Revista CADERNO PEDAGÓGICO

REVISTA CADERNO PEDAGÓGICO – Studies Publicações Ltda.
ISSN: 1983-0882

Efeito antiviral dos compostos isolados de flores de *Arrabidaea brachypoda* contra SARS-COV-2

Antiviral effect of compounds isolated from *Arrabidaea brachypoda* flowers against SARS-COV-2

Efecto antiviral de compuestos aislados de flores de *Arrabidaea brachypoda* frente al SARS-COV-2

DOI: 10.54033/cadpedv21n8-056

Originals received: 07/05/2024
Acceptance for publication: 07/26/2024

Washington Kleber Rodrigues Lima
Mestre em Bioquímica
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: kleberlima2007@gmail.com

Cláudia Quintino da Rocha
Doutora em Química Orgânica
Instituição: Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Araraquara
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: rocha.claudia@ufma.br

Robertha Lemes
Doutora em Biologia Celular e Molecular
Instituição: Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz-RJ)
Endereço: Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil
E-mail: roberthalemes@hotmail.com

Tiago Nicoliche
Doutor em Ciências da Saúde
Instituição: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo (FCMSCSP)
Endereço: São Paulo, São Paulo, Brasil
E-mail: tnicoliche@hotmail.com

Claudia Zeneida Gomes Parente Alves Lima
Mestre em Bioquímica
Instituição: Universidade Federal de Pernambuco
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: claudia001176@ceuma.com.br

Mario Hiroyuki Hirata
Pós-doutor em Ciências Biológicas pelo Center for Biological Evaluation and Research
Instituição: Food and Drug Administration
Endereço: São Paulo, São Paulo, Brasil
E-mail: mhhirata@usp.br

Glaucio Monteiro Ferreira
Doutor em Ciências Farmacêuticas
Instituição: Universidade de São Paulo
Endereço: São Paulo, São Paulo, Brasil
E-mail: glauciom.ferreira@gmail.com

Lidio Gonçalves Lima-Neto
Doutor em Ciências Farmacêuticas
Instituição: Universidade de São Paulo
Endereço: São Luís, Maranhão, Brasil
E-mail: lidio.neto@ceuma.br

RESUMO

A pandemia da COVID-19 teve um impacto global significativo devido ao elevado número de casos e mortes notificados. Apesar de vários medicamentos serem testados, poucos são eficazes e, devido à elevada taxa de mutação do SARS-CoV-2, os medicamentos disponíveis são limitados na sua utilização, daí a necessidade de obtenção de novas moléculas com atividade anti-SARS-CoV-2. Nesse sentido, utilizamos modelos in vitro para testar a atividade antiviral de dois compostos isolados: Quercitrina (Q) e Rutina (R) isolados das flores de *Arrabidaea braquipoda*. A análise de citotoxicidade demonstrou que as moléculas Q e R nas concentrações de 50 µM e 100 µM, respectivamente, não apresentaram citotoxicidade significativa quando testadas em células humanas de epitélio alveolar basal (A549) e células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y). Ao avaliar a atividade antiviral em células VERO-E6, observou-se que os compostos isolados (Q e R) não reduziram a carga viral do SARS-CoV-2. Em conclusão, estudos adicionais são necessários para explorar o potencial efeito antiviral de novas moléculas contra o vírus SARS-CoV-2.

Palavras-chave: Antivirais. COVID 19. Compostos Bioativos. SARS-CoV2.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic has had a significant global impact due to the high number of reported cases and deaths. Despite testing various medications, few are effective, and due to the high mutation rate of SARS-CoV-2, the available drugs are limited in their use. Hence, there is a need to develop new molecules with anti-SARS-CoV-2 activity. In this context, we used in vitro models to test the antiviral activity of two isolated compounds: Quercitrin (Q) and Rutin (R), which were extracted from the flowers of Arrabidaea braquipoda. Cytotoxicity analysis showed that molecules Q and R, at concentrations of 50 µM and 100 µM,

respectively, did not exhibit significant cytotoxicity when tested on human alveolar basal epithelial cells (A549) and human neuroblastoma cells (SH-SY5Y). However, when evaluating antiviral activity in VERO-E6 cells, the isolated compounds (Q and R) did not reduce the viral load of SARS-CoV-2. In conclusion, further studies are needed to explore the potential antiviral effects of these new molecules against the SARS-CoV-2 virus

Keywords: Antivirals. COVID 19. Bioactive Compounds. SARS-CoV2.

