyclopedia*, 2(3), 1421–1431. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2030096>
25. Adenubi, O. T., Famuyide, I. M., McGaw, L. J., & Eloff, J. N. (2022). Lichens: An update on their ethnopharmacological uses and potential as sources of drug leads. Em *Journal of Ethnopharmacology* (Vol. 298). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115657>
26. *Lichen Terminology* . (sem data). Obtido 6 de Setembro de 2023, de <https://www.biology.iastate.edu/lichen-terminology>
27. *Forms and function of lichens*. (sem data). Obtido 4 de Março de 2023, de <https://www.britannica.com/science/fungus/Form-and-function-of-lichens>
28. Jardim Botânico. (sem data). *Introdução a biologia dos líquenes*. <http://biomonitor.ist.utl.pt/biomonitor>
29. *Lichen Biology* . (sem data). Obtido 6 de Setembro de 2023, de <https://britishlichensociety.org.uk/learning/lichen-biology>
30. Grube, M., & Wedin, M. (2016). Lichenized Fungi and the Evolution of Symbiotic Organization. *Microbiology Spectrum*, 4(6). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.funk-0011-2016>
31. Gautam, A. K., Yadav, D., Bhagyawant, S. S., Singh, P. K., & Jin, J. O. (2021). Lichen: A comprehensive review on lichens as a natural sources exploring nutritional and biopharmaceutical benefits. Em *Progress in Nutrition* (Vol. 23, Número 3). Mattioli 1885. <https://doi.org/10.23751/pn.v23i3.9833>
32. Lisici, M., Monte, M., & Pacini, E. (2003). Lichens and higher plants on stone: a review. Em *International Biodeterioration & Biodegradation* (Vol. 51). www.elsevier.com/locate/ibiod
33. WA, E., DE, E.-G., & GM, D. (2022). Surprising Uses of Lichens that Improve Human Life. *Journal of Biomedical Research & Environmental Sciences*, 3(2), 189–194. <https://doi.org/10.37871/jbres1420>
34. Asplund, J., & Wardle, D. A. (2017). How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biological Reviews*, 92(3), 1720–1738. <https://doi.org/10.1111/brv.12305>
35. Little, L. (sem data). *Lichen Life in Antarctica*.

36. Prateeksha, Paliya, B. S., Bajpai, R., Jadaun, V., Kumar, J., Kumar, S., Upreti, D. K., Singh, B. R., Nayaka, S., Joshi, Y., & Singh, B. N. (2016). The genus *Usnea*: A potent phytomedicine with multifarious ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. Em *RSC Advances* (Vol. 6, Número 26, pp. 21672–21696). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c5ra24205c>
37. Matos, P., Vieira, J., Rocha, B., Branquinho, C., & Pinho, P. (2019). Modeling the provision of air-quality regulation ecosystem service provided by urban green spaces using lichens as ecological indicators. *Science of the Total Environment*, 665, 521–530. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.023>
38. Nayaka, S. (2012). *Lichenometry: A technique to date natural hazards*. <https://www.researchgate.net/publication/266137330>
39. Studzińska-Sroka, E., & Zarabska-Bożjewicz, D. (2019). *Hypogymnia physodes* – A lichen with interesting medicinal potential and ecological properties. Em *Journal of Herbal Medicine* (Vols. 17–18). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2019.100287>
40. Calcott, M. J., Ackerley, D. F., Knight, A., Keyzers, R. A., & Owen, J. G. (2018). Secondary metabolism in the lichen symbiosis. Em *Chemical Society Reviews* (Vol. 47, Número 5, pp. 1730–1760). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c7cs00431a>
41. Lakhnarayan Kumar Bhagarathi, Phillip N. B. DaSilva, Gomathinayagam Subramanian, Gyanpriya Maharaj, Sushmita Kalika-Singh, Ferial Pestano, Zenesia Phillips-Henry, & Chalasa Cossiah. (2023). An integrative review of the biology and chemistry of lichens and their ecological, ethnopharmacological, pharmaceutical and therapeutic potential. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 23(3), 092–119. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.23.3.0223>
42. Condò, C., Anfelli, I., Forti, L., Sabia, C., Messi, P., & Iseppi, R. (2023). Lichens as a Natural Source of Compounds Active on Microorganisms of Human Health Interest. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/app13031976>
43. WA, E. (2021). Lichentherapy: Highlights on the Pharmaceutical Potentials of Lichens. *Open Access Journal of Microbiology & Biotechnology*, 6(2), 1–10. <https://doi.org/10.23880/oajmb-16000190>
44. Micheletti, A. C., Honda, N. K., Ravaglia, L. M., Matayoshi, T., & Spielmann, A. A. (2021). Antibacterial potencial of 12 lichen species. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 93(4). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120191194>

