UNIVERSIDADE CEUMA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E BIOTECNOLOGIA - REDE BIONORTE

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-SARS-CoV-2 DE COMPOSTOS ISOLADOS DAS FLORES DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G.Loahmann (Gignoniaceae)

WASHINGTON KLEBER RODRIGUES LIMA

São Luís-MA

2024

WASHINGTON KLEBER RODRIGUES LIMA

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-SARS-CoV-2 DE COMPOSTOS ISOLADOS DAS FLORES DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G.Loahmann (Gignoniaceae)

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade CEUMA, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Lídio Gonçalves Lima Neto

São Luís-MA

AGOSTO/2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade CEUMA
Rede de Bibliotecas CEUMA
Gerada automaticamente mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

LIMA, WASHINGTON KLEBER RODRIGUES

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-SARS-CoV-2 DE COMPOSTOS ISOLADOS DAS FLORES DE Fridericia platyphylla (Cham.) L.G.Loahmann (Gignoniaceae). / WASHINGTON KLEBER RODRIGUES LIMA. - São Luís: Universidade CEUMA, 2024.

81 p.; il., color.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE. Universidade CEUMA, 2024.

1.Fridericia platyphylla 2.COVID-19 3.SARS-CoV-2. I. Título. II. Lídio Gonçalves Lima Neto (Orientador).

Proibida a reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio eletrônico ou mecânico, inclusive através de processos xerográficos, sem permissão expressa do Autor. (Artigo 184 do Código Penal Brasileiro, com a nova redação dada pela Lei n.8635, de 16-03-1993).

WASHINGTON KLEBER RODRIGUES LIMA

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-SARS-CoV-2 DE COMPOSTOS ISOLADOS DAS FLORES DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G.Loahmann (Gignoniaceae)

Tese de doutorado apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE, na Universidade CEUMA, como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Biodiversidade e Biotecnologia.

Aprovada em 28/ 08/2024.

Documento assinado digitalmente
LIDIO GONCALVES LIMA NETO
Data: 06/11/2024 09:57:48-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Lídio Gonçalves Lima Neto
Universidade Ceuma

Documento assinado digitalmente
CLAUDIA QUINTINO DA ROCHA
Data: 05/11/2024 12:38:00-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Cláudia Quintino da Rocha
Universidade Ceuma

Documento assinado digitalmente
ALCINA VIEIRA DE CARVALHO NETA
Data: 05/11/2024 12:08:50-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. Alcina Vieira de Carvalho Neta
Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
FRANCISCO BORGES COSTA
Data: 05/11/2024 17:43:14-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Francisco Borges da Costa
Universidade Estadual do Maranhão

Documento assinado digitalmente
WELLYSON DA CUNHA ARAUJO FIRMO
Data: 05/11/2024 12:47:25-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. Wellyson da Cunha Araújo Firmo
Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão

TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO

Eu, **Washington Kleber Rodrigues Lima**, (X) autorizo; ( ) não autorizo a publicação da versão final aprovada de minha tese de doutorado intitulada "**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-SARS-CoV-2 DE COMPOSTOS ISOLADOS DAS FLORES DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G.Loahmann (Gignoniaceae)**" no portal do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia – Rede BIONORTE (PPG-BIONORTE), bem como no repositório de Teses da CAPES ou junto à biblioteca da Instituição Certificadora.

São Luís, Maranhão:28/08/2024

gov.br Documento assinado digitalmente
WASHINGTON KLEBER RODRIGUES LIMA
Data: 08/12/2024 12:37:12-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Washington Kleber Rodrigues Lima

CPF: 466.384.663-72

RG: 000021841894-9

DEDICATÓRIA

À minha esposa Cláudia Zeneida e aos nossos filhos Ana Beatriz, Víctor Kleber e Filipe Gomes

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha existência.

À minha mãe (*in memorian*), Sebastiana Gomes de Lima pelas bênçãos de cada dia. Tudo de bom que sou começou com ela, por ela e para ela.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Lídio Gonçalves Lima Neto pela sua ajuda e contribuição ao longo dessa jornada.

À todos os professores e colaboradores do da USP, UNIFESP e Universidade Ceuma, por serem sempre prestativos e solícitos.

À minha esposa, por sua valiosa e sempre pronta atenção para me auxiliar.

Além disso, reconhecemos o sistema de Dinâmica Molecular Desmond, versão 6.4, da D. E. Shaw Research, Nova York, NY, por disponibilizar esse software para acadêmicos.

EPÍGRAFE

"E não sede conformados com este mundo, mas sede transformados pela renovação do vosso entendimento, para que experimenteis qual seja a boa, agradável e perfeita vontade de Deus."

Romanos 12:2

LIMA, Washington Kleber Rodrigues. **AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-SARS-CoV-2 DE COMPOSTOS ISOLADOS DAS FLORES DE *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G.Loahmann (Gignoniaceae).** 2024. 81f. Tese (Doutorado em Biodiversidade e Biotecnologia) - Universidade CEUMA, São Luís, 2024.

RESUMO

A pandemia global da COVID-19 impactou profundamente a sociedade, resultando em muitos casos e mortes. Embora vários medicamentos, como Remdesivir e Nirmatrelvir, tenham sido explorados com certa eficácia, algumas limitações desses compostos abriram caminhos promissores para o estudo de novas moléculas, oriundas de compostos naturais e com propriedades antivirais. Além disso, a alta taxa de mutação do vírus SARS-CoV-2 limita a utilidade dos tratamentos existentes. Portanto, a busca por novas moléculas antivirais é crucial. O objetivo do nosso estudo foi investigar a ação antiviral de compostos isolados das flores *Fridericia platyphylla*. Para isso, as moléculas quercitrina (Q), rutina (R) e a 3,4-dimetoxicalcona foram isoladas por cromatografia clássica. Inicialmente, foram realizados testes de citotoxicidade in vitro e antiviral dessas moléculas. Com isso, observou-se que a 3,4-dimetoxicalcona inibiu a replicação viral em células VERO-E6 infectadas pelo SARS-CoV-2, sem causar citotoxicidade significativa e por outro lado, as moléculas Q e R não apresentaram efeito antiviral em células. Após os ensaios de triagem in vitro, escolheu-se a 3,4-dimetoxicalcona para continuação dos estudos in sílico e em modelo de camundongos infectados com SARS-CoV-2. A molécula 3,4-dimetoxicalcona apresentou interações favoráveis com a proteína Spike do vírus, particularmente com o protômero C, em uma análise *in sílico*, sugerindo seu potencial como agente terapêutico. Ensaios de atividade enzimática com a proteína viral polimerase de RNA dependente de RNA (RdRp) revelaram que a 3,4-dimetoxicalcona modificou efetivamente a temperatura de fusão da proteína Spike. Além disso, a administração de LQPN-05 nas concentrações de 12,5 e 2,5 mg/kg não induziu efeitos citotóxicos, mas também exerceu um controle notável sobre a infecção viral em animais desafiados com SARS-CoV-2 (Cepa SSPu-0691/B.1.1.28; Genbank: Mw441768). Esses resultados destacam o potencial da 3,4-dimetoxicalcona como um novo inibidor do SARS-CoV-2 e enfatizam a importância de explorar compostos naturais para terapia antiviral. Pesquisas adicionais são necessárias para entender os mecanismos subjacentes e avaliar suas implicações terapêuticas.

Palavras-chave: COVID-19; *Fridericia platyphylla*; SARS-CoV-2. Antiviral.

LIMA, Washington Kleber Rodrigues. **Evaluation of the Anti-SARS-CoV-2 Effect of Compounds Isolated from the Flowers of *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Loahmann (Gignoniaceae).** 2024. 81f. Thesis (PhD in Biodiversity and Biotechnology) – CEUMA University, São Luís, MA-Brazil, 2024.

ABSTRACT

The global COVID-19 pandemic has had a profound impact on society, resulting in many cases and deaths. Although several drugs, such as Remdesivir and Nirmatrelvir, have been explored with some efficacy, some limitations of these compounds have opened promising avenues for the study of new molecules, originating from natural compounds and with antiviral properties. In addition, the high mutation rate of the SARS-CoV-2 virus limits the usefulness of existing treatments. Therefore, the search for new antiviral molecules is crucial. The aim of our study was to investigate the antiviral action of compounds isolated from the flowers of *Fridericia platyphylla*. For this purpose, the molecules quercitrin (Q), rutin (R) and 3,4-dimethoxychalcone were isolated by classic chromatography. Initially, in vitro tests on cells of cytotoxicity and antiviral of these molecules were performed. Thus, it was observed that 3,4-dimethoxychalcone inhibited viral replication in VERO-E6 cells infected by SARS-CoV-2, without causing significant cytotoxicity. On the other hand, the Q and R molecules did not present an antiviral effect in cells. After these analyses, 3,4-dimethoxychalcone was chosen for further in silico and animal studies. 3,4-dimethoxychalcone showed favorable interactions with the Spike protein of the virus, particularly with the C protomer, in an in-silico analysis, suggesting its potential as a therapeutic agent. Enzymatic activity assays with the viral RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) protein revealed that 3,4-dimethoxychalcone effectively modified the melting temperature of the Spike protein. In addition, the administration of LQPN-05 at concentrations of 12.5 and 2.5 mg/kg not only failed to induce cytotoxic effects but also exerted a notable control over viral infection in animals challenged with SARS-CoV-2 (Strain SSPu-0691/B.1.1.28; Genbank: Mw441768). These results highlight the potential of 3,4-dimethoxychalcone as a novel SARS-CoV-2 inhibitor and emphasize the importance of exploring natural compounds for antiviral therapy. Further research is needed to understand the underlying mechanisms and evaluate its therapeutic implications.

Keywords: COVID-19; *Fridericia platyphylla*; SARS-CoV-2.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 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. 39

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. 40

Capítulo 2

Figure 1. Overview of spike protein of SARS-CoV-2. (A) The spike protein of SARS-CoV-2, labeled with amino acid positions and functional domains. (B) Three protomers of the SARS-CoV-2 spike protein arranged in a trimeric form. Each protomer is labeled A, B, and C. (C) Close-up view of the RBD and NTD of protomer A. (D) Close-up view of the S1/S2 cleavage site and the FP of protomer B. *The functional domains of the S protein include the N-terminal domain (NTD); the receptor-binding domain (RBD); the receptor-binding motif (RBM), the fusion peptide (FP); heptad repeat 1 (HR1); heptad repeat 2 (HR2); the transmembrane domain (TM); and the cytoplasmic domain (CD). 55

Figure 2. Molecular modeling results to spike protein of SARS-CoV-2. (A) spike protein of SARS-CoV-2 subdivided in Protomer's A, B and C. (B) Protomer C and LQPN-05 profile interaction. (C) Energy profile (kcal/mol) of spike protein of SARS-CoV-2 by Protomer's A, B and C. 56

Figure 3. Relationship between concentration of LQPN-05 (log[LQPN-05]) and response for SARS-CoV-2 virus. (A) Thermal shift assay result, R^2 value (goodness-of-fit) and ΔTm value (change in melting temperature) are indicated. (B) EC_{50} value and percentage response in A549 cells versus log[LQPN-05]. (C) EC_{50} value and percentage response in VeroE6 cells versus log[LQPN-05]. (D) Fold change in activity of RNase P enzyme compared to a control (N/Rnase P) versus log[LQPN-05].** p-value < 0.001. 59