RESUMEN

La pandemia de COVID-19 ha tenido un impacto global significativo debido al elevado número de casos y muertes reportados. A pesar de que se han probado varios medicamentos, pocos son efectivos y, debido a la alta tasa de mutación del SARS-CoV-2, los medicamentos disponibles están limitados en su uso, lo que hace necesario obtener nuevas moléculas con actividad anti-SARS-CoV-2. En este sentido, utilizamos modelos in vitro para evaluar la actividad antiviral de dos compuestos aislados: la quercitrina (Q) y la rutina ®, extraídas de las flores de Arrabidaea braquipoda. El análisis de citotoxicidad demostró que las moléculas Q y R, en concentraciones de 50 µM y 100 µM, respectivamente, no mostraron citotoxicidad significativa cuando se probaron en células humanas de epitelio alveolar basal (A549) y células de neuroblastoma humano (SH-SY5Y). Al evaluar la actividad antiviral en células VERO-E6, se observó que los compuestos aislados (Q y R) no redujeron la carga viral del SARS-CoV-2. En conclusión, se requieren estudios adicionales para explorar el potencial efecto antiviral de nuevas moléculas contra el virus SARS-CoV-2.

Palabras clave: Antivirales. COVID-19. Compuestos Bioactivos. SARS-CoV-2.

1 INTRODUÇÃO

As infecções virais são consideradas um problema frequente de saúde pública e representam uma das principais causas de doenças em todo o mundo, como resultado do aumento da migração, das viagens globais e da urbanização. Os vírus são responsáveis por uma série de patologias, sendo as mais comuns o vírus da imunodeficiência humana (HIV), o vírus herpes simplex, o vírus da hepatite (AE), o vírus influenza e o vírus da dengue (Denaro, Smeriglio *et al*. 2020) . Os vírus são caracterizados através do seu genoma (RNA ou DNA) que é coberto por proteínas específicas ou pode apresentar um envelope contendo lipídios. Esses organismos utilizam o mecanismo de reprodução da célula hospedeira para sua replicação e também exibem inúmeras estratégias de

invasão para invasão de células hospedeiras devido a diversos fatores, como sua variação genética, configuração única de moléculas de superfície e replicação relacionada aos recursos da célula hospedeira (Piralla, Chen *et al*. 2023) .

Coronaviridae é uma família de vírus com genomas de RNA de sentido positivo que causam infecções respiratórias em diversos animais, incluindo aves e mamíferos. De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus, os coronavírus são categorizados em quatro gêneros: α -coronavírus, β -coronavírus, γ -coronavírus e δ -coronavírus (Zhou, Yang *et al*. 2021) . Sabe-se que sete tipos de coronavírus infectam hospedeiros humanos e causam doenças respiratórias, incluindo o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV), ambos zoonóticos e altamente patogênicos e responsáveis por causar doenças regionais. e surtos globais.

O SARS-CoV-2 é o agente etiológico do novo coronavírus, pertencente ao gênero β-coronavírus. Este vírus causou recentemente um surto pandémico mundial que se tornou uma ameaça à saúde pública em todo o mundo, registando mais de 27,9 milhões de casos de infecção e 905.000 mortes até Setembro de 2020, aumentando em 2021, atingindo 50 milhões de casos e 1,2 milhões de mortes notificadas (Buowari e Ogundipe 2021) . Atualmente, de acordo com a OMS, a pandemia de COVID-19 relatou mais de 500 milhões de casos e mais de 6 milhões de mortes.

O potencial de propagação viral (R0) do SARS-CoV- 2 foi estabelecido em 2,2, variando entre 1,4 e 6,5, dependendo do grau de proteção individual da comunidade. Embora a infecção tenha sido inicialmente classificada como zoonótica, durante a pandemia tornou-se claro que a infecção entre humanos é o modelo de transmissão mais frequente (Buowari e Ogundipe 2021) , que ocorre através da libertação de aerossóis dos portadores do SARS-CoV. -2, principalmente em ambientes fechados através das vias aéreas superiores ou mucosa ocular. Casos de reinfecção têm sido frequentemente notificados e preocupam a comunidade científica relativamente ao surgimento de novas estirpes de SARS-CoV-2, sendo já observada a nível mundial a existência de

mais do que uma estirpe de SARS-CoV-2.