45. Studzińska-Sroka, E., Tomczak, H., Malińska, N., Marta Wrońska, Kleszcz, R., Galanty, A., Cielecka-Piontek, J., Latek, D., & Jarosław Paluszczak. (2019). *Cladonia uncialis* as a valuable raw material of biosynthetic compounds against clinical strains of bacteria and fungi. *Acta Biochimica Polonica*, 66(4), 1–7. https://doi.org/10.18388/ABP.2019_2891
46. Achika, J. I., Ayo, R. G., Habila, J. D., & Oyewale, A. O. (2020). Terpenes with antimicrobial and antioxidant activities from *Lanea humilis* (Oliv.). *Scientific African*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2020.e00552>
47. Ureña-Vacas, I., González-Burgos, E., Divakar, P. K., & Gómez-Serranillos, M. P. (2022). Lichen Depsidones with Biological Interest. Em *Planta Medica* (Vol. 88, Número 11, pp. 855–880). Georg Thieme Verlag. <https://doi.org/10.1055/a-1482-6381>
48. Studzińska-Sroka, E., Hołderna-Kędzia, E., Galanty, A., Bylka, W., Kacprzak, K., & Ćwiklińska, K. (2015). In vitro antimicrobial activity of extracts and compounds isolated from *Cladonia uncialis*. *Natural Product Research*, 29(24), 2302–2307. <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1005616>
49. Sahin, E., Dabagoglu Psav, S., Avan, I., Candan, M., Sahinturk, V., & Koparal, A. T. (2019). Vulpinic acid, a lichen metabolite, emerges as a potential drug candidate in the therapy of oxidative stress–related diseases, such as atherosclerosis. *Human and Experimental Toxicology*, 38(6), 675–684. <https://doi.org/10.1177/0960327119833745>
50. Pradhan, S., Dash, S., Parida, S., Sahoo, B., & Rath, B. (2023). Antioxidant and antimicrobial activities and GC/MS-based phytochemical analysis of two traditional Lichen species *Trypethellium virens* and *Phaeographis dendritica*. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-023-00490-0>
51. Carpentier, C., Barbeau, X., Azelmat, J., Vaillancourt, K., Grenier, D., Lagüe, P., & Voyer, N. (2018). Lobaric acid and pseudodepsidones inhibit NF-κB signaling pathway by activation of PPAR-γ. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(22), 5845–5851. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.10.035>
52. Tripathi, A. H., Negi, N., Gahtori, R., Kumari, A., Joshi, P., Tewari, L. M., Joshi, Y., Bajpai, R., Upreti, D. K., & Upadhyay, S. K. (2021). A Review of Anti-Cancer and Related Properties of Lichen-Extracts and Metabolites. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 22(1), 115–142. <https://doi.org/10.2174/1871520621666210322094647>
53. Paździora, W., Podolak, I., Grudzińska, M., Paško, P., Grabowska, K., & Galanty, A. (2023). Critical Assessment of the Anti-Inflammatory Potential of Usnic Acid and Its

Derivatives—A Review. Em *Life* (Vol. 13, Número 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/life13041046>