Figure 4. Lung pathology following LOPN-05 administration. (A) Workflow of in vivo assay. (B) Weight loss analysis during the experiments. (C) Fractal count box analysis. (D) Fractal analysis was performed on the lung tissue images (40x, 100x and 400x). *Labels for the groups (Control (-), Control (+), 12.5 mg/kg, 37.5 mg/kg, 62.5 mg/kg, 125 mg/kg). Note that Control (-) and Control (+) likely refer to different control groups within the experiment. Fractal analysis was performed on the lung tissue images (details not shown in the provided image). LOPN-05 was administered intraperitoneally (IP). 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ECA2	Enzima conversora de angiotensina – 2 receptor
Células A549	Linhagem Celular de Adenocarcinoma alveolar Humana
CC_{50}	Concentração citotóxica em 50%
DC	Domínio Citoplásmico
COVID-19	Doença do Coronavírus 2019
DMEM F12	Reagente Meio Eagle Modificado por Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
ESI	Ionização pelo processo Electrospray
DF	Dimensão Fractal
PF	Peptídeo de Difusão
HR1	Heptad Repetição 1
HR2	Heptad Repetição 2
IP	Administração Intraperitoneal
IT	*Ion-Trap (do inglês)*
DM	Dinâmica Molecular
M^{pro}	Proteína Principal da Protease
MS2, MS3, and MSn	*Multiple stage fragmentation (do inglês)*
MTT	*Thiazolyl blue tetrazolium (do inglês)*
DNT	Domínio N-terminal
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PBC	Condição de Contorno Periódico
PBS	Tampão Fosfato Salina
Pl^{pro}	*Proteína Semelhante à Papaína*
PME	*Particle Mesh Ewald (do inglês)*
RBD	Domínio de Ligação do Receptor
RBM	*Receptor binding motif (do inglês)*
RdRp	RNA polimerase dependente de RNA
SARS-CoV-2	*Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (do inglês)*
DP	Desvio Padrão
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
CCD	Cromatografia em camada delgada
TSA	Ensaio de Deslocamento Térmico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **14**
1.1 Objetivo geral **16**
1.2 Objetivos específicos **16**
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **17**
2.1 Epidemiologia da pandemia da COVID-19 ..... **17**
2.2 Busca pelo desenvolvimento de novos fármacos antivirais: Os desafios terapêuticos **17**
2.3 Uso de ferramentas de docking molecular **18**
2.3.1 Aplicações futuras do docking molecular no desenvolvimento de antivirais 20
2.4 A mutação do vírus e outros desafios **23**
2.5 Caracterização botânica da *Arrabidaea brachypoda* **24**
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **26**
3 CAPÍTULO 1 - EFEITO ANTIVIRAL DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE FLORES DE *Arrabidaea brachypoda* (DC.) BUREAU CONTRA SARS-COV-2 ..... **31**
4 CAPÍTULO 2 - ANTIVIRAL POTENTIAL OF 3,4-DIMETHOXYCHALCONE AGAINST SARS-COV-2: A PROMISING CANDIDATE **46**
5 DISCUSSÃO INTEGRADORA **68**
6 CONCLUSÕES **73**
ANEXO I – COMITÊ DE ÉTICA **74**
ANEXO II – DEPÓSITO DA PATENTE **77**
ANEXO III – PÁGINA INICIAL DA PUBLICAÇÃO DO ARTIGO DO CAPÍTULO 1 ..... **81**

1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, uma nova cepa de coronavírus, denominada SARS-CoV-2, surgiu na China. Esse vírus é responsável pela pandemia da COVID-19, um evento sem precedentes no século 21, que se espalhou rapidamente pelo mundo, causando milhões de mortes em todos os continentes (TO *et al.*, 2021; WOROBEY, 2021). Ao longo da pandemia, certos países, incluindo Itália e Índia, foram particularmente afetados e experimentaram taxas de mortalidade extremamente altas, levando a uma grave tensão nos sistemas de saúde (CHINNASWAMY, 2021; ALTERI *et al.*, 2021). Esforços foram rapidamente iniciados para determinar a estrutura do SARS-CoV-2, e proteínas como a proteína Spike, Mpro (proteína principal da protease) Plpro (proteína semelhante à papaína) e RdRp (RNA polimerase dependente de RNA) foram reconhecidas como componentes cruciais do ciclo viral, que poderiam potencialmente servir como alvos para o desenvolvimento de intervenções terapêuticas contra esse novo agente infeccioso. Com esse objetivo, várias ferramentas e técnicas, incluindo abordagens *in silico* e *in vitro*, foram empregadas para mitigar os danos causados pelo SARS-CoV-2 (YOSHIMOTO, 2020; MALONE *et al.*, 2022). Numerosas ferramentas foram empregadas nesse esforço, às vezes combinando estratégias *in silico* e *in vitro* para reduzir os danos causados pelo SARS-CoV-2 (GREASLEY *et al.*, 2022).

Por outro lado, até o momento, apenas alguns medicamentos foram aprovados para uso contra esse novo agente viral, como Remdesivir e Nirmatrelvir, e seu uso é limitado a certos critérios em pacientes infectados na qual incluem idade, peso, condição clinica, risco de progressão, limitando assim sua eficácia no tratamento da doença (LAMB, 2020; LAMB, 2022). Além disso, a proteção induzida pelas vacinas desenvolvidas até agora parece diminuir substancialmente após um certo período em alguns casos, o que pode aumentar a probabilidade de novas infecções por SARS-CoV-2 (DIMEGLIO *et al.*, 2022; FONSECA *et al.*, 2022).

Até 2024, o cenário global das vacinas contra a COVID-19 apresentou um progresso notável, com um total de 199 vacinas em desenvolvimento pré-clínico e 183 em desenvolvimento clínico. Além disso, um total de 38 vacinas contra a COVID-19 foram autorizadas para uso em 197 países globalmente. Esse rápido avanço reflete uma colaboração e inovação sem precedentes na tecnologia de vacinas, incluindo várias plataformas, como mRNA, vetores virais e vírus inativados (ZASADA et al., 2023).

A proteína Spike do SARS-CoV-2 é uma grande proteína transmembranar do tipo I que desempenha um papel crucial no ciclo de vida do vírus. É responsável por se ligar aos receptores das células hospedeiras e facilitar a entrada do vírus na célula hospedeira. A proteína Spike é

composta por duas subunidades funcionais, a subunidade de ligação ao receptor (S1) e a subunidade de fusão de membrana (S2) (JOSHI *et al.*, 2021).

A subunidade S1 é responsável pela ligação ao receptor e contém um domínio de ligação ao receptor (RBD) que interage com o receptor ACE2 humano para iniciar a infecção. O RBD está localizado no ápice da proteína e contém um motivo de ligação ao receptor (RBM) que interage diretamente com o receptor ACE2. A subunidade S1 também contém um domínio N-terminal (NTD) que também pode funcionar como um domínio de ligação ao receptor. A subunidade S2 é responsável por mediar a fusão de membranas e contém dois repetidos heptad (HR1 e HR2) que são característicos das proteínas de fusão viral da classe I. Os domínios HR1 e HR2 formam uma estrutura de feixe de seis hélices (6-HB) que aproxima as membranas viral e da célula hospedeira, permitindo a fusão de membranas e a entrada do vírus (VÁZQUEZ-BOLAND *et al.*, 2001).

A proteína Spike também é fortemente glicosilada, com 21-35 sítios de N-glicosilação, o que pode afetar seu reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro e sua interação com os receptores das células hospedeiras. Além disso, a proteína Spike pode ser clivada em duas subunidades, S1 e S2, por proteases do hospedeiro, o que pode afetar sua fusogenicidade e infectividade. Compreender a estrutura e a função da proteína Spike é crucial para o desenvolvimento de vacinas e terapêuticas eficazes contra o SARS-CoV-2. A proteína Spike é o principal alvo da maioria das vacinas contra a COVID-19, incluindo vacinas de mRNA como a BNT162b2 da Pfizer/BioNTech e a mRNA-1273 da Moderna, que usam mRNA estabilizado codificando o SARS-2-S pré-fusão para produzir uma proteína Spike estabilizada na conformação pré-fusão como alvo para o sistema imunológico (JOSHI *et al.*, 2021).

O gênero Arrabidaea, pertencente à família Bignoniaceae, compreende aproximadamente 170 espécies de plantas que vão do México à Argentina, incluindo o biodiverso cerrado brasileiro. Tradicionalmente, espécies dentro desse gênero têm sido utilizadas em várias formas de medicina tradicional, valorizadas por suas diversas propriedades terapêuticas que vão de adstringente e antioxidante a anti-inflamatório, antimicrobiano, antitumoral e atividades de cicatrização de feridas (MARTIN *et al.*, 2008; ROCHA *et al.*, 2011).

Entre essas espécies, *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau, também conhecida como *Fridericia*, e popularmente como "cipó una," "cervejinha-do-campo" e "tintureiro," tem destaque. Historicamente, tem sido empregada para tratar pedras nos rins e desconforto nas articulações, com suas flores mostrando promessa em exibir propriedades antimicrobianas. Consequentemente, essas flores representam candidatas potenciais para produzir compostos ativos contra o SARS-CoV-2 (CRUZ *et al.*, 2022).

Vários estudos descrevem a extração de diversos compostos de *A. brachypoda*, ilustrando sua incorporação em formulações farmacêuticas e demonstrando sua eficácia contra doenças como infecções parasitárias e úlceras (MACIEL-SILVA *et al.*, 2023). No entanto, este estudo representa um esforço pioneiro na exploração de moléculas, frações ou extratos derivados de *A. brachypoda* como potenciais fármacos contra a COVID-19.

1.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito antiviral de moléculas isoladas das flores de *A. brachypoda* contra SARS-CoV-2.

1.2 Objetivos específicos

Realizar análises *in vitro* para avaliação das atividades citotóxica e antiviral das moléculas isoladas das flores de *A. brachypoda*;

Realizar análises *in sílico* para avaliação da interação da 3,4-dimetoxicalcona com partículas do vírus SARS-CoV-2;

Realizar análises *in vivo* para avaliação da atividade antiviral da 3,4-dimetoxicalcona contra SARS-CoV-2.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Epidemiologia da pandemia da COVID-19

A pandemia de COVID-19, causada pelo vírus SARS-COV-2, teve um impacto global sem precedentes no século XXI. Desde os primeiros casos relatados em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan, na China, o vírus se espalhou rapidamente pelo mundo, levando a uma crise de saúde pública, social e econômica. A transmissão rápida e o alto índice de morbidade e mortalidade levaram a uma resposta global em larga escala, com governos, instituições de saúde e pesquisadores correndo para encontrar tratamentos eficazes e fármacos antivirais para combater a doença (FERRARI *et al.*, 2024).

A situação epidemiológica da COVID-19 no Brasil apresenta-se com uma leve tendência de aumento nos casos e óbitos em comparação com meses anteriores, de acordo com os dados do Ministério da Saúde, foram notificados 629.148 casos e 3.933 óbitos por COVID-19 até a semana epidemiológica 28 do ano de 2024 (julho de 2024). Embora os números gerais estejam relativamente baixos em comparação com o histórico da pandemia, houve um aumento de 21,9% nos casos e de 26,6% nos óbitos em relação à semana anterior. A vigilância epidemiológica continua a monitorar a circulação do vírus no país. A testagem em sintomáticos e a atualização do esquema vacinal permanecem cruciais para o controle da doença (BRASIL, 2024).

2.2 Busca pelo desenvolvimento de novos fármacos antivirais: Os desafios terapêuticos

A busca por fármacos antivirais eficazes foi uma parte crucial da resposta global à pandemia. Com as taxas de infecção aumentando rapidamente, era necessário encontrar medicamentos que pudessem ajudar a tratar a doença, reduzindo a gravidade dos sintomas e a mortalidade. Os pesquisadores concentraram seus esforços em duas frentes principais: reutilizar fármacos já existentes que poderiam ter eficácia contra o SARS-COV-2 e desenvolver novos antivirais específicos para combater o vírus (BOYLAN *et al.*, 2024).

O reposicionamento de fármacos, ou a reutilização de medicamentos já aprovados para outros usos, foi uma estratégia adotada por muitos pesquisadores devido à urgência da situação. Drogas como a hidroxicloroquina, a ivermectina e a remdesivir foram estudadas por seu potencial de inibir a replicação do vírus ou de atenuar a resposta inflamatória exagerada associada a casos graves da COVID-19. No entanto, os resultados foram mistos, e a eficácia desses fármacos contra o SARS-COV-2 foi amplamente debatida (SELVI-SABATER *et al.*, 2024).