A patogenicidade do COVID-19 é variada devido às diferenças entre os genomas das cepas. Testes genômicos comparativos identificaram cepas de tge tipo S (~30%) e L (~70%), sendo S mais agressiva e, portanto, mais contagiosa (Tang, Tran *et al*. 2023) . Febre (88,7%) e tosse (67,8%) são os sintomas mais comuns, seguidos de fadiga (38,1%), produção de expectoração em 33,4% e falta de ar em 18,6%, entre outros (Guan, Zhao *et al*. 2022) . O grupo mais suscetível a apresentar síndrome respiratória aguda grave e diversas complicações da COVID-19 são os idosos e aqueles com síndromes metabólicas (diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares). Na ausência de tratamento, o quadro pode evoluir para síndrome respiratória aguda grave, choque séptico, problemas hematológicos gerais (coagulação e acidose metabólica), levando à morte em poucos dias (Shivalkar, Pingali *et al*. 2021) .

Muitas doenças virais permanecem sem imunização eficaz, e apenas uma pequena parcela dos medicamentos é licenciada para uso clínico, com muitos deles perdendo a sua eficácia, à medida que os vírus adquirem mutações genómicas ao longo do tempo (Yu, Lau *et al*. 2021) . Relativamente à COVID-19, foram identificadas, a nível mundial, 331 vacinas em desenvolvimento contra o SARS-CoV-2, muitas das quais se encontram em fase pré-clínica e clínica, estando outras em estado de registo sanitário ou aprovadas por muitos países para utilização de emergência. As vacinas aprovadas possuem diferentes percentuais de eficiência, restrições de faixa etária, restrições para gestantes, crianças, pessoas com alguma comorbidade, e são produzidas com tecnologia de alto custo, o que eleva os preços de compra dessas vacinas.

Além disso, medicamentos como cloroquina ou hidroxicloroquina, ivermectina, vitaminas D, C e Zinco e hidroxicloroquina associada à azitromicina, lopinavir e ritonavir foram utilizados como tentativa de tratamento precoce do SARS-CoV-2, embora ineficazes no controle ou redução das cargas virais. Em vez disso, estes medicamentos podem causar uma série de efeitos colaterais leves a graves, como diarreia, náusea, taquicardia, hipersensibilidade, falta de ar, sintomas gastrointestinais, fraqueza muscular, hepatoxicidade, hipotensão, coma, hipervitaminose e calcificação de tecidos moles, entre outros (De Gregori,

Falaschi *et al* .

O antiviral Rendesivir é o primeiro medicamento aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária para o tratamento da COVID-19 no Brasil. A sua venda em farmácias comunitárias ainda não foi autorizada e é administrado apenas em hospitais. Porém, novos estudos devem ser realizados para apresentar dados adicionais sobre o produto ao longo de sua utilização, bem como sua eficácia na prevenção da progressão da doença e seus efeitos colaterais. Além disso, compostos de origem natural, como extratos de perilla e sálvia, demonstraram resultados promissores, inibindo significativamente a replicação in vitro do SARS-CoV-2 (Le-Trilling, Mennerich *et al*. 2022), bem como os flavonóides quercetina e miricetina, que demonstrou atividade antiviral in silico e in vitro (Kaul, Paul *et al*. 2021).

O gênero Arrabidaea, pertencente à família Bignoniaceae, compreende cerca de 170 espécies vegetais distribuídas do México à Argentina, incluindo o bioma cerrado brasileiro. As espécies que compõem este gênero são utilizadas na medicina tradicional como agentes adstringentes, antioxidantes, antiinflamatórios, antimicrobianos, antitumorais e cicatrizantes (Zorn, García-Piñeres *et al*. 2001, Leite, Oliveira *et al*. 2006, Martin, Hay *et al*. 2006, Martin, Hay *et al*. al. 2008). Alguns documentos brasileiros descrevem diferentes compostos obtidos de Fridericia spp., bem como sua incorporação em composições farmacêuticas, com atividade antiparasitária, antiulcerogênica, entre outras. Fridericia platyphylla é popularmente conhecida como “cipó”. una”, “cervejinha-do-campo” e “tintureiro” e tradicionalmente utilizadas no tratamento de cálculos renais e dores articulares, e suas flores já demonstraram potenciais efeitos antimicrobianos, sendo potenciais candidatas à obtenção de moléculas ativas contra o SARS-CoV2. Nesse sentido, este é o primeiro estudo que descreve o uso de moléculas de flores de *Fridericia platyphylla* para o tratamento da COVID-19 (SARS-CoV-2). Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial efeito antiviral das moléculas Q e R contra o SARS-CoV-2.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O referencial teórico em um estudo compreende uma análise crítica e organizada da literatura pertinente ao tema, fornecendo uma contextualização teórica e definindo os conceitos-chave. Deve conter de maneira abrangente as teorias, modelos e pesquisas anteriores, identificando lacunas, contradições e consensos na literatura que são importantes para o foco do trabalho que está sendo desenvolvido.