54. Dar, T. U. H., Dar, S. A., Islam, S. U., Mangral, Z. A., Dar, R., Singh, B. P., Verma, P., & Haque, S. (2022). Lichens as a repository of bioactive compounds: an open window for green therapy against diverse cancers. Em *Seminars in Cancer Biology* (Vol. 86, pp. 1120–1137). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.05.028>
55. Thakur, M., Kapoor, B., Kapoor, D., & Sharma, N. R. (2023). Lichens: A promising source of anti-cancerous activity and their molecular mechanisms. Em *South African Journal of Botany* (Vol. 159, pp. 155–163). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.05.047>
56. Ulus, G. (2021). Antiangiogenic properties of lichen secondary metabolites. Em *Phytotherapy Research* (Vol. 35, Número 6, pp. 3046–3058). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/ptr.7023>
57. Stanojković, T. (2015). Investigations of lichen secondary metabolites with potential anticancer activity. Em *Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential* (pp. 127–146). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-13374-4_5
58. Saha, S., Ray, R., & Paul, S. (2023). In Vitro Screening and In Silico Docking Analysis Identifies Two Novel Compound Lecanoric Acid and Atranorin from *Parmotrema tinctorum*, Exhibiting Potent Anti-Hepatocarcinoma Activity. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 13(6). <https://doi.org/10.33263/BRIAC136.507>
59. Verma, D. G. S. H. P. K. (2020). Lichen as potential armamentarium against the SARS CoV-2 (COVID-19). *International Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4). <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.04.707>
60. Filimonov, A. S., Yarovaya, O. I., Zaykovskaya, A. V., Rudometova, N. B., Shcherbakov, D. N., Chirkova, V. Y., Baev, D. S., Borisevich, S. S., Luzina, O. A., Pyankov, O. V., Maksyutov, R. A., & Salakhutdinov, N. F. (2022). (+)-Usnic Acid and Its Derivatives as Inhibitors of a Wide Spectrum of SARS-CoV-2 Viruses. *Viruses*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/v14102154>
61. Oh, E., Wang, W., Park, K. H., Park, C., Cho, Y., Lee, J. I., Kang, E., & Kang, H. (2022). (+)-Usnic acid and its salts, inhibitors of SARS-CoV-2, identified by using in silico methods and in vitro assay. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-17506-3>

62. Loeanurit, N., Tuong, T. L., Nguyen, V. K., Vibulakhaophan, V., Hengphasatporn, K., Shigeta, Y., Ho, S. X., Chu, J. J. H., Rungrotmongkol, T., Chavasiri, W., & Boonyasuppayakorn, S. (2023). Lichen-Derived Diffractaic Acid Inhibited Dengue Virus Replication in a Cell-Based System. *Molecules*, 28(3). <https://doi.org/10.3390/molecules28030974>
63. Shtro, A. A., Zarubaev, V. V., Luzina, O. A., Sokolov, D. N., Kiselev, O. I., & Salakhutdinov, N. F. (2014). Novel derivatives of usnic acid effectively inhibiting reproduction of influenza A virus. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22(24), 6826–6836. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.10.033>
64. Shtro, A. A., Zarubaev, V. V., Luzina, O. A., Sokolov, D. N., & Salakhutdinov, N. F. (2015). Derivatives of usnic acid inhibit broad range of influenza viruses and protect mice from lethal influenza infection. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 24(3–4), 92–98. <https://doi.org/10.1177/2040206616636992>
65. Fazio, A. T., Adler, T., Bertoni, M. D., Sepú Lveda B, C. S., Damonte, E. B., & Maier, M. S. (2007). Lichen Secondary Metabolites from the Cultured Lichen Mycobionts of *Teloschistes chrysophthalmus* and *Ramalina celastri* and their Antiviral Activities. *Em Z. Naturforsch (Vol. 62)*. <http://www.znaturforsch.com>
66. Macedo, D. C. S., Almeida, F. J. F., Wanderley, M. S. O., Ferraz, M. S., Santos, N. P. S., López, A. M. Q., Santos-Magalhães, N. S., & Lira-Nogueira, M. C. B. (2021). Usnic acid: from an ancient lichen derivative to promising biological and nanotechnology applications. *Em Phytochemistry Reviews (Vol. 20, Número 3, pp. 609–630)*. Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09717-1>
67. Studzinska-Sroka, E., Galanty, A., & Bylka, W. (2017). Atranorin - An Interesting Lichen Secondary Metabolite. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17(17). <https://doi.org/10.2174/1389557517666170425105727>
68. Bhat, N. B., Das, S., Sridevi, B. V. S., Raghu Chandrashekhar, H., Nayaka, S., S, N., Birangal, S. R., Shenoy, G. G., & Joseph, A. (2023). Molecular docking and dynamics supported investigation of antiviral activity of Lichen metabolites of *Roccella montagnei*: an in silico and in vitro study. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. <https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2180666>
69. Odimegwu, D. (2018). Low-dose Sekikaic Acid Modulates Host Immunity and Protects Cells from Respiratory Syncytial Virus Infection. *Biotechnology Journal International*, 21(2), 1–10. <https://doi.org/10.9734/bji/2018/40802>