Por outro lado, o desenvolvimento de novos antivirais específicos envolveu pesquisas inovadoras, utilizando técnicas como docking molecular e modelagem computacional para identificar compostos que poderiam se ligar e inibir proteínas críticas para a replicação do vírus, como a proteína Spike e a protease principal (SELVI-SABATER *et al.*, 2024). Esses esforços levaram à identificação de potenciais candidatos a fármacos que foram rapidamente encaminhados para estudos clínicos, a fim de avaliar sua eficácia e segurança em pacientes com COVID-19.

O impacto global da pandemia da COVID-19 também revelou a importância de uma abordagem colaborativa na pesquisa e no desenvolvimento de medicamentos antivirais. A cooperação entre cientistas, empresas farmacêuticas, governos e organizações internacionais foi fundamental para acelerar o processo de descoberta e distribuição de tratamentos eficazes. A pandemia destacou a necessidade de fortalecer a infraestrutura de saúde pública, bem como a importância de uma resposta coordenada para futuras emergências de saúde (MORPETH *et al.*, 2023).

Em resposta ao impacto devastador da pandemia da COVID-19, a comunidade científica e a indústria farmacêutica iniciaram uma corrida para desenvolver novos fármacos para tratar a doença e vacinas para prevenir sua disseminação. A necessidade de tratamentos eficazes e seguros levou a uma mobilização sem precedentes de recursos e colaboração global (MORPETH *et al.*, 2023). A urgência da situação impulsionou uma abordagem mais rápida para pesquisa e desenvolvimento de medicamentos, com muitos processos regulatórios sendo acelerados para responder à crise.

Uma das estratégias iniciais para o desenvolvimento de novos fármacos foi o reposicionamento de medicamentos existentes. Pesquisadores exploraram o potencial de drogas já aprovadas para outras doenças, como a hidroxicloroquina, a ivermectina e o remdesivir para tratar pacientes com COVID-19. No entanto, os resultados foram mistos e a eficácia dessas drogas contra o SARS-COV-2 tornou-se objeto de debate (NAG *et al.*, 2024). O reposicionamento de fármacos ofereceu uma maneira de encontrar tratamentos rapidamente, mas também revelou os desafios de lidar com a variabilidade da resposta ao tratamento entre os pacientes (ROHILLA e ROHILLA, 2024).

2.3 Uso de ferramentas de docking molecular

O docking molecular é uma técnica essencial em pesquisas farmacêuticas, que permite a previsão de interações entre pequenas moléculas (ligantes) e alvos biológicos, como proteínas ou ácidos nucleicos. Para realizar essa tarefa, diversos métodos e ferramentas computacionais são empregados, cada um com características específicas e áreas de aplicação. Estes métodos

variam de acordo com o grau de precisão, eficiência computacional e tipos de algoritmos utilizados (DEEKS *et al.*, 2020).

O desenvolvimento de novos fármacos específicos para tratar a COVID-19 envolveu o uso de tecnologias avançadas, como o docking molecular, para identificar compostos que pudessem inibir a replicação do vírus ou impedir sua entrada nas células hospedeiras. A descoberta de inibidores de protease e de moléculas que bloqueiam a proteína Spike tornou-se um foco importante da pesquisa antiviral. A corrida pelo desenvolvimento de antivirais eficazes levou a uma aceleração dos processos de ensaios clínicos, com testes realizados em paralelo para validar a eficácia e a segurança desses novos medicamentos (KUMAWAT *et al.*, 2024).

O uso de técnicas modernas, como o docking molecular, tem contribuído para a aceleração do desenvolvimento de novos fármacos. O docking é uma abordagem computacional que permite prever como pequenas moléculas, como as derivadas de plantas, interagem com alvos biológicos, como proteínas. Esse método tem sido fundamental para identificar potenciais candidatos a fármacos e para entender melhor as interações bioquímicas envolvidas (ROHILLA e ROHILLA, 2024).

A busca por tratamentos eficazes contra o vírus SARS-COV-2 trouxe uma nova urgência para o estudo de antivirais (PANDEY *et al.*, 2021). Durante esse período, o uso de técnicas como o docking molecular para descobrir potenciais fármacos antivirais tornou-se crucial. Pesquisas envolvendo plantas amazônicas e suas propriedades medicinais ganharam destaque, pois muitos compostos naturais demonstraram atividade antiviral, indicando seu potencial no combate a doenças emergentes como a COVID-19 (SULIMOV *et al.*, 2024).

Um dos principais impactos do docking molecular é a capacidade de realizar uma triagem virtual de bibliotecas de compostos, permitindo que os pesquisadores explorem rapidamente milhares ou até milhões de moléculas para identificar aquelas com maior afinidade por um determinado alvo biológico. Isso reduz significativamente o tempo e os recursos necessários para encontrar potenciais candidatos a fármacos, permitindo que a pesquisa farmacêutica seja mais focada e eficiente (PANDEY *et al.*, 2021).

Além da triagem, o docking molecular contribui para a compreensão do mecanismo de ação de diferentes compostos, ajudando a elucidar como eles interagem com seus alvos biológicos. Isso é fundamental para o design racional de fármacos, onde as estruturas dos ligantes podem ser ajustadas para aumentar a afinidade e a especificidade de ligação (SULIMOV *et al.*, 2024).

O uso do docking molecular também é essencial para a identificação de novos alvos terapêuticos. Ao investigar a interação entre moléculas pequenas e proteínas ou enzimas, os

pesquisadores podem descobrir vias bioquímicas alternativas que podem ser exploradas para desenvolver tratamentos inovadores (ROHILLA e ROHILLA, 2024).

O impacto do docking molecular no desenvolvimento de novos fármacos ficou particularmente evidente durante a pandemia da COVID-19. Pesquisadores utilizaram técnicas de docking para identificar compostos naturais e sintéticos com potencial para inibir proteínas do SARS-COV-2, o vírus responsável pela doença (SULIMOV *et al.*, 2024).

Os métodos de docking molecular geralmente se baseiam em dois componentes principais: a busca do espaço conformacional e a pontuação das interações entre ligante e receptor. A busca do espaço conformacional envolve a exploração de diferentes orientações e posições do ligante em relação ao receptor, enquanto a pontuação determina a afinidade e estabilidade dessa interação (SULIMOV *et al.*, 2024). Existem várias abordagens para a busca conformacional, incluindo métodos rígidos, em que a conformação do receptor é fixa, e métodos flexíveis, em que a estrutura do receptor pode mudar para acomodar o ligante (FERREIRA *et al.*, 2022b).

2.3.1 Aplicações futuras do docking molecular no desenvolvimento de antivirais

Os avanços tecnológicos em hardware e software têm impulsionado significativamente a capacidade do docking molecular. Processadores mais rápidos e sistemas de computação em nuvem permitem que os cientistas conduzam simulações mais complexas, avaliando milhares ou mesmo milhões de interações potenciais em um curto espaço de tempo. Além disso, algoritmos de aprendizado de máquina e inteligência artificial estão sendo cada vez mais incorporados ao processo de docking, permitindo maior precisão e melhor análise dos resultados (TALEVI, 2024).

Outra inovação importante é a integração do docking molecular com outras técnicas computacionais, como a dinâmica molecular e a modelagem de estrutura-propriedade. Enquanto o docking molecular oferece previsões iniciais sobre como uma pequena molécula pode interagir com um alvo biológico, a dinâmica molecular simula os movimentos e mudanças conformacionais ao longo do tempo, fornecendo insights sobre a estabilidade e a flexibilidade das interações (FERREIRA *et al.*, 2022b; TALEVI, 2024).

Apesar de seus benefícios, o docking molecular também apresenta desafios e limitações. Um dos principais desafios é a precisão na previsão da posição e orientação exatas dos ligantes nos sítios de ligação. Pequenas variações na estrutura da proteína ou nos parâmetros de simulação podem levar a resultados divergentes. Além disso, a conformação da proteína alvo pode mudar em resposta ao ambiente ou a interações com outras moléculas, complicando a análise (PAGGI *et al.*, 2024).

Outro desafio é a validação experimental dos resultados obtidos por meio de docking molecular. Embora a técnica possa identificar interações promissoras, a confirmação dessas previsões em laboratório é essencial para garantir sua precisão e relevância. Testes de ligação, ensaios de atividade enzimática e estudos clínicos são necessários para validar a eficácia e segurança dos candidatos a fármacos identificados por meio de docking molecular (PAVAN e MORO, 2023; PAGGI *et al.*, 2024).

O futuro do docking molecular parece promissor, com aplicações potenciais em várias áreas da medicina e da farmacologia. A técnica já está sendo usada para explorar tratamentos personalizados, onde o perfil genético de um paciente pode orientar a seleção de medicamentos com base em interações específicas com proteínas-alvo. Além disso, o docking molecular está desempenhando um papel fundamental no desenvolvimento de terapias direcionadas para doenças complexas, como câncer e doenças neurodegenerativas (PAVAN e MORO, 2023).

A aplicação do docking molecular no desenvolvimento de antivirais ganhou destaque especial durante a pandemia da COVID-19, quando houve uma corrida global para encontrar tratamentos eficazes contra o SARS-COV-2 (PAVAN e MORO, 2023).

Um dos aspectos mais importantes do uso do docking molecular no desenvolvimento de antivirais é a possibilidade de realizar triagem virtual de bibliotecas de compostos. Ao invés de testar fisicamente milhares de moléculas em laboratório, os pesquisadores podem usar técnicas de docking para simular as interações entre esses compostos e proteínas virais, como a proteína spike do SARS-COV-2 ou a protease principal (FERREIRA *et al.*, 2022b).

As técnicas de docking também ajudam a entender os mecanismos de ação dos antivirais em potencial. Ao prever como uma molécula se liga a uma proteína viral, os pesquisadores podem inferir quais interações são mais importantes para a atividade antiviral. Isso permite o design racional de fármacos, onde compostos podem ser modificados para aumentar sua afinidade e especificidade pelo alvo viral (KUMAWAT *et al.*, 2024).

Além da triagem virtual e do design racional de fármacos, o docking molecular é utilizado para explorar a resistência viral a medicamentos. Ao simular a interação de compostos antivirais com proteínas virais mutantes, os pesquisadores podem prever quais mutações podem levar à resistência e, assim, desenvolver estratégias para contornar essa resistência (SINGH *et al.*, 2024).

Outro uso importante das técnicas de docking é a identificação de alvos alternativos para antivirais. Enquanto muitos antivirais tradicionais se concentram em inibir a replicação do vírus, o docking molecular permite explorar proteínas acessórias e outras partes do ciclo viral, abrindo novos caminhos para o desenvolvimento de tratamentos inovadores (SINGH *et al.*, 2024).

Em resumo, a aplicação de técnicas de docking no desenvolvimento de antivirais oferece uma abordagem poderosa para identificar, otimizar e compreender compostos com atividade antiviral. Durante a pandemia da COVID-19, essas técnicas se mostraram inestimáveis para acelerar a busca por antivirais eficazes e para enfrentar os desafios associados ao SARS-COV-2, como a emergência de variantes e a necessidade de tratamentos mais eficazes (KUMAWAT *et al.*, 2024).

Os estudos de docking molecular relacionados a plantas do cerrado têm se tornado cada vez mais relevantes no campo das pesquisas farmacêuticas, à medida que a diversidade de compostos bioativos encontrados na flora amazônica oferece um vasto campo para exploração (FERREIRA *et al.*, 2022b, Do NASCIMENTO *et al.*, 2022). Um dos exemplos mais proeminentes de estudos de docking envolvendo plantas amazônicas é a investigação de compostos derivados da unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*), uma planta amplamente conhecida por suas propriedades anti-inflamatórias (KUMAR e PANDA, 2024). Usando técnicas de docking, pesquisadores identificaram alcaloides e flavonoides da unha-de-gato que mostraram afinidade por proteínas relacionadas ao sistema imunológico, sugerindo seu potencial como agentes anti-inflamatórios e imunomoduladores (VILCHEZ *et al.*, 2023).

Outro exemplo envolve o estudo de compostos presentes no guaraná (*Paullinia cupana*), conhecido por suas propriedades estimulantes. Estudos de docking exploraram a interação entre os componentes do guaraná, como a cafeína e outras xantinas, e receptores de adenosina, que desempenham um papel crucial na regulação do sistema nervoso (BORTOLIN *et al.*, 2019).