3 METODOLOGIA

3.1 REAGENTES

Água, metano (MeOH), etanol (EtOH)(98%, Isofar , Duque de Caixas, Rio de Janeiro, BR). Ddclorometano (DCM) (99,5%), Hexano (99%), Acetato de Etila (EtOAc) (99,5%) e Ácido Acético (99,5%) foram adquiridos da Êxodo Científica (Sumaré , São Paulo, BR).

3.2 ESPÉCIMES DE PLANTAS

Fridericia platyphylla foram coletados no bioma cerrado do estado de Minas Gerais, no município de João Pinheiro (latitude 17°44′33″ Sul e longitude 46°10′21″Oeste). A identificação taxonômica foi realizada pelo Herbário José Badine da Universidade Federal de Ouro Preto e registada sob o número 17.935. A coleta de material vegetal foi autorizada pelo Conselho Gestor do Patrimônio Genético Brasileiro (SisGen), sob registro A451DE4.

3.3 EXTRATOS DE AMOSTRA

Os extratos foram obtidos de flores de Fridericia platyphylla (500 g) trituradas em moinho de facas e submetidas a um processo de extração exaustivo utilizando um coador e uma relação etanol/água de 7:3 utilizada como

solvente extrator. O extrato foi então concentrado em rotavaporador (Fisaton , São Paulo, SP) com pressão reduzida e temperatura máxima de 40°C e liofilizado, resultando no produto puro.

3.4 FRAÇÃO DICLOROMETANO OBTIDA DO EXTRATO ETANÓLICO DA FLOR DE *Fridericia platyphylla*

Cerca de 6,2 g do extrato etanólico obtido anteriormente foram dissolvidos em 100 mL de uma solução 7:3 de água/MeOH e 25 mL de DCM à temperatura ambiente. A separação de fases foi realizada em funil de separação no escuro, no qual a mistura foi agitada vigorosamente para facilitar a separação e depois deixada em repouso até atingir o equilíbrio. A fase orgânica foi removida e submetida a uma segunda extração misturando com 25 mL de DCM e repetindo o processo. Este processo foi repetido três vezes, até que a fase orgânica ficasse incolor quando misturada com a fase aquosa, aumentando a eficiência da extração. A fase orgânica foi então seca em rotavaporador (Fisaton, São Paulo, SP),

3.5 EXTRAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS ATIVOS DE FLORES DE *Fridericia platyphylla*

A fase orgânica foi primeiramente purificada em coluna de vidro aberta com fase estacionária composta de sílica gel 60 (0,063-0,200 mm) (Merck, New Jersey, EUA) na proporção em peso de 1:3. A coluna foi preenchida com hexano e a amostra colocada no topo da coluna. Um gradiente crescente de polaridade do solvente foi utilizado como fase móvel, empregando hexano/ EtOAc e EtOAc /MeOH. No total, 300 frações foram obtidas e agrupadas por cromatografia em camada delgada (TLC) de acordo com a similaridade de seus perfis utilizando DCM/MeOH (9:1) como fase móvel e ácido sulfúrico-p-anisaldeído como revelador. As frações obtidas na coluna cromatográfica foram então analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um espectrômetro de massas.

Foi utilizado um sistema HPLC acoplado a um detector SPA-10A UV-VIS e um espectrômetro de massas Amazon X (Bruker, Massachusetts, EUA), equipado com ionização por electrospray (ESI) e análise multiplex de estágios de fragmentação usando um ion-trap (IT). analisador em modo positivo. As separações foram realizadas utilizando coluna Luna C18 Ultra (5 µm x 4,6 µm x 250 µm) e eluição em grade de 80 minutos, com condição inicial de 95% A durante 30 minutos e vazão de 1 mL min -1 . As fases móveis utilizadas foram compostas por 2% de ácido acético em água (fase A) e 0,01% de ácido acético em MeOH (fase B). As medições de absorvância foram realizadas em 210 e 254 nm, e os espectros de UV (PDA) foram coletados entre 190 e 600 nm, em incrementos de 1 nm. Um volume de injeção de 20 µL usado para cada amostra. A análise por espectrômetro de massas foi realizada com tensão capilar de 5 kV, temperatura capilar de 275 °C, fluxo de gás de arraste (N2) de 8 L min-1 e pressão do nebulizador de nitrogênio de 10 psi. A faixa de massa para aquisição iniciou em 100 Da e terminou em 2.000 Da, com múltiplos eventos de captura.