70. Jüriado, I., & Liira, J. (2010). Threatened forest lichen *Lobaria pulmonaria*. *Forestry Studies*, 53, 15–24. <https://doi.org/10.2478/v10132-011-0086-6>
71. Chirva, O. V., Nikerova, K. M., Androsova, V. I., & Ignatenko, R. V. (2019). Activity of catalase and superoxide dismutase in *Lobaria pulmonaria* from forest communities of middle and northernmost boreal zone (NW Russia). *Czech Polar Reports*, 9(2), 228–242. <https://doi.org/10.5817/CPR2019-2-19>
72. Pejin, B., Tommonaro, G., Iodice, C., Tesevic, V., & Vajs, V. (2012). Acetylcholinesterase inhibition activity of acetylated depsidones from *Lobaria pulmonaria*. *Natural Product Research*, 26(17), 1634–1637. <https://doi.org/10.1080/14786419.2011.585989>
73. Fadime Atalay, by, Odabasoglu, F., Halici, M., Cakir, A., Cadirci, E., Aslan, A., & Aydin Berktas, O. (sem data). *Gastroprotective and Antioxidant Effects of Lobaria pulmonaria and Its Metabolite Rhizonyl Alcohol on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer*.
74. Fadime Atalay, by, Odabasoglu, F., Halici, M., Cakir, A., Cadirci, E., Aslan, A., & Aydin Berktas, O. (sem data). *Gastroprotective and Antioxidant Effects of Lobaria pulmonaria and Its Metabolite Rhizonyl Alcohol on Indomethacin-Induced Gastric Ulcer*.
75. Atalay, F., Halici, M. B., Mavi, A., Cakir, A., Odabaşoğlu, F., Kazaz, C., Aslan, A., & Küfrevioğlu, Ö. I. (2011). Antioxidant phenolics from *Lobaria pulmonaria* (L.) Hoffm. and *Usnea longissima* Ach. Lichen species. *Turkish Journal of Chemistry*, 35(4), 647–661. <https://doi.org/10.3906/kim-1008-847>
76. De Barros Alves, G. M., De Sousa Maia, M. B., De Souza Franco, E., Galvão, A. M., Da Silva, T. G., Gomes, R. M., Martins, M. B., Da Silva Falcão, E. P., De Castro, C. M. M. B., & Da Silva, N. H. (2014). Expectorant and antioxidant activities of purified fumarprotocetraric acid from *Cladonia verticillaris* lichen in mice. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 27(2), 139–143. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2013.07.002>
77. Fernández-Moriano, C., Divakar, P. K., Crespo, A., & Gómez-Serranillos, M. P. (2017). In vitro neuroprotective potential of lichen metabolite fumarprotocetraric acid via intracellular redox modulation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 316, 83–94. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.12.020>
78. Xu, M., Heidmarsson, S., Olafsdottir, E. S., Buonfiglio, R., Kogej, T., & Omarsdottir, S. (2016). Secondary metabolites from cetrarioid lichens: Chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential. Em *Phytomedicine* (Vol. 23, Número 5, pp. 441–459). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.012>