Além disso, compostos derivados da copaíba (*Copaifera* spp.), tradicionalmente usados como anti-inflamatórios e cicatrizantes, também foram estudados por meio de docking molecular. Pesquisadores identificaram interações entre componentes da copaíba e proteínas envolvidas na inflamação e cicatrização de feridas, fornecendo insights sobre seus mecanismos de ação (KOLA *et al.*, 2022).

Por fim, o uso do docking molecular tem sido aplicado no contexto da busca por antivirais, especialmente em resposta à pandemia da COVID-19. Estudos explorando compostos naturais derivados de plantas amazônicas, como a graviola (*Annona muricata*), mostraram promissoras interações com proteínas do SARS-COV-2, o vírus responsável pela COVID-19 (PRASAD *et al.*, 2020).

Os estudos de docking relacionados a plantas amazônicas destacam a riqueza da biodiversidade amazônica e seu potencial para a descoberta de novos fármacos. A aplicação do docking molecular nessas pesquisas oferece um caminho eficiente para explorar e compreender as interações bioquímicas, ajudando a direcionar esforços no desenvolvimento de medicamentos eficazes e seguros. E, apesar de não ter estudos que mostrem a atividade antiviral

de extratos da espécie *A. brachypoda*, estudos mostram diversas atividades farmacológicas dela, o que é justificado pelos diversos metabolitos secundários existentes nela. Sendo, portanto, uma espécie vegetal muito promissora para estudos de fitofármacos (LIMA *et al.*, 2022).

A expectativa é que, com o avanço da inteligência artificial e do aprendizado de máquina, o docking molecular se torne ainda mais preciso e eficaz, acelerando o desenvolvimento de novos medicamentos. Essa abordagem também deve contribuir para uma melhor compreensão das bases moleculares de doenças, abrindo caminho para terapias inovadoras e personalizadas (LI *et al*., 2024).

Apesar dos desafios, a resposta global à pandemia resultou em avanços significativos no desenvolvimento de fármacos antivirais. A velocidade com que a ciência se mobilizou para entender o SARS-COV-2 e identificar possíveis tratamentos foi impressionante. O uso de tecnologias como docking molecular e modelagem computacional acelerou o processo de triagem de compostos, permitindo que os pesquisadores focassem em candidatos promissores (FERREIRA *et al.*, 2022b; PAVAN e MORO, 2023).

Os avanços na biologia estrutural também contribuíram para o desenvolvimento de fármacos antivirais. A resolução da estrutura tridimensional de proteínas-chave do SARS-COV-2, como a proteína Spike e a protease principal, forneceu insights valiosos para o design racional de medicamentos. Isso permitiu o desenvolvimento de inibidores específicos, como os usados em tratamentos experimentais para pacientes com COVID-19 (YADAV *et al.*, 2020).

O futuro da pesquisa em fármacos antivirais para COVID-19 inclui uma maior colaboração internacional e o uso de abordagens inovadoras para acelerar o desenvolvimento de medicamentos. A integração de inteligência artificial e aprendizado de máquina no processo de descoberta de fármacos oferece uma oportunidade para identificar rapidamente novos candidatos e prever sua eficácia (YADAV *et al.*, 2020).

2.4 A mutação do vírus e outros desafios

O SARS-COV-2 é um vírus RNA de cadeia simples, membro da família dos coronavírus, conhecido por sua capacidade de causar doenças respiratórias, variando de resfriados leves a condições graves como a síndrome respiratória aguda grave (SARS) e a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) (BOYLAN *et al.*, 2024).

A proteína Spike (S) é fundamental para a entrada do vírus nas células hospedeiras. Ela se liga ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) nas células humanas, facilitando a fusão da membrana viral com a membrana celular. Inibidores que bloqueiam essa interação podem impedir a infecção viral. Anticorpos monoclonais e vacinas foram

desenvolvidos para neutralizar a proteína Spike, reduzindo a capacidade do vírus de infectar novas células (MORGUN *et al*., 2021).

A protease principal (Mpro), também conhecida como 3CLpro, é uma enzima essencial para a replicação do vírus. Ela cliva as poliproteínas virais em proteínas funcionais necessárias para a montagem do vírus. Inibidores de protease, como o nirmatrelvir, têm mostrado eficácia em bloquear essa enzima, impedindo a replicação viral. A RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) é responsável pela replicação do genoma viral. Inibidores de RdRp, como o remdesivir, foram desenvolvidos para interromper a síntese do RNA viral, reduzindo a carga viral no organismo. Esses inibidores se incorporam ao RNA viral em replicação, causando a terminação prematura da cadeia. A proteína Nsp14 possui atividade exoribonuclease e é crucial para a correção de erros durante a replicação do RNA viral. Inibidores dessa proteína podem aumentar a taxa de mutação do vírus, levando a uma replicação defeituosa e, consequentemente, à redução da infectividade viral. Outra proteína Nsp16 é uma metiltransferase que modifica o RNA viral para evitar a detecção pelo sistema imunológico do hospedeiro. Inibir essa proteína pode aumentar a imunogenicidade do vírus, facilitando a resposta imune do hospedeiro e a eliminação do vírus (MORGUN *et al*., 2021).

A alta transmissibilidade do vírus, aliada a uma taxa significativa de casos graves e fatais, resultou em uma grande pressão sobre os sistemas de saúde em todo o mundo, levando a bloqueios, distanciamento social, e uso obrigatório de máscaras em muitos países (MORGUN *et al*., 2021).

O SARS-COV-2, como outros vírus RNA, tem uma alta taxa de mutação, resultando no surgimento de variantes que podem ser mais transmissíveis ou resistentes a tratamentos existentes. A emergência de variantes, como a Delta e a Omicron, criou incertezas sobre a eficácia dos antivirais em desenvolvimento, exigindo pesquisas contínuas e abordagens flexíveis para adaptar os tratamentos às novas características do vírus (AMERATUNGA *et al.*, 2024).

2.5 Caracterização botânica da *Arrabidaea brachypoda*

A família Bignoniaceae abrange 120 gêneros e aproximadamente 800 espécies de plantas que são distribuídas principalmente em regiões tropicais e subtropicais. O gênero Arrabidaea pertence à tribo Bignonieae e contém aproximadamente 70 espécies que ocorrem do México à Argentina. Este gênero é um grande e morfologicamente diverso clado de lianas neotropicais. Estudos fitoquímicos anteriores mostraram que plantas deste gênero produzem C-glucosilxantonas, fenilpropanoides, flavonoides (incluindo antocianidinas), derivados de alantoína e triterpenos. Na medicina tradicional, espécies do gênero Arrabidaea são usadas para

diferentes fins terapêuticos e possuem propriedades adstringentes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e antitumorais (ROCHA *et al.*, 2016).

Figura 1. Representação das folhas da espécie da *Arrabidaea brachypoda*

No Brasil, *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau é comumente conhecida como "cervejinha do campo" e é nativa do ecossistema do cerrado. Seus usos tradicionais incluem o tratamento de cálculos renais e articulações dolorosas (artrite), além de ter demonstrado significativa atividade anti-inflamatória in vivo em modelos animais. Uma triagem aleatória revelou que o extrato de diclorometano de *A. brachypoda* apresentou atividades anti-Trypanosoma cruzi significativas in vitro. O fracionamento guiado por atividade foi realizado e resultou em flavonoides diméricos incomuns com fortes atividades anti-*T. cruzi* in vitro e in vivo (ROCHA *et al.*, 2016).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTERI, C.; CENTO, V.; PIRALLA, A.; COSTABILE, V.; TALLARITA, M.; COLAGROSSI, L. *et al.* Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 reveals multiple lineages and early spread of SARS-CoV-2 infections in Lombardy, Italy. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 434, 2021.

AMERATUNGA, R.; JORDAN, A.; LEHNERT, K.; LEUNG, E.; MEARS, E.R.; SNELL, R. *et al.* SARS-CoV-2 evolution has increased resistance to monoclonal antibodies and first-generation COVID-19 vaccines: Is there a future therapeutic role for soluble ACE2 receptors for COVID-19?. **Antiviral Research**, p. 105894, 2024.

ARAUJO, E.C.G.; SANQUETTA, C.R.; DALLA CORTE, A.P.; PELISSARI, A.L.; ORSO, G.A.; SILVA, T.C. Global review and state-of-the-art of biomass and carbon stock in the Amazon. **Journal of Environmental Management**, v. 331, p. 117251, 2023.

BENTLEY, E.G.; KIRBY, A.; SHARMA, P.; KIPAR, A.; MEGA, D.F.; BRAMWELL, C. *et al.* SARS-CoV-2 Omicron-B. 1.1. 529 Variant leads to less severe disease than Pango B and Delta variants strains in a mouse model of severe COVID-19. **BioRxiv**, p. 2021.12. 26.474085, 2021.

BORTOLIN, R.C.; VARGAS, A.R.; RAMOS, V.M.; GASPAROTTO, J.; CHAVES, P.R.; SCHNORR, C.E. *et al.* Guarana supplementation attenuated obesity, insulin resistance, and adipokines dysregulation induced by a standardized human Western diet via brown adipose tissue activation. **Phytotherapy research**, v. 33, n. 5, p. 1394-1403, 2019.

BOYLAN, S.; ARSENAULT, C.; BARRETO, M.; BOZZA, F. A.; FONSECA, A.; FORDE, E. *et al.* Data challenges for international health emergencies: lessons learned from ten international COVID-19 driver projects. **The Lancet Digital Health**, v. 6, n. 5, p. e354-e366, 2024.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe de Vigilância das Síndromes Gripais: Influenza, Covid-19 e outros vírus respiratórios de importância em saúde pública. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/covid-19/publicacoes-tecnicas/informes/informe-sindromes-gripais-se-14-de-2024-edicao-ampliada.pdf/view. Acesso em: 29 jul. 2024.

CHINNASWAMY, S. SARS-CoV-2 infection in India bucks the trend: Trained innate immunity?. **American Journal of Human Biology**, v. 33, n. 6, p. e23504, 2021.

CRUZ, Ana Flávia Gomes da; REIS, Adriana Cotta Cardoso; SOUSA, Jordano Augusto Carvalho; VAZ, Luana Beatriz Araújo; SILVA, Breno de Mello; MAGALHÃES, Cíntia Lopes de Brito; KOHLHOFF, Markus; OLIVEIRA, Alaíde Braga de; BRANDÃO, Geraldo Célio. High-Resolution Mass Spectrometry Identification and Characterization of Flavonoids from Fridericia chica Leaves Extract with Anti-Arbovirus Activity. **Molecules**, v. 27, n. 18, p. 6043, 2022.

DEEKS, H.M.; WALTERS, R.K.; BARNOUD, J.; GLOWACKI, D.R.; MULHOLLAND, A.J. Interactive molecular dynamics in virtual reality is an effective tool for flexible substrate and inhibitor docking to the SARS-CoV-2 main protease. **Journal of chemical information and modeling**, v. 60, n. 12, p. 5803-5814, 2020.

DIMEGLIO, C.; HERIN, F.; DA-SILVA, I.; PORCHERON, M.; MARTIN-BLONDEL, G.; CHAPUY-REGAUD, S. *et al.* Post-vaccination severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) antibody kinetics and protection duration. **Clinical Infectious Diseases**, v. 75, n. 1, p. e924-e925, 2022.

NASCIMENTO, J.; MIRANDA, A. de J. A.; VIEIRA, F. C.; et al.. A review of the phytochemistry and pharmacological properties of the genus *Arrabidaea*. **Pharmaceuticals *(Basel)***, v. 15, n. 6, p. 658, 2022.

FERRARI, A.J.; SANTOMAURO, D.F.; AALI, A.; ABATE, Y.H.; ABBAFATI, C.; ABBASTABAR, H. *et al.* Global incidence, prevalence, years lived with disability (YLDs), disability-adjusted life-years (DALYs), and healthy life expectancy (HALE) for 371 diseases and injuries in 204 countries and territories and 811 subnational locations, 1990–2021: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021. **The Lancet**, 2024.