3.6 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR EM CÉLULAS A549 (CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA PULMONAR), SH-SY5Y (NEUROPLASTO DE TECIDO NEURAL) E VERO E6 (CÉLULAS RENAIS)

Antes de iniciar o procedimento, o número total de células foi contado em hemocitômetro, conforme recomendações padrões para culturas celulares. Após esta contagem, 2x105 células foram semeadas por poço em placas de 96 poços, utilizando 200 µL de meio RPMI enriquecido com 2% de soro fetal bovino (FBS), e incubadas por 24 horas para adesão.

Após a adesão, o sobrenadante foi cuidadosamente removido e substituído por 200 µL das substâncias em estudo, em diferentes concentrações (25 µg/mL, 50 µg/mL e 100 µg/mL), preparadas em quadruplicata no mesmo meio de cultura. As células foram então incubadas durante 48 horas para permitir que o tratamento interagisse com as células.

Após o período de tratamento, o sobrenadante foi removido e foram adicionados 100 µL de MTT 0,5% – [3-(4,5-dimetilazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]

(Sigma-Aldrich, EUA). adicionado a cada poço. As placas foram incubadas durante quatro horas para permitir a formação de cristais de formazan por células viáveis. Posteriormente, o meio foi substituído por 100 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma-Aldrich, EUA) e após 15 minutos a leitura da absorbância foi realizada imediatamente em espectrofotômetro a 590 nm. Os resultados foram expressos como uma percentagem do valor máximo do controle positivo e relatados como médias de três ensaios independentes e desvio padrão.

3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA CONTRA CÉLULAS VERO E6 (SARS-COV-2)

As células Vero E6 foram semeadas a uma densidade de $1x10^5$ células por poço. Após 24 horas de adesão em meio DMEM F12 enriquecido com 10% de soro fetal bovino, foi realizado o tratamento com as moléculas Q a 50 µg mL -1 e R a 50 µg mL -1 por 2 horas. Posteriormente, as células foram lavadas e infectadas com SARS-CoV-2 utilizando um MOI de 0,2 (2x10 4 PFU) em meio DMEM F12 contendo 2% de soro fetal bovino. Após duas horas de exposição viral, o meio foi substituído e as células foram incubadas por mais 24 horas nas mesmas condições de tratamento inicial, utilizando DMEM F12 com 10% de soro fetal bovino para posteriores análises. Após as etapas de tratamento e infecção, o RNA das células foi extraído e analisado pela técnica qPCR-RT (Life Technologies). Foram avaliados os genes N (viral) e RNAseP (controle endógeno celular). A análise dos dados foi realizada pelo método 2- ΔΔ CT, e os resultados foram expressos como a média de dois experimentos independentes, cada um realizado em triplicata.

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi empregue para avaliar a normalidade dos dados. As diferenças entre os grupos foram avaliadas por meio de ANOVA unidirecional na comparação de três ou mais grupos com dados normalmente distribuídos (Gaussianos), complementados pelo teste post-hoc de Tukey. Para

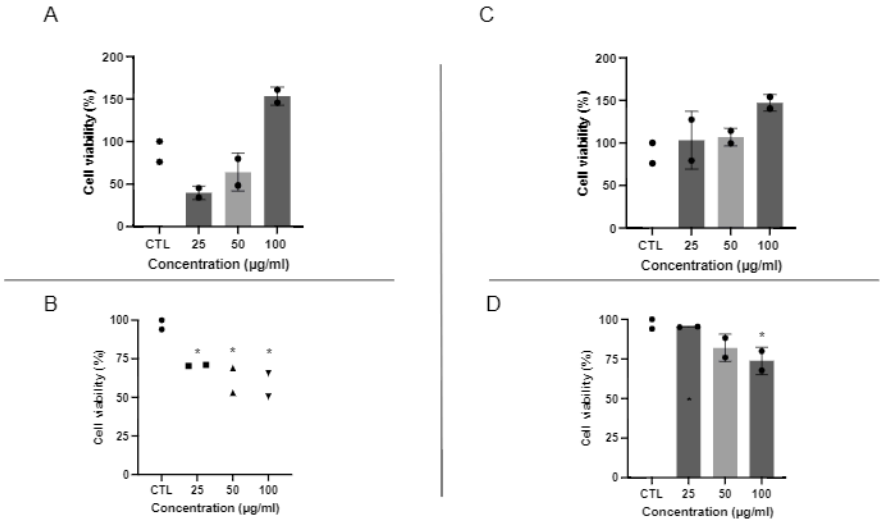
conjuntos de dados não paramétricos, foi utilizado o teste de Kruskal- Wallis seguido do método post-hoc de Dunn. A significância estatística foi estabelecida em valores de p inferiores a 0,05. Os resultados são apresentados como média e desvio padrão (DP).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR DE CÉLULAS A549 (CÉLULAS DE ADENOCARCINOMA PULMONAR) E SH-SY5Y (NEUROPLASTO DE TECIDO NEURAL)