79. Bessadóttir, M., Eiríksson, F. F., Becker, S., Ögmundsdóttir, M. H., Ómarsdóttir, S., Thorsteinsdóttir, M., & Ögmundsdóttir, H. M. (2015). Anti-proliferative and pro-apoptotic effects of lichen-derived compound protolichesterinic acid are not mediated by its lipoygenase-inhibitory activity. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 98, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2015.04.009>
80. Rassabina, A. E., Gurjanov, O. P., Beckett, R. P., & Minibayeva, F. V. (2020). Melanin from the Lichens *Cetraria islandica* and *Pseudevernia furfuracea*: Structural Features and Physicochemical Properties. *Biochemistry (Moscow)*, 85(5), 623–628. <https://doi.org/10.1134/S0006297920050119>
81. Yildirim, A. B., Çobanoğlu, G., Zeynep Yavuz, M., & Turker, A. U. (2017). DETERMINATION OF BIOLOGICAL ACTIVITIES (ANTIBACTERIAL, ANTIOXIDANT AND ANTIPROLIFERATIVE) AND METABOLITE ANALYSIS OF SOME LICHEN SPECIES FROM TURKEY. <https://www.researchgate.net/publication/315769008>
82. Makarevich, E. V., Filippova, E. I., Sedel'nikova, N. V., Mazurkov, O. Yu., Protsenko, M. A., Shishkina, L. N., & Mazurkova, N. A. (2023). Anti-Influenza Activity of *Cetraria islandica* Lichen Extracts in In Vitro Experiments. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 175(2), 215–218. <https://doi.org/10.1007/s10517-023-05837-8>
83. Freysdóttir, J., Ómarsdóttir, S., Ingólfssdóttir, K., Víkingsson, A., & Ólafsdóttir, E. S. (2008). In vitro and in vivo immunomodulating effects of traditionally prepared extract and purified compounds from *Cetraria islandica*. *International Immunopharmacology*, 8(3), 423–430. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2007.11.007>
84. Surayot, U., Yelithao, K., Tabarsa, M., Lee, D. H., Palanisamy, S., Marimuthu Prabhu, N., Lee, J. H., & You, S. G. (2019). Structural characterization of a polysaccharide from *Cetraria islandica* and assessment of immunostimulatory activity. *Process Biochemistry*, 83, 214–221. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.05.022>
85. Farmácia Moderna. (sem data). SUPRACARE . Obtido 6 de Setembro de 2023, de <https://farmaciamedernavf.pt/pt/inicio/prod/supracare-xarope-frasco-lun-200ml>
86. Pharma Scalabis. (sem data). Aquilea Xarope Tosse Forte . Obtido 6 de Setembro de 2023, de <https://www.pharmascalabis.com.pt/store/aquilea-xarope-tosse-forte-l50ml/>
87. Farmácia Martins. (sem data). ALITUSSIN . Obtido 6 de Setembro de 2023, de <https://farmaciarmartins.com/product/alitussin-250ml/>