FERREIRA, O.O.; CRUZ, J.N.; MORAES, Â.A.B.; FRANCO, C.J.P; LIMA, R.R.; ANJOS, T.O.D. *et al.* Essential oil of the plants growing in the Brazilian Amazon: Chemical composition, antioxidants, and biological applications. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4373, 2022a.

FERREIRA, G.M.; KRONENBERGER, T.; TONDURU, A.K.; HIRATA, R.D.C.; HIRATA, M.H.; POSO, A. SARS-COV-2 Mpro conformational changes induced by covalently bound ligands. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 40, n. 22, p. 12347-12357, 2022b.

FONSECA, D.C.; ROCHA, M.C.; PEREIRA, L.A.; BOTEGA, L.P.; CUTRIM, S.C.; SILVA, F.V. *et al.* Decrease in CD8+ CD45+ CCR7+ CD62L+ T cells in individuals vaccinated with Sinovac-CoronaVac following COVID-19 infection. **Clinical Immunology**, v. 242, p. 109092, 2022.

GREASLEY, S.E.; NOELL, S.; PLOTNIKOVA, O.; FERRE, R.; LIU, W.; BOLANOS, B. *et al.* Structural basis for the in vitro efficacy of nirmatrelvir against SARS-CoV-2 variants. **Journal of Biological Chemistry**, v. 298, n. 6, 2022.

JOSHI, G.; BORAH, P.; THAKUR, S.; SHARMA, P.; MAYANK.; PODURI, R. Exploring the COVID-19 vaccine candidates against SARS-CoV-2 and its variants: where do we stand and where do we go?. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 17, n. 12, p. 4714-4740, 2021.

KUMAR, S.; PANDA, S.P. Comprehensive In Silico Analysis of Uncaria Tomentosa Extract: Chemical Profiling, Antioxidant Assessment, and CLASP Protein Interaction for Drug Design in Neurodegenerative Diseases. **Current Computer-aided Drug Design**, 2024.

KUMAWAT, P.; AGARWAL, L.K.; SHARMA, K. An Overview of SARS-CoV-2 Potential Targets, Inhibitors, and Computational Insights to Enrich the Promising Treatment Strategies. **Current Microbiology**, v. 81, n. 7, p. 1-17, 2024.

KOLA, P.; METOWOGO, K.; MANJULA, S.N.; KATAWA, G.; ELKHENANY, H.; MRUTHUNJAYA, K.M. *et al.* Ethnopharmacological evaluation of antioxidant, anti-angiogenic, and anti-inflammatory activity of some traditional medicinal plants used for treatment of cancer in Togo/Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 283, p. 114673, 2022.

LAMB, Y.N. Nirmatrelvir plus ritonavir: first approval. **Drugs**, v. 82, n. 5, p. 585-591, 2022.

LAMB, Y.N. Remdesivir: first approval. **Drugs**, v. 80, p. 1355-1363, 2020.

LEITE, J. P. V. *et al.* Therapeutic purposes and properties of Arrabidaea species. Journal of Ethnopharmacology, v. 107, n. 1, p. 1-6, 2006.

LIMA, C.A.; CUBERO, M.C.; FRANCO, Y.E.; RODRIGUES, C.D.; NASCIMENTO, J.R.; VENDRAMINI-COSTA, D.B. *et al.* Antiproliferative activity of two unusual dimeric flavonoids, brachydin E and brachydin F, isolated from *Fridericia platyphylla* (Cham.) LG Lohmann: in vitro and molecular docking evaluation. **BioMed Research International**, v. 2022, 2022.

LI, S.; MA, F.; YOKOTA, T.; GARCIA JÚNIOR, G.; PALERMO, A.; WANG, Y. *et al.* Metabolic reprogramming and epigenetic changes of vital organs in SARS-CoV-2–induced systemic toxicity. **JCI insight**, v. 6, n. 2, 2021.

LOPES, V.G.; CHAVES-FILHO, A.B.; YOSHINAGA, M.Y.; HIRATA, M.H.; FERREIRA, G.M. Carnitine palmitoyl transferase I: Conformational changes induced by long-chain fatty acyl CoA ligands. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 112, p. 108125, 2022.

MALONE, B.; URAKOVA, N.; SNIJDER, E.J.; CAMPBELL, E.A. Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, n. 1, p. 21-39, 2022.

MACIEL-SILVA, Vera Lucia; ROCHA, Claudia Quintino da; ALENCAR, et al. Unusual dimeric flavonoids (brachydins) induce ultrastructural membrane alterations associated with antitumor activity in cancer cell lines**. Drug and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 4, p. 665-676, 2023.

MARTIN, O.V.; SHIALIS, T.; BOOBIS, A.R.; VOULVOULIS, N. LESTER, J.N.; SCRIMSHAW, M.D. Defective spermatogenesis: Martin et al. respond. **Environmental Health Perspectives**, v. 116, n. 8, p. A332-A332, 2008.

MENEGUELLI, A.Z.; CAMARGO, E.E.S.; BUCCINI, D.F.; RORIZ, B.C., CERQUEIRA, G.R.; MORENO, S.E. Ethnopharmacological and botanical evaluation of medicinal plants used by Brazilian Amazon Indian community. **Interações (Campo Grande)**, v. 21, p. 633-645, 2020.

MORPETH, S.C.; VENKATESH, B.; TOTTERDELL, J.A.; MCPHEE, G.M.; MAHAR, R.K.; JONES, M. *et al.* A randomized trial of nafamostat for Covid-19. **NEJM evidence**, v. 2, n. 11, p. EVIDoa2300132, 2023.

MOURA, R.S.; RESENDE, Â.C. Cardiovascular and metabolic effects of açaí, an Amazon plant. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 68, n. 1, p. 19-26, 2016.

NAG, K.; TRIPURA, K.; DATTA, A.; KARMAKAR, N.; SINGH, M.; SINGH, M. *et al.* Effect of Hydroxychloroquine and Azithromycin Combination Use in COVID-19 Patients– An Umbrella Review. **Indian Journal of Community Medicine**, v. 49, n. 1, p. 22-27, 2024.

PAGGI, J.M.; PANDIT, A.; DROR, R.O. The Art and Science of Molecular Docking. **Annual Review of Biochemistry**, v. 93, 2024.

PANDEY, K.; LOKHANDE, K.B.; SWAMY, K.V.; NAGAR, S.; DAKE, M. In silico exploration of phytoconstituents from Phyllanthus emblica and Aegle marmelos as potential therapeutics against SARS-CoV-2 RdRp. **Bioinformatics and Biology Insights**, v. 15, p. 11779322211027403, 2021.

PRASAD, S.K.; PRADEEP, S.; SHIMAVALLU, C.; KOLLUR, S.P.; SYED, A.; MARRAIKI, N. *et al.* Evaluation of Annona muricata acetogenins as potential anti-SARS-CoV-2 agents through computational approaches. **Frontiers in chemistry**, v. 8, p. 624716, 2021.

PAVAN, M.; MORO, S. Lessons learnt from COVID-19: computational strategies for facing present and future pandemics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 5, p. 4401, 2023.

REZENDE JÚNIOR, L.M.; ANDRADE, L.M.D.S.; LEAL, A.L.A.B.; MESQUITA, A.B.D.S.; SANTOS, A.L.P.D.A.D.; NETO, J.D.S.L. *et al.* Chalcones isolated from *Arrabidaea brachypoda* flowers as inhibitors of NorA and MepA multidrug efflux pumps of *Staphylococcus aureus*. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 351, 2020.

ROCHA, C.Q.; VILELA, F.C.; CAVALCANTE, G.P.; SANTA-CECÍLIA, F.V.; SANTOS-E-SILVA, L.; SANTOS, M.H. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau roots. **Journal of ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, p. 396-401, 2011.

ROCHA, C. Q. *et al.* Estudos fitoquímicos e atividades biológicas de *Arrabidaea brachypoda.* Journal of Ethnopharmacology, v. 137, n. 1, p. 305-311, 2016

ROHILLA, A.; ROHILLA, S. Drug Repositioning: A Monetary Stratagem to Discover a New Application of Drugs. **Current Drug Discovery Technologies**, v. 21, n. 1, p. 16-34, 2024.

SELVI-SABATER, P.; DE LA RUBIA ORTÍ, J.E.; URBIETA-SANZ, E. Oral Simnotrelvir for Adult Patients with Mild-to-Moderate Covid-19. **The New England journal of medicine**, v. 390, n. 16, p. 1534-1534, 2024.

SEYHAN, A.A. Trials and Tribulations of MicroRNA Therapeutics. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 3, p. 1469, 2024.

SINGH, A.K.; KUMAR, A.; ARORA, S.; KUMAR, R.; VERMA, A.; KHALILULLAH, H. *et al.* Current insights and molecular docking studies of HIV-1 reverse transcriptase inhibitors. **Chemical Biology & Drug Design**, v. 103, n. 1, p. e14372, 2024.

SULIMOV, A.V.; ILIN, I.S.; TASHCHILOVA, A.S.; KONDAKOVA, O.A.; KUTOV, D.C.; SULIMOV, V.B. Docking and other computing tools in drug design against SARS-CoV-2. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 35, n. 2, p. 91-136, 2024.

TALEVI, A.. Computer-Aided Drug Discovery and Design: Recent Advances and Future Prospects. **Computational Drug Discovery and Design**, p. 1-20, 2023.

TO, K.K.W.; SRIDHAR, S.; CHIU, K.H.Y.; HUNG, D.L.L.; LI, X.; HUNG, I.F.N. *et al.* Lessons learned 1 year after SARS-CoV-2 emergence leading to COVID-19 pandemic. **Emerging microbes & infections**, v. 10, n. 1, p. 507-535, 2021.

VÁZQUEZ-BOLAND, J.A.; KUHN, M.; BERCHE, P.; CHAKRABORTY, T.; DOMÍNGUEZ-BERNAL, G.; GOEBEL, W. *et al. Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clinical microbiology reviews**, v. 14, n. 3, p. 584-640, 2001.

VILCHEZ, L.F. V.; ASCENCIOS, J.H.; DOOLEY, T.P. Prophylaxis and Treatment of Inflammation with Pentacyclic Chemotype of Uncaria tomentosa. **Integrative Medicine**, v. 22, n. 3, 2023.

WOROBEY, M. Dissecting the early COVID-19 cases in Wuhan. **Science**, v. 374, n. 6572, p. 1202-1204, 2021.

XIA, X. Domains and functions of spike protein in Sars-Cov-2 in the context of vaccine design. **Viruses**, v. 13, n. 1, p. 109, 2021.

YADAV, M.; DHAGAT, S.; ESWARI, J.S. Emerging strategies on in silico drug development against COVID-19: challenges and opportunities. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 155, p. 105522, 2020.

YOSHIMOTO, F.K. The proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the cause of COVID-19. **The protein journal**, v. 39, n. 3, p. 198-216, 2020.

3 CAPÍTULO 1

EFEITO ANTIVIRAL DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE FLORES DE *Arrabidaea brachypoda* (DC.) BUREAU CONTRA SARS-COV-2

Artigo publicado na Revista Caderno Pedagógico (ISSN: 1983-0882) Qualis Capes A2 (2017-2020) área Biotecnologia

EFEITO ANTIVIRAL DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE FLORES DE *Arrabidaea brachypoda* (DC.) BUREAU CONTRA SARS-COV-2

ANTIVIRAL EFFECT OF COMPOUNDS ISOLATED FROM *Arrabidaea brachypoda* (DC.) BUREAU FLOWERS AGAINST SARS-COV-2

EFECTO ANTIVIRAL DE COMPUESTOS AISLADOS DE FLORES DE *Arrabidaea brachypoda* (DC.) BUREAU FRENTE AL SARS-COV-2

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

Cláudia Quintino da Rocha
Doutora em Química Orgânica
Instituição de formação: Universidade Estadual Paulista
Endereço: São Luís, MA, Brasil
E-mail: rocha.claudia@ufma.br

Robertha Lemes
Doutora em Biologia Celular e Molecular

Instituição de formação: Instituto Oswaldo Cruz
Endereço: Ribeirão Preto, SP, Brasil
E-mail: roberthalemes@hotmail.com

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

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

Mario Hiroyuki Hirata
Doutor em Ciências dos Alimentos
Instituição de formação: Universidade de São Paulo
Endereço: São Paulo, SP, Brasil
E-mail: mhhirata@usp.br

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

Lidio Gonçalves Lima-Neto
Doutor em Ciências Farmacêuticas
Instituição de formação: Universidade de São Paulo
Endereço: São Luís, MA, 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 brachypoda*. 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 brachypoda*. 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 da 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 dos compuestos aislados: la quercitrina (Q) y la rutina ®, extraídas de las flores de *Arrabidaea brachypoda*. 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 *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 *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 *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 Organização Mundial da Saúde (OMS), a pandemia da 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 da 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 *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 *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 *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 *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 *et al.,* 2022).