As moléculas isoladas foram submetidas a testes de citotoxicidade para avaliar o seu impacto potencial na viabilidade celular. Foram aplicadas três concentrações (25, 50 e 100 µM) dessas moléculas às linhagens celulares A549 e SH-SY5Y e seus efeitos citotóxicos foram avaliados. Os resultados indicaram que mesmo em concentrações relativamente elevadas, as moléculas isoladas exibiram citotoxicidade mínima, sugerindo a sua segurança potencial para investigação adicional como potenciais agentes terapêuticos ou candidatos a medicamentos. A análise de citotoxicidade demonstrou que as moléculas Q e R nas concentrações de 50 µM e 100 µM, respectivamente, não apresentaram citotoxicidade significativa quando testadas em células A549 e SH-SY5Y (Figura 1).

Figura 1 - Efeito de Q e R na viabilidade celular de células A549 (A, B) e Sh-SY5Y (C, D). Os resultados são expressos como médias seguidas de desvio padrão de três experiências independentes realizadas em triplicado. (*) indica diferença estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle por Kruskal-Wallis seguido pela análise do teste de comparação múltipla de Dunn.

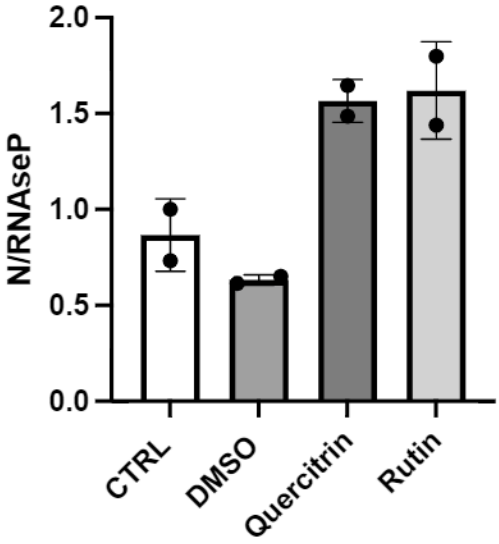


Fonte: dados do estudo

4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA EM CÉLULAS VERO E6 INFECTADAS POR SARS-COV-2

Na nossa investigação, moléculas isoladas foram avaliadas quanto à sua atividade antiviral contra SARS-CoV-2 utilizando modelos in vitro. Apesar dos testes rigorosos, incluindo avaliações da redução da carga viral nas células VERO-E6, os compostos isolados não exibiram atividade antiviral significativa contra o SARS-CoV-2. Estas descobertas sublinham a complexidade da identificação de agentes antivirais eficazes e destacam a necessidade de investigação contínua para explorar compostos alternativos com potencial eficácia terapêutica contra a COVID-19, conforme demonstrado na figura 2.

Figura 2 - Os compostos Q e R não apresentaram redução significativa na infecção por SARS-CoV-2 quando administrados na concentração de 50 µg/mL em células Vero E6. Este resultado sugere que o LQPN-05 pode não possuir atividade antiviral contra o SARS-CoV-2 nas condições testadas. Mais estudos são necessários para explorar compostos alternativos com potencial eficácia antiviral contra a infecção por SARS-CoV-2.