88. Basiouni, S., Fayed, M. A. A., Tarabees, R., El-Sayed, M., Elkhatam, A., Töllner, K. R., Hessel, M., Geisberger, T., Huber, C., Eisenreich, W., & Shehata, A. A. (2020). Characterization of sunflower oil extracts from the lichen *usnea barbata*. *Metabolites*, *10*(9), 1–16. <https://doi.org/10.3390/metabo10090353>
89. Popovici, V., Bucur, L., Gîrd, C. E., Rambu, D., Calcan, S. I., Cucolea, E. I., Costache, T., Ungureanu-luga, M., Oroian, M., Mironeasa, S., Schröder, V., Ozon, E. A., Lupuliasa, D., Caraiane, A., & Badea, V. (2022). Antioxidant, Cytotoxic, and Rheological Properties of Canola Oil Extract of *Usnea barbata* (L.) Weber ex F.H. Wigg from Călimani Mountains, Romania. *Plants*, *11*(7). <https://doi.org/10.3390/plants11070854>
90. Idamokoro, E. M., Masika, P. J., Muchenje, V., Falta, D., & Green, E. (2014). In-vitro antibacterial sensitivity of *Usnea barbata* lichen extracted with methanol and ethyl-acetate against selected *Staphylococcus* species from milk of cows with mastitis. *Archives Animal Breeding*, *57*(1), 1–9. <https://doi.org/10.7482/0003-9438-57-025>
91. Bucur, L., Popovici, V., & Badea, V. (sem data). *Comparative Study Between Antioxidant Activity and Antibacterial Effect of Usnea barbata (L)F.H.Wigg Extracts and Volatile Oils Marked in Romania*.
92. Popovici, V., Matei, E., Cozaru, G. C., Bucur, L., Gîrd, C. E., Schröder, V., Ozon, E. A., Musuc, A. M., Mitu, M. A., Atkinson, I., Rusu, A., Petrescu, S., Mitran, R. A., Anastasescu, M., Caraiane, A., Lupuliasa, D., Aschie, M., & Badea, V. (2022). In Vitro Anticancer Activity of Mucoadhesive Oral Films Loaded with *Usnea barbata* (L.) F. H. Wigg Dry Acetone Extract, with Potential Applications in Oral Squamous Cell Carcinoma Complementary Therapy. *Antioxidants*, *11*(10). <https://doi.org/10.3390/antiox11101934>
93. Goga, M., Baláž, M., Daneu, N., Elečko, J., Tkáčiková, Ľ., Marcinčinová, M., & Bačkor, M. (2021). Biological activity of selected lichens and lichen-based Ag nanoparticles prepared by a green solid-state mechanochemical approach. *Materials Science and Engineering C*, *119*. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111640>
94. Siddiqi, K. S., Rashid, M., Rahman, A., Husen, A., & Rehman, S. (2018). Biogenic fabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous-ethanolic extract of lichen (*Usnea longissima*) and their antimicrobial activity. *Biomaterials Research*, *22*(1). <https://doi.org/10.1186/s40824-018-0135-9>
95. Hamida, R. S., Ali, M. A., Abdelmeguid, N. E., Al-Zaban, M. I., Baz, L., & Bin-Meferij, M. M. (2021). Lichens—a potential source for nanoparticles fabrication: A review on

nanoparticles biosynthesis and their prospective applications. Em *Journal of Fungi* (Vol. 7, Número 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/jof7040291>