O antiviral Rendesivir é o primeiro medicamento aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) 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 *et al.,* 2022), bem como os flavonóides quercetina e miricetina, que demonstrou atividade antiviral in silico e in vitro (Kaul *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 *et al.,* 2001; Leite *et al.,* 2006; Martin *et al.,* 2006; Martin *et al.*, 2008). Alguns documentos brasileiros descrevem diferentes compostos obtidos de *Arrabidaea*, bem como sua incorporação em composições farmacêuticas, com atividade antiparasitária, antiulcerogênica, entre outras. *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau 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 *A. brachypoda* 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 METODOLOGIA

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).

Espécimes de plantas

A. brachypoda 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.

Extratos de amostra

Os extratos foram obtidos de flores de *A. brachypoda* (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.

Fração diclorometano obtida do extrato etanólico da flor de *Arrabidaea brachypoda*

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),

Extração e identificação de compostos ativos de flores de *Arrabidaea brachypoda*

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.

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.

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.

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).

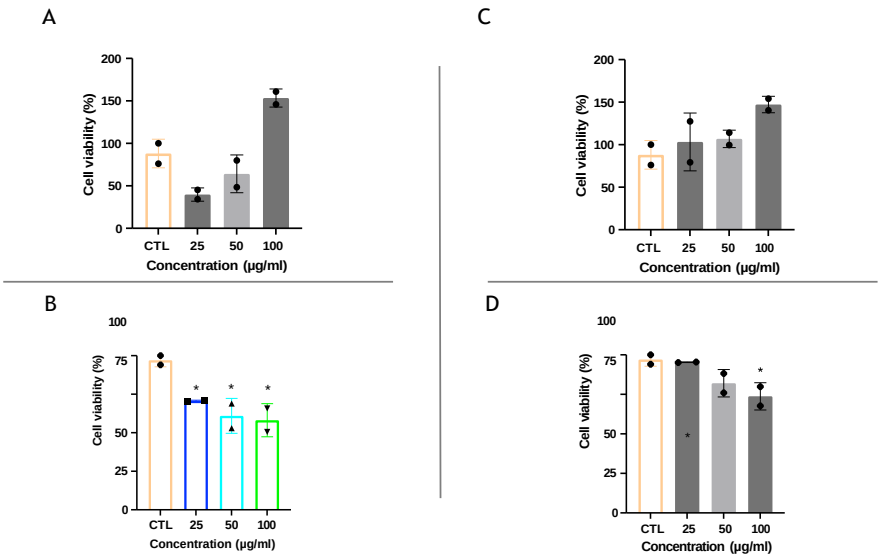
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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.

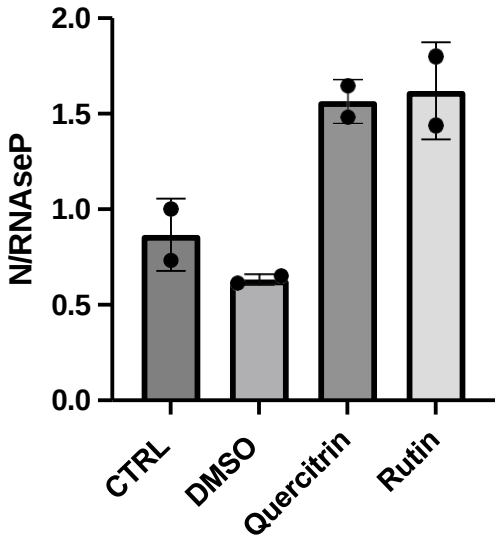


Fonte: Autores

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: Autores

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 *et al.,* 2024). Utilizando simulação in sílico, 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. 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 *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 sílico, sugerindo o seu potencial como candidato terapêutico (Rashid *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 sílico 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 sílico 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 disponibilizados 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 desenvolvimento do estudo.

REFERÊNCIAS

BUOWARI, D. Y.; OGUNDIPE, H. D. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) infection: An epidemiological review. **Annals of Ibadan Postgraduate Medicine**, v. 19, n. Suppl 1, p. S68, 2021.

DE GREGORI, S. *et al.* Hydroxychloroquine blood concentrations can be clinically relevant also after drug discontinuation. **Drugs in R&D**, v. 22, n. 2, p. 155-163, 2022.

DENARO, M. *et al.* Antiviral activity of plants and their isolated bioactive compounds: An update. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 4, p. 742-768, 2020.

GUAN, J. *et al.* Transmission dynamics model and the coronavirus disease 2019 epidemic: applications and challenges. **Medical Review**, v. 2, n. 1, p. 89-109, 2022.

KAUL, R. *et al.* Promising antiviral activities of natural flavonoids against SARS-CoV-2 targets: systematic review. **International journal of molecular sciences**, v. 22, n. 20, p. 11069, 2021.

LE-TRILLING, V.T.K. *et al.* Identification of herbal teas and their compounds eliciting antiviral activity against SARS-CoV-2 in vitro. **BMC biology**, v. 20, n. 1, p. 264, 2022.

LEE, M.M. *et al.* The antiviral activity of *Thuja orientalis folium* against Influenza A virus. **Virus Research**, v. 335, p. 199199, 2023.

LEITE, João Paulo V. et al. Trypanocidal activity of triterpenes from *Arrabidaea triplinervia* and derivatives. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 29, n. 11, p. 2307-2309, 2006.

MARTIN, F. *et al.* Antioxidant C-glucosylxanthones from the leaves of Arrabidaea patellifera. **Journal of natural products**, v. 71, n. 11, p. 1887-1890, 2008.

PANDARANGGA, P. *et al.* In silico simulation of hyperoside, isoquercetin, quercetin, and quercitrin as potential antivirals against the pNP868R protein of African swine fever virus. **Veterinary World**, v. 17, n. 1, p. 171, 2024.

PIRALLA, A.; CHEN, Z.; ZARAKET, H. An update on respiratory syncytial virus. **BMC Infectious Diseases**, v. 23, n. 1, p. 734, 2023.

RASHID, Z. *et al.* Drug repurposing: identification of SARS-CoV-2 potential inhibitors by virtual screening and pharmacokinetics strategies. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 18, n. 04, p. 520-531, 2024.

SHIVALKAR, S. *et al.* Outbreak of COVID-19: a detailed overview and its consequences. **Coronavirus Therapeutics–Volume II: Clinical Management and Public Health**, p. 23-45, 2022.

SAFARCHI, A. *et al.* An update on novel approaches for diagnosis and treatment of SARS-CoV-2 infection. **Cell & Bioscience**, v. 11, p. 1-17, 2021.

YU, F. *et al.* COVID-19 Delta variants—Current status and implications as of August 2021. **Precision Clinical Medicine**, v. 4, n. 4, p. 287-292, 2021.

ZASADA, M.; et al. COVID-19 Vaccines over Three Years after the Outbreak of the COVID-19 Epidemic. **Journal of Vaccine Research**, v. 15, n. 4, p. 123-135, 2023.

ZHOU, H. *et al.* A review of SARS-CoV2: compared with SARS-CoV and MERS-CoV. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 628370, 2021.

ZORN, B. *et al.* 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica.* **Phytochemistry**, v. 56, n. 8, p. 831-835, 2001.

4 CAPÍTULO 2

ANTIVIRAL POTENTIAL OF 3,4-DIMETHOXYCHALCONE AGAINST SARS-COV-2: A PROMISING CANDIDATE

Artigo a ser submetido para publicação na Pharmaceutics (ISSN: 1999-4923) Qualis Capes A1 (2017-2020) área Biotecnologia e fator de impacto de 4,9.

Antiviral Potential of 3,4-Dimethoxychalcone Against SARS-CoV-2: A Promising Candidate

Washington Kleber Rodrigues Lima[1,2*], Glaucio Monteiro Ferreira[3*], Claudia Zeneida Gomes Parente Alves Lima[1], Eduardo Willian de Alencar Pereira[3], Livia Mendonça Munhoz Dati[3], Vitor Galvão Lopes[3], Vanessa Barbosa Malaquias[3], Augusto Mori Akira[3], Cláudia Quintino da Rocha[4], Rodrigo Portes Ureshino[5], Robertha Lemes[5], Roberta Sessa Stilhano[6], Tiago Nicoliche[6], Carla Máximo Prado[7], Liria Hiromi Okuda[8], Kennedy Bonjour[9], Eduardo Martins de Sousa[1,2], Mario Hiroyuki Hirata[3†] and Lidio Gonçalves Lima-Neto[1,2†]

[1] Laboratory of Virology, Post-graduate Programme in Bioscience Applied to the Health, CEUMA University, UniCEUMA, Rua Anapurus 1, 65075-120, São Luís-MA, Brazil

[2] Post-graduate Programme in Biotechnology and Biodiversity (BIONORTE), CEUMA University, UniCEUMA, Rua Anapurus 1, 65075-120, São Luís-MA, Brazil

[3] Department of Clinical and Toxicological Analyses, School of Pharmaceutical Sciences, University of Sao Paulo, Av Prof Lineu Prestes 580, 05508-000, São Paulo, Brazil

[4] Laboratory of Advanced Studies in Phytomedicines, Federal University of Maranhão, São Luís, Maranhão 65080-805, Brazil

[5] Department of Biological Science, Universidade Federal de São Paulo, Diadema, SP, Brazil; Laboratory of Molecular and Translational Endocrinology, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

[6] Department of Physiological Sciences, Santa Casa of São Paulo School of Medical Sciences, São Paulo, SP, Brazil

[7] Department of Bioscience, Instituto de Saúde e Sociedade, Universidade Federal de São Paulo, Santos, SP, Brazil

[8] Biological Institute, Agriculture and Supply Department, São Paulo, SP, Brazil

[9] Laboratory Membrane Biochemistry and Transport, Department of Cell Biology and Infection, Institut Pasteur, Paris 75724 Paris Cedex 15, France

[*] *The authors equally contributed to this work*

[†] *The authors equally contributed to this work*

Tel: +55 (98) 3091-3674 lidio.neto@ceuma.br (L.G.L.N.)

Abstract

The emergence of SARS-CoV-2 in December 2019 led to the unprecedented COVID-19 pandemic, causing millions of deaths worldwide. Efforts to combat the virus have largely focused on understanding its structure and identifying potential therapeutic targets. Among these targets, the spike protein, essential for viral entry into host cells, received significant attention. While existing treatments such as Remdesivir and Nirmatrelvir have limitations, the exploration of natural compounds for antiviral properties offers promising avenues. *Fridericia platyphylla*, a plant species known for its medicinal properties, particularly its flowers, presents a novel resource for potential antiviral compounds against SARS-CoV-2. In this study, we investigated the interaction between a compound derived from *F. platyphylla* flowers, LQPN-05, and the SARS-CoV-2 spike protein through molecular modeling and dynamics simulations. Our results demonstrated favorable interactions between LQPN-05 and the spike protein, particularly with protomer C, suggesting its potential as a therapeutic agent. Further *in vitro* assays revealed that LQPN-05 effectively modified the melting temperature of the spike protein and inhibited viral replication in SARS-CoV-2 infected cells. Importantly, LQPN-05 exhibited minimal cytotoxicity in tested cell lines and demonstrated efficacy in maintaining cellular integrity in an animal model of SARS-CoV-2 infection. These findings highlight the potential of LQPN-05 as a novel inhibitor of SARS-CoV-2 and underscore the importance of exploring natural compounds for antiviral therapy. Furthermore, LQPN-05's anti-SARS-CoV-2 activity holds significance amid emerging drug resistance. In vivo studies showed weight maintenance and potential therapeutic benefits in SARS-CoV-2-infected animals. Fractal analysis of lung histology highlighted cellular organization preservation by LQPN-05. This compound offers multifaceted benefits, mitigating viral infection while maintaining tissue integrity.