Fonte: dados do estudo

Embora o nosso estudo não tenha demonstrado atividade antiviral significativa contra o SARS-CoV-2, a Quercitrina foi uma molécula promissora contra o vírus da peste suína africana nesta investigação (Pandarangga, Simarmata *et al*. 2024). Utilizando simulação in silico, os autores avaliaram a interação entre a Quercitrina e proteínas-chave do vírus da peste suína africana envolvidas na replicação e propagação viral. Eles revelaram efeitos antivirais promissores da Quercitrina, sugerindo o seu potencial como agente terapêutico visando especificamente o vírus da peste suína africana.

A quercitrina isolada de Thuja orientalis folium também apresentou atividade antiviral promissora contra o vírus Influenza A. Myong-Min Lee *et al*., 2023 revelaram seus potentes efeitos inibitórios na replicação e disseminação do vírus, destacando seu potencial como agente terapêutico contra infecções por influenza (Lee, Cho *et al*. 2023). A eficácia da quercitrina no combate ao vírus influenza ressalta a importância dos compostos naturais derivados de plantas medicinais no desenvolvimento de tratamentos antivirais. Estes resultados encorajadores não só contribuem para a nossa compreensão das propriedades terapêuticas da quercitrina, mas também enfatizam a importância de explorar fontes botânicas para novos agentes antivirais.

A atividade antiviral da rutina contra SARS-CoV-2 tem sido extensivamente explorada utilizando métodos in silico, sugerindo o seu potencial como candidato terapêutico (Rashid, Fatima *et al*. 2024). No entanto, apesar das previsões computacionais promissoras, os nossos ensaios in vitro não demonstraram quaisquer efeitos antivirais significativos. Esses resultados indicam uma disparidade entre a modelagem computacional e os dados empíricos, destacando a complexidade de prever a eficácia dos medicamentos com base apenas em simulações virtuais. Embora as abordagens in silico ofereçam informações valiosas sobre as interações moleculares, a discrepância observada ressalta a necessidade de corroborar os resultados computacionais com validação experimental. Mais pesquisas são necessárias para elucidar os fatores que contribuem para esta disparidade e explorar estratégias alternativas para identificar agentes antivirais eficazes contra o SARS-CoV-2.

5 CONCLUSÃO

Em conclusão, apesar das previsões promissoras sobre o potencial antiviral da rutina e da quercitrina contra vários vírus, incluindo o SARS-CoV-2, os nossos ensaios *in vitro* não conseguiram demonstrar efeitos antivirais significativos para estas moléculas. Estas descobertas sublinham a complexidade de traduzir previsões *in silico* em resultados terapêuticos tangíveis e destacam a importância da validação empírica na descoberta e desenvolvimento de medicamentos. Embora a rutina e a quercitrina possuam propriedades farmacológicas intrigantes e continuem a ser investigadas quanto aos seus potenciais benefícios para a saúde pública, esse trabalho demonstrou a baixa citotoxicidade dessas moléculas, sugerindo o seu potencial efeito farmacológico e, por isso, são potenciais candidatas a novos medicamentos que possam ser disponilizados para a sociedade. Nesse sentido, estudos futuros devem centrar-se na exploração de seus potenciais efeitos farmacológicos no combate a outras infecções virais.

As limitações do nosso estudo residem na perspectiva de que outras moléculas previamente identificadas e isoladas dessa planta poderiam enriquecer o conhecimento científico sobre seu potencial efeito farmacológico.

AGRADECIMENTOS

Reconhecemos Liria Hiromi Okuda da Instituto Biológico, Departamento de Agricultura e Abastecimento, São Paulo, SP, Brasil pela disponibilização do laboratório para o desenvovimento do estudo.

REFERÊNCIAS

BUOWARI, DY; OGUNDIPE HD. "Infecção por síndrome respiratória aguda grave por coronavirus-2 (sars-cov-2): uma revisão epidemiológica." **Ann Ib Pós-Graduação Med** 19 (Suplemento 1): S68-S76, 2021.

DE GREGORI, S., F. FALASCHI, A. BALLESIO, A. FUSCO, E. CREMONTE, R. CANTA, U. SABATINI, M. MOLINARO, C. SOFFIANTINI, A. NARDONE, A. VICENTINI, A. DE SILVESTRI E A. DI SABATINO. "As concentrações sanguíneas de hidroxicloroquina também podem ser clinicamente relevantes após a descontinuação do medicamento." **DR sobre drogas** 22 (2): 155-163, 2022.

DENARO, M., A. SMERIGLIO, D. BARRECA, C. DE FRANCESCO, C. OCCHIUTO, G. MILANO, D. TROMBETTA. "Atividade antiviral de plantas e seus compostos bioativos isolados: uma atualização." **Phytother Res** 34 (4): 742-768, 2020.