96. Balčiūnaitienė, A., Štreimikytė, P., Puzerytė, V., Viškelis, J., Štreimikytė-Mockeliūnė, Ž., Maželienė, Ž., Sakalauskienė, V., & Viškelis, P. (2022). Antimicrobial Activities against Opportunistic Pathogenic Bacteria Using Green Synthesized Silver Nanoparticles in Plant and Lichen Enzyme-Assisted Extracts. *Plants*, 11(14). <https://doi.org/10.3390/plants11141833>
97. da Silva Santos, N. P., Nascimento, S. C., Wanderley, M. S. O., Pontes-Filho, N. T., da Silva, J. F., de Castro, C. M. M. B., Pereira, E. C., da Silva, N. H., Honda, N. K., & Santos-Magalhães, N. S. (2006). Nanoencapsulation of usnic acid: An attempt to improve antitumour activity and reduce hepatotoxicity. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64(2), 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2006.05.018>
98. Lira, M. C. B., Ferraz, M. S., da Silva, D. G. V. C., Cortes, M. E., Teixeira, K. I., Caetano, N. P., Sinisterra, R. D., Ponchel, G., & Santos-Magalhães, N. S. (2009). Inclusion complex of usnic acid with β -cyclodextrin: Characterization and nanoencapsulation into liposomes. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 64(3–4), 215–224. <https://doi.org/10.1007/s10847-009-9554-5>
99. Martinelli, A., Bakry, A., D'Ilario, L., Francolini, I., Piozzi, A., & Taresco, V. (2014). Release behavior and antibiofilm activity of usnic acid-loaded carboxylated poly(L-lactide) microparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 88(2), 415–423. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2014.06.002>
100. Ferraz-Carvalho, R. S., Pereira, M. A., Linhares, L. A., Lira-Nogueira, M. C. B., Cavalcanti, I. M. F., Santos-Magalhães, N. S., & Montenegro, L. M. L. (2016). Effects of the encapsulation of usnic acid into liposomes and interactions with antituberculous agents against multidrug-resistant tuberculosis clinical isolates. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(5), 330–334. <https://doi.org/10.1590/0074-02760150454>
101. Cavalcanti, I. M. F., Menezes, T. G. C., Campos, L. A. de A., Ferraz, M. S., Maciel, M. A. V., Caetano, M. N. P., & Santos-Magalhães, N. S. (2018). Interaction study between vancomycin and liposomes containing natural compounds against methicillin-resistant staphylococcus aureus clinical isolates. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54(2). <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000200203>
102. Ni, Z., Nie, X., Zhang, H., Wang, L., Geng, Z., Du, X., Qian, H., Liu, W., & Liu, T. (2022). Atranorin driven by nano materials SPION lead to ferroptosis of gastric cancer stem

cells by weakening the mRNA 5-hydroxymethylcytidine modification of the Xc-/GPX4 axis and its expression. *International Journal of Medical Sciences*, 19(11), 1680–1694. <https://doi.org/10.7150/ijms.73701>

103. European Medicines Agency. (2014). *Assessment report on Cetraria islandica (L.) Acharius s.l., thallus*. www.ema.europa.eu
104. Elkhateeb, W. A., & Daba, G. M. (sem data). *Lichens, an Alternative Drugs for Modern Diseases Safe and economic Cocktail Enzymes View project*. <https://www.researchgate.net/publication/337709395>
105. Lee, S., Lee, Y., Ha, S., Chung, H. Y., Kim, H., Hur, J. S., & Lee, J. (2020). Anti-inflammatory effects of usnic acid in an MPTP-induced mouse model of Parkinson's disease. *Brain Research*, 1730. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146642>
106. Lee, S., Suh, Y. J., Yang, S., Hong, D. G., Ishigami, A., Kim, H., Hur, J. S., Chang, S. C., & Lee, J. (2021). Neuroprotective and anti-inflammatory effects of evernic acid in an MPTP-induced parkinson's disease model. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 1–18. <https://doi.org/10.3390/ijms22042098>
107. Cazarin, C. A., Dalmagro, A. P., Gonçalves, A. E., Boeing, T., Silva, L. M. da, Corrêa, R., Klein-Júnior, L. C., Pinto, B. C., Lorenzetti, T. S., Sobrinho, T. U. da C., Fátima, Â. de, Lage, T. C. de A., Fernandes, S. A., & Souza, M. M. de. (2021). Usnic acid enantiomers restore cognitive deficits and neurochemical alterations induced by A β 1–42 in mice. *Behavioural Brain Research*, 397. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112945>
108. Shi, C. J., Peng, W., Zhao, J. H., Yang, H. L., Qu, L. L., Wang, C., Kong, L. Y., & Wang, X. B. (2020). Usnic acid derivatives as tau-aggregation and neuroinflammation inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 187. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111961>
109. Cornejo, A., Salgado, F., Caballero, J., Vargas, R., Simirgiotis, M., & Areche, C. (2016). Secondary metabolites in ramalina terebrata detected by UHPLC/ESI/MS/MS and identification of parietin as tau protein inhibitor. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). <https://doi.org/10.3390/ijms17081303>
110. A, K. (2021). Could Lichens Cure Alzheimer's Disease? *Journal of Bacteriology and Mycology*, 8(7). <https://doi.org/10.26420/jbacteriolmycol.2021.1191>