Keywords: SARS-CoV-2, LQPN-05, COVID-19 and *Fridericia platyphylla.*

Introduction

In December 2019, a new strain of coronavirus, named SARS-CoV-2, surfaced in China. This virus is responsible for the COVID-19 pandemic, an unprecedented event in the 21st century, which has spread rapidly across the globe, causing millions of deaths in all continents[1,2]. Throughout the course of the pandemic, certain countries, including Italy and India, were particularly hard hit and experienced extremely high mortality rates, leading to a severe strain on healthcare systems[3,4]. Efforts were rapidly initiated to determine the structure of SARS-CoV-2, and proteins such as Spike protein, M^{pro} (Main protease protein) Pl^{pro} (Papain like protein), and RdRp (RNA-dependent RNA polymerase) were recognized as crucial components of the viral cycle, which could potentially serve as targets for developing therapeutic interventions against this novel infectious agent. To this end, various tools and

techniques, including in silico and in vitro approaches, were employed to mitigate the damage caused by SARS-CoV-2[5-7]. Numerous tools were employed in this effort, sometimes combining in silico and in vitro strategies in order to reduce the damage caused by SARS-CoV-2[4,8].

On the other hand, to date, only a few drugs have been approved for use against this novel viral agent, such as Remdesivir and Nirmatrelvir, and their usage is limited to certain criteria in infected patients, thereby limiting their effectiveness in treating the disease[9,10]. Moreover, the protection induced by the vaccines developed thus far appears to decrease substantially after a certain period in some cases, which may increase the likelihood of new SARS-CoV-2 infections[11,12].

Globally, there are currently 331 vaccines in development against SARS-CoV-2, with many undergoing preclinical and clinical trials, while others are either undergoing regulatory approval or have been granted emergency use authorization by numerous countries. These approved vaccines exhibit varying levels of efficacy, age-specific recommendations, and limitations for certain populations, such as pregnant women, children, and individuals with underlying health conditions[13]. Additionally, they are often produced using sophisticated and costly technology, contributing to higher procurement costs.

The SARS-CoV-2 spike protein is a large type I transmembrane protein that plays a crucial role in the virus's life cycle. It is responsible for binding to host cell receptors and facilitating viral entry into the host cell. The spike protein is composed of two functional subunits, the receptor-binding subunit (S1) and the membrane fusion subunit (S2)[14,15].

The S1 subunit is responsible for receptor binding and contains a receptor-binding domain (RBD) that interacts with the human ACE2 receptor to initiate infection. The RBD is located at the apex of the protein and contains a receptor-binding motif (RBM) that directly interacts with the ACE2 receptor[14]. The S1 subunit also contains an N-terminal domain (NTD) that may also function as a receptor-binding domain. The S2 subunit is responsible for mediating membrane fusion and contains two heptad repeats (HR1 and HR2) that are characteristic of class I viral fusion proteins. The HR1 and HR2 domains form a six-helix bundle (6-HB) structure that brings the viral and host cell membranes together, allowing for membrane fusion and viral entry[15].

The spike protein is also heavily glycosylated, with 21-35 N-glycosylation sites, which can affect its recognition by the host immune system and its interaction with host cell receptors. Additionally, the spike protein can be cleaved into two subunits, S1 and S2, by host proteases, which can affect its fusogenicity and infectivity. Understanding the structure and function of the spike protein is crucial for developing effective vaccines and therapeutics against SARS-CoV-2[14]. The spike protein is the primary target of most COVID-19 vaccines, including mRNA

vaccines like Pfizer/BioNTech's BNT162b2 and Moderna's mRNA-1273, which use stabilized mRNA encoding prefusion SARS-2-S to produce a spike protein stabilized in the prefusion conformation as a target for the immune system[14,15].

The genus Arrabidaea, belonging to the Bignoniaceae family, comprises approximately 170 plant species spanning from Mexico to Argentina, including the biodiverse Brazilian cerrado. Traditionally, species within this genus have been utilized in various forms of traditional medicine, valued for their diverse therapeutic properties ranging from astringent and antioxidant to anti-inflammatory, antimicrobial, antitumor, and wound healing activities [16-18]. Among these species, *Fridericia platyphylla* (Cham.) L.G. Lohmann, colloquially known as "cipó una," "cervejinha-do-campo," and "tintureiro," holds prominence. It has been historically employed for addressing kidney stones and joint discomfort, with its flowers showing promise in exhibiting antimicrobial properties[19]. Consequently, these flowers represent potential candidates for yielding active compounds against SARS-CoV-2.

Several documents originating from Brazil meticulously document the extraction of diverse compounds from Fridericia spp., illustrating their incorporation into pharmaceutical formulations and demonstrating their efficacy against ailments like parasitic infections and ulcers. Yet, this study represents a groundbreaking endeavor in exploring molecules, fractions, or extracts derived from *F. platyphylla* as potential weapons against COVID-19 (SARS-CoV-2). Consequently, there's a compelling proposal to utilize compounds obtained from *F. platyphylla* flowers, capitalizing on their antiviral properties to combat SARS-CoV-2.

Material and Methods

Ligand preparation

The ligand LQPN-05 (3,4-dimethoxychalcone) was built using the protocol published[20]. The free energy of binding was calculated based on a previous study[21]. Meanwhile, the tanimoto index was calculated using the Rdkit library (https://www.rdkit.org/).

Structure preparation

SARS-CoV-2 SPIKE structure was created by Maestro edition tool (PDB:6M17[22]). The structure was prepared by adding hydrogen atoms and fixing missing side chains using the Biopolymer tool of Sybyl-X 2.0 (TRIPOS Inc.) and PROPKA[23] code (Github code: https://github.com/jensengroup/propka).

Molecular docking

The docking of LQPN-05 ligand was performed by GOLD 2022.3 (CCDC, Cambridge, UK) software[24]. The docking runs were carried out with default settings and coordinates grid (8 Å) directed to Lys417, Asn501 and Gln474 to protomers A, B and C site on PDB: 6M17[22]. The best-ranked docking poses of LQPN-05 were determined accordingly to the GoldScore fitness function and visual inspection of poses[25].

Molecular dynamics simulations

The prepared Spike complex (Apo and LQPN-05) was simulated through Molecular Dynamics (MD). The engine used was the software Desmond[26] with the OPLS-2005 force-field[27]. The system was constructed with a protein-ligand complex, a predefined solvent water model (TIP3P[28]), charge neutralizing counterions (Na^+ or Cl^-), and periodic boundary conditions (PBC). The system box was constructed considering at least the distance of 15 Å from the protein atoms to the box edges. Short-range coulombic interactions were set at a cut-off value of 9.0 Å and the integration time step calculated every 2 fs, while long-range coulombic interactions were estimated using the Smooth Particle Mesh Ewald (PME) method[29]. Each system was subjected to at least 50 ns.

Atomic interactions, distances, and secondary structure elements were determined using the Simulation Event Analysis pipeline as implemented in Maestro 2022v.4 (Schrödinger LCC). The criteria for protein-ligand H-bond are 2.5 Å distance between the donor and acceptor atoms (D — H···A); ≥120° angle between the donor-hydrogen-acceptor atoms (D — H···A); and ≥90° angle between the hydrogen-acceptor-bonded atoms (H···A — X). The protein-water and water-ligand H-bonds were considered when 2.8 Å (D—H···A); ≥110° (D—H···A); and ≥90° (H···A—X). Non-specific hydrophobic interactions are defined by the presence of a hydrophobic side chain within 3.6 Å of the ligand's aromatic or aliphatic carbons. π-π interactions are recorded when two aromatic groups are stacked face-to-face or face-to-edge and within 4.5 Å of distance. The MD trajectories were visualized in PyMol v.2.2.3 (Schrödinger LCC, New York, NY, USA). The interactions were calculated by script available on Schrodinger package 2022v.4.

Extraction of LQPN-05

<u>Reagents:</u> Water, methanol, ethanol (98%, Isofar, Duque de Caixas, Rio de Janeiro, BR), dichloromethane (99.5%, Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo, BR), hexane (99%, Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo, BR), ethyl acetate (99.5%, Êxodo Científica, Sumaré, São Paulo, BR), ethyl acetic acid (99.5%, Sinergia Científica, Campinas, São Paulo, BR).

Botanical Material Collection: Specimens of *F. platyphylla* were collected in the cerrado regions of Minas Gerais state, in João Pinheiro municipality (latitude 17°44′33″ S and longitude 46°10′21″ W). Taxonomic identification was performed by the José Badine Herbarium at the Federal University of Ouro Preto and registered under number 17,935. Plant material collection was authorized by the Brazilian Genetic Heritage Management Council – SisGen, under registration number A451DE4.

Extraction of Extracts: Extracts were obtained from flowers (500 g) of *F. platyphylla*, where the material was ground in a knife mill and subjected to exhaustive extraction using a percolator with Ethanol: Water 70% as the extracting solvent. All obtained extract was concentrated using a rotary evaporator (Fisaton, São Paulo, SP) at reduced pressure and maximum temperature of 40°C, then lyophilized, resulting in the crude extract with a gross yield of 60 g.

Obtaining Dichloromethane Partition of *Fridericia platyphylla* Flowers: About 6.2 g of the alcoholic extract was dissolved in 100 mL of water/methanol solution 7:3 and 25 mL of dichloromethane at a temperature between 25 and 30°C. After agitation in a separation funnel, phase separation was performed away from light. The organic phase was removed, and another 25 mL of dichloromethane was added, repeating the agitation and phase separation steps away from light. The process was repeated three times, ensuring that the organic phase no longer showed any coloration when mixed with the aqueous phase. The organic phase was then dried in a rotary evaporator (Fisaton, São Paulo, SP), resulting in a final mass of 1.5 g and a yield of 24.2%.

Extraction and Identification of Active Compounds from *Fridericia platyphylla* Flowers: The organic phase was first purified by open glass column chromatography with a stationary phase composed of silica gel 60 (0.063-0.200 mm) (Merck, New Jersey, USA) in a weight ratio of 1:3. The column packing was done with hexane, and then the sample was placed on top of the column. A gradient of increasing solvent polarity was used as the mobile phase, using hexane/ethyl acetate and ethyl acetate/methanol in increasing polarity gradients. A total of 300 fractions were obtained, then grouped by thin-layer chromatography (TLC) according to the similarity of their profiles using dichloromethane:methanol (9:1) as the mobile phase and sulfuric acid-p-anisaldehyde as the developer. Fractions obtained from the chromatographic column were then analyzed by high-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry (HPLC-MS). The HPLC system comprised a solvent delivery module equipped with a dual alternate piston pump, along with a UV-VIS detector (SPA-10A), coupled to a Luna C18 Ultra column (5 µm x 4.6 µm x 250 µm). The mobile phases used were composed of 2% acetic acid in water (phase A) and 0.01% acetic acid in methanol (phase B), used in an 80-

minute gradient elution, with an initial condition of 95% A over 30 minutes and a flow rate of 1 mL/min. UV absorbance measurements were performed at 210 and 254 nm, and UV spectra (PDA) were collected between 190 and 600 nm, with 1 nm increments. The LC system was coupled to a mass spectrometer Amazon X (Bruker, Massachusetts, USA), equipped with electrospray ionization (ESI) and multiple stage fragmentation analysis (MS2, MS3, and MSn) through an ion-trap analyzer (IT) in positive mode. 20 µL of sample was injected. Settings included a capillary voltage of 5 kV, capillary temperature of 275°C, carrier gas flow (N2) of 8 L/min, and nitrogen nebulizer pressure at 10 psi. The acquisition range extended from m/z 100 to 2000, with multiple capture events.