GUAN, J., Y. ZHAO, Y. WEI, S. SHEN, D. YOU, R. ZHANG, T. LANGE E F. CHEN. "Modelo de dinâmica de transmissão e epidemia da doença coronavírus 2019: aplicações e desafios." **Med Rev** (2021) 2 (1): 89-109, 2022

KAUL, R., P. PAUL, S. KUMAR, D. BÜSSELBERG, VD DWIVEDI E A. CHAARI. "Atividades antivirais promissoras de flavonóides naturais contra alvos de SARS-CoV-2: revisão sistemática." **Int J Mol Sci** 22 (20), 2022

LE-TRILLING, VTK, D. MENNERICH, C. SCHULER, R. SAKSON, JK LILL, SS KASARLA, D. KOPCZYNSKI, S. LOROCH, Y. FLORES-MARTINEZ, B. KATSCHINSKI, K. WOHLGEMUTH, M. GUNZER, F. MEYER, P. PHAPALE, U. DITTMER, A. SICKMANN E M. TRILLING. “Identificação de chás de ervas e seus compostos que provocam atividade antiviral contra SARS-CoV-2 in vitro.” **BMC Biol** 20 (1): 264, 2022

LEE, MM, WK CHO, MH CHA, NH YIM, HJ YANG E JY MA. "A atividade antiviral de Thuja orientalis folium contra o vírus Influenza A." **Res. de vírus** 335 : 199199, 2023.

LEITE, JP, AB OLIVEIRA, JA LOMBARDI, JD FILHO E E. CHIARI. "Atividade tripanocida de triterpenos de *Arrabidaea triplinervia* e derivados." **Biol Pharm Touro** 29 (11): 2307-2309, 2006.

MARTIN, F., AE HAY, D. CRESSEND, M. REIST, L. VIVAS, MP GUPTA, PA CARRUPT E K. HOSTETTMANN. "Antioxidante C-glucosilxantonas das folhas de *Arrabidaea patellifera*." **J Nat Prod** 71 (11): 1887-1890, 2008.

PANDARANGGA, P., YTRM SIMARMATA, ABH LIU E DAF HARYATI. "simulação de hiperosídeo, isoquercetina, quercetina e quercitrina como

potenciais antivirais contra a proteína pNP868R do vírus da peste suína africana." **Mundo veterinário** 17 (1): 171-178, 2024.

PIRALLA, A., Z. CHEN E H. ZARAKET. "Uma atualização sobre o vírus sincicial respiratório." **Doença de infecção BMC** 23 (1): 734, 2023.

RASHID, Z., A. FÁTIMA, A. KHAN, J. MATTHEW, MZ YOUSAF, N. NADEEM, TN HASAN, MU REHMAN, SS NAQVI E SJ KHAN. "Reaproveitamento de medicamentos: identificação de potenciais inibidores de SARS-CoV-2 por triagem virtual e estratégias farmacocinéticas." **J Infect Dev Ctries** 18 (4): 520-531, 2024.

SHIVALKAR, S., MS PINGALI, A. VERMA, A. SINGH, V. SINGH, B. PAITAL, D. DAS, PK VARADWAJ E SK SAMANTA. "Surto de COVID-19: uma visão geral detalhada e suas consequências." Adv Exp Med Biol 1353: 23-45, 2021.
TANG, WF, AT TRAN, LY WANG E JT HORNG. "Pandemias de SARS-CoV-2: Uma atualização do CRISPR no diagnóstico e estudos de interação vírus-hospedeiro." **Biomédica J** 46 (2): 100587, 2023.

YU, F., LT LAU, M. FOK, JY LAU E K. ZHANG. "Variantes Delta do COVID-19 - status atual e implicações em agosto de 2021." **Precis Clin Med** 4 (4): 287-292. 2021.

ZHOU, H., J. YANG, C. ZHOU, B. CHEN, H. FANG, S. CHEN, X. ZHANG, L. WANG E L. ZHANG. "Uma revisão do SARS-CoV2: comparado com SARS-CoV e MERS-CoV." **Front Med** (Lausana) 8: 628370, 2021.

ZORN, B., AJ GARCÍA-PIÑERES, V. CASTRO, R. MURILLO, G. MORA E I. MERFORT. "3-Desoxiantocianidinas de Arrabidaea chica." **Fitoquímica** 56 (8): 831-835, 2021.