111. Cetin Cakmak, K., & Gülçin, İ. (2019). Anticholinergic and antioxidant activities of usnic acid-an activity-structure insight. *Toxicology Reports*, 6, 1273–1280. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.11.003>
112. Reddy, R. G., Veeraval, L., Maitra, S., Chollet-Krugler, M., Tomasi, S., Dévéhat, F. L. Le, Boustie, J., & Chakravarty, S. (2016). Lichen-derived compounds show potential for central nervous system therapeutics. *Phytomedicine*, 23(12), 1527–1534. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.08.010>
113. Thadhani, V. M., Naaz, Q., Iqbal Choudhary, M., Ahmed Mesaik, M., & Karunaratne, V. (2014). Enzyme inhibitory and immunomodulatory activities of the depsidone lobaric acid extracted from the lichen *Heterodermia* sp. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 42(2), 193–196. <https://doi.org/10.4038/jnsfsr.v42i2.6988>
114. Maulidiyah, M., Darmawan, A., Wahyu, W., Musdalifah, A., Salim, L. O. A., & Nurdin, M. (2022). Potential of Usnic Acid Compound from Lichen Genus *Usnea* sp. as Antidiabetic Agents. *Journal of Oleo Science*, 71(1), 127–134. <https://doi.org/10.5650/JOS.ESS21211>
115. Thadhani, V. M., & Karunaratne, V. (2017). Potential of Lichen Compounds as Antidiabetic Agents with Antioxidative Properties: A Review. Em *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2017). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2017/2079697>
116. Valadbeigi, T., & Shaddel, M. (sem data). *Amylase inhibitory activity of some macrolichens in Mazandaran province, Iran*. www.phypha.ir/ppj
117. Verma, N., Behera, B. C., Sharma, B. O., Hacettepe, I., Biol, J., Verma, N., Behera, C., & Sharma, B. O. (2012). Glucosidase Inhibitory and Radical Scavenging Properties of Lichen Metabolites Salazinic Acid, Sekikaic Acid and Usnic Acid Lichen Metabolitleri Salazininik, Sekikaik ve Usnik Asitin Glikosidaz Engelleyici ve Radikal Süpürücü Özelliği Research Article. Em *& Chem* (Vol. 40, Número 1).
118. Duong, T. H., Paramita Devi, A., Tran, N. M. A., Phan, H. V. T., Huynh, N. V., Sichaem, J., Tran, H. D., Alam, M., Nguyen, T. P., Nguyen, H. H., Chavasiri, W., & Nguyen, T. C. (2020). Synthesis, α -glucosidase inhibition, and molecular docking studies of novel N-substituted hydrazide derivatives of atranorin as antidiabetic agents. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(17). <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2020.127359>
119. Tatipamula, V. B., Annam, S. S. P., Nguyen, H. T., Polimati, H., & Yejella, R. P. (2021). Sekikaic acid modulates pancreatic β -cells in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats

by inhibiting digestive enzymes. *Natural Product Research*, 35(23), 5420–5424.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1775226>

120. Nutraceutical value of lichens, *Graphis ajarekarii* and *Parmotrema tinctorum* and their implications in diabetes. (2018). <https://www.researchgate.net/publication/328413664>

121. DigitalCommons, M., Amin Sanket N Patel Sunil Kumar, R. P., & Zito Michael A Barletta, W. S. (sem data). *Effects of Usnic Acid on Hyperglycemia and Renal Function in Effects of Usnic Acid on Hyperglycemia and Renal Function in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Streptozotocin-Induced Diabetic Rats*. <https://doi.org/10.29011/ANMC-119>

122. Luzina, O. B. S. K. M. T. T. S. N. (sem data). *Synthesis and pharmacological evaluation of usnic acid derivatives as hypoglycemic agents*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1877622/v1>