Thermal shift assay

The Thermal Shift Assay (TSA) was performed on the QuantStudio12k real-time-PCR system (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA), as previously described[30], with adaptations. Briefly, 5µM SARS-CoV protein (Abcam Inc, Toronto, ON, Canada) was incubated with LQPN-05 (1 µM – 30 µM) at room temperature for 20 minutes. 2x SYPRO orange dye was added, and the plate was heated from 25 to 95 °C with a heating rate of 0.05 °C/s to obtain the melting temperature (Tm).

Cell assay

Evaluation of Pharmacological Activity against Vero E6 Cells (SARS-CoV-2)

Vero E6 cells were seeded at a density of 1x10^5 cells per well. After 24 hours of adhesion in DMEM F12 medium enriched with 10% fetal bovine serum, treatment with substances LQPN 05 (50nM) was carried out for 2 hours. Subsequently, the cells were washed and infected with SARS-CoV-2 using an MOI of 0.2 (2x10^4 PFU) in DMEM F12 medium containing 2% fetal bovine serum. After two hours of viral exposure, the medium was replaced, and the cells were incubated for an additional 24 hours under the same conditions as the initial treatment, using DMEM F12 with 10% fetal bovine serum for study continuation. After the treatment and infection steps, cell RNA was extracted and analyzed using the qPCR-RT technique (Life Technologies). The N (viral) and RNAseP (cellular endogenous control) genes were evaluated. Data analysis was performed using the 2-ΔΔ CT method, and the results were expressed as the average of two independent experiments, each performed in triplicate.

Cell viability using MTT assay

Cell viability was performed as proposed by Enayathullah et al.[31] with some modifications. Briefly, A549 and Vero E6 cells were cultured in Ham's F12 medium (10% Fetal

Bovine Serum, 1% streptomycin/penicillin) (Gibco, USA) until reaching 80% confluency in 75cm² flasks (37°C, 5% CO^2). After that, they were centrifuged at 1000 rpm for 7 minutes and plated in 96-well cultured plate at a concentration of $1.5x10^5$ cells per well. After 24h, the medium was changed, the wells washed with phosphate buffer saline (PBS) and LQPN05, in triplicate, diluted in Ham's F12 medium was added (100µM – 0.3 µM) and incubated for 48h at 37°C, 5% CO^2. Untreated wells were used as controls. Again, the supernatant was discarded, the wells were washed with PBS, and 100 µL of MTT (0.5 mg/mL) (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, Sigma-Aldrich, USA) was added. Finally, the supernatant was discarded, and the formazan crystals were dissolved in 100 µL of DMSO. The plate was incubated for 4 hours at 37°C, 5% CO^2, then the supernatant was discarded, and the formazan crystals were discarded in 100 µL of DMSO. Viability was measured at 570 nm on the Agilent BioTek Synergy Mx spectrophotometer.

In vivo assay

The experiments were conducted at the FCF-IQ University of São Paulo animal facility, chosen for its stringent conditions for animal maintenance (Process number 01200.003570/98-08). Four different compound concentrations were tested (125, 62.5, 37.5, 12.5 and 2.5 mg/kg), with 5 animals for each concentration, following OECD recommendations (2002). The animals were treated for 15 days, with blood collected on day 0 and on the euthanasia day. Subsequently, a five-day in vivo assay was conducted involving 15 animals divided into three groups: control, SARS-infected (Strain SSPu-0691/B.1.1.28; Genbank: Mw441768) without LQPN-05 (wo), and SARS-infected (Strain SSPu-0691/B.1.1.28; Genbank: Mw441768) with LQPN-05 (w). Throughout the experiment, the animals received intraperitoneal (IP) administrations of 12.5 mg/kg of LQPN-05, diluted in 1% saline solution. Histological sections of the animals' lungs were then evaluated for analysis.

Ethics statement

All experimental protocols were approved by the internal ethical committee of the University of São Paulo (#8912/2023)

Statistical analysis

The normality of variables was evaluated using the Kolmogorov– Smirnov normality test. The statistical differences between the groups were analyzed using One-way ANOVA followed by Tukey test (for the comparison of three or more groups for Gaussian data) or

Kruskal-Wallis followed by Dunn method (for non- parametric data). p values <0.05 were considered statistically significant. Data are expressed as mean ± standard deviation (SD).

Results and discussion

Firstly, our findings began with the isolation of LQPN-05 (3,4-dimethoxy-chalcone) from *F. platyphylla* flowers using Open Column Chromatography. We compared our findings with those of Rezende-Júnior et al.[32], who also identified this compound in *F. platyphylla* flowers. Subsequently, we analyzed the purified compound using LC-MS. LQPN-05, also known as 3,4-dimethoxy-chalcone, exhibited a distinct peak at 7.05 minutes (Supplementary Fig. 1A), indicating its presence. Further analysis via mass spectrometry confirmed its molecular mass. Comparison with the results of Rezende-Júnior et al.[32] provided validation (Supplementary Fig. 1B). Additionally, we conducted supplementary MS/MS analyses to confirm the compound's structural identity.

Structurally, the spike protein is subdivided into three protomers and nine domains (SS, NTD, RBD, RBM, FP, HR1, HR2, TM, and CD; Fig. 1A,B,C), each playing a crucial role in its function and interaction with host cells. These domains contribute to the protein's ability to recognize and bind to receptors on the surface of host cells, facilitate fusion of viral and cellular membranes, and mediate entry of the virus into the host cell, ultimately leading to infection. Understanding the structure and function of these domains is essential for the development of therapeutics and vaccines targeting the spike protein. Additionally, variants of the spike protein, such as E484K and N501Y, are located within the RBM (Receptor Binding Motif) domain[33,34]. These mutations can alter the protein's ability to bind to host cell receptors, potentially affecting its infectivity and transmissibility.

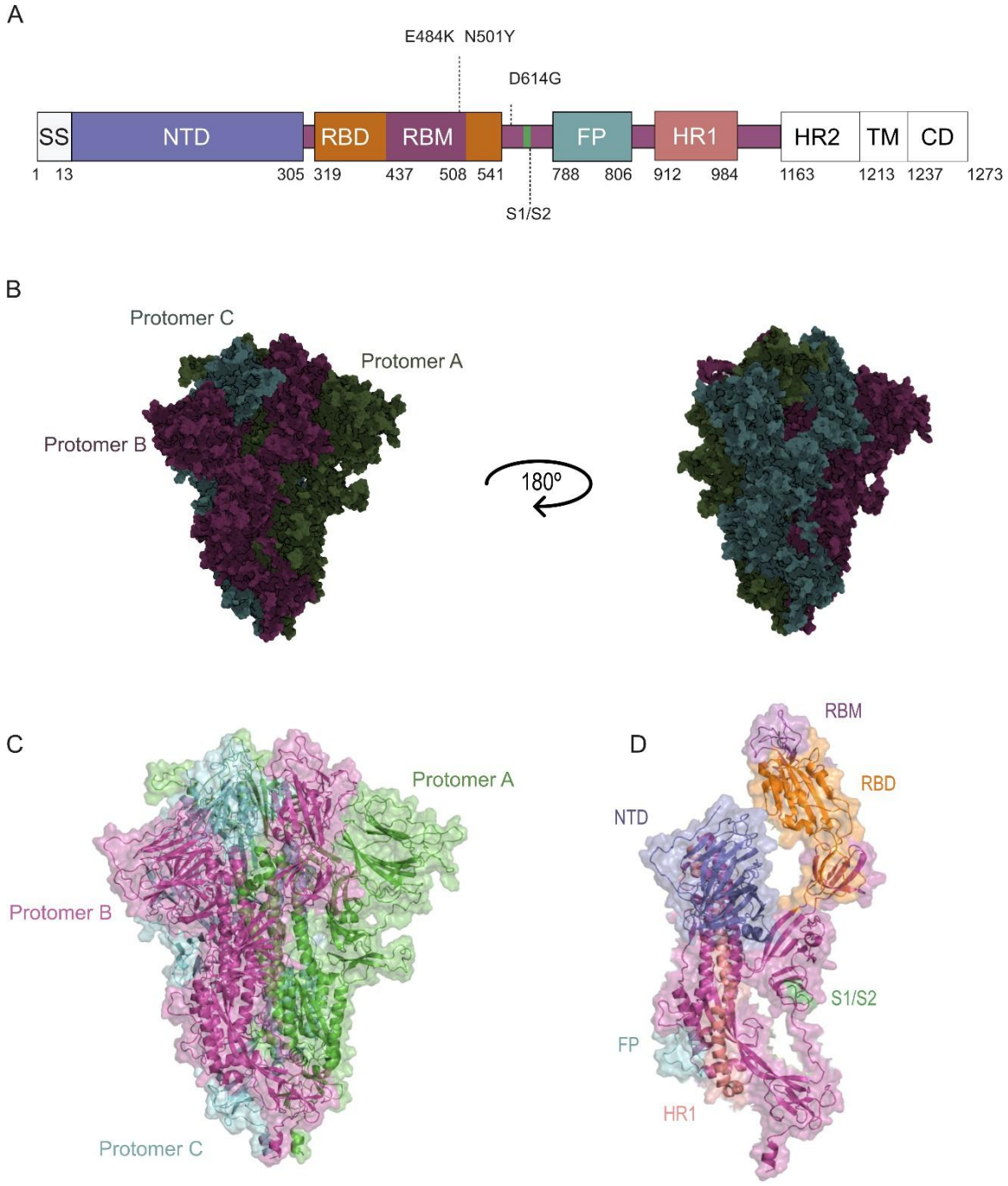


Figure 1. Overview of spike protein of SARS-CoV-2. (**A**) The spike protein of SARS-CoV-2, labeled with amino acid positions and functional domains. (**B**) Three protomers of the SARS-CoV-2 spike protein arranged in a trimeric form. Each protomer is labeled A, B, and C. (**C**) Close-up view of the RBD and NTD of protomer A. (**D**) Close-up view of the S1/S2 cleavage site and the FP of protomer B. *The functional domains of the S protein include the N-terminal domain (NTD); the receptor-binding domain (RBD); the receptor-binding motif (RBM), the fusion peptide (FP); heptad repeat 1 (HR1); heptad repeat 2 (HR2); the transmembrane domain (TM); and the cytoplasmic domain (CD).

Another notable variant, D614G, is located within the S1/S2 hinge region. This mutation has been associated with increased viral infectivity and transmissibility, possibly due to its impact on the stability and conformational changes of the spike protein[34]. The RBM domain of the spike protein is a crucial region involved in binding to host cell receptors. It contains specific

amino acid sequences that interact with the host cell receptor ACE2, facilitating viral entry into the host cell. Variants like E484K and N501Y are located within this RBM domain, and mutations in this region can impact the protein's ability to bind to host cell receptors, potentially affecting infectivity and transmissibility[35,36].

We conducted a molecular modelling impact to evaluate the interaction of the LQPN-05-Spike protein complex. It was observed that LQPN-05 interacts similar on protomer's A, B and C (Fig. 2A) by hydrogen bonds (Asn370, Lys458 and Tyr421; Fig. 2B) and hydrophobic bonds (Val367, Leu455, Phe456 and Phe490; Fig. 2B). On the other hand, our result suggests that LQPN-05 has better energy profile interaction with protomer C than protomer's A and B (Fig. 2C). Additionally, MD results showed that residues Asn370 (Protomer A 65.5%; Protomer B 97.1%; and Protomer C 89.4%), Lys458 (Protomer A 90.1%; Protomer B 96.4%; and Protomer C 92.3%) and Tyr421(Protomer A 89.1%; Protomer B 91.1%; and Protomer C 96.7%) interacts with by hydrogen bonds, while Val367 (Protomer A 89.1%; Protomer B 91.1%; and Protomer C 96.7%), Leu455 (Protomer A 89.1%; Protomer B 91.1%; and Protomer C 96.7%), Phe456 (Protomer A 89.1%; Protomer B 91.1%; and Protomer C 96.7%) and Phe490 (Protomer A 89.1%; Protomer B 91.1%; and Protomer C 96.7%) interacts by hydrophobic bond (Supp. Table 1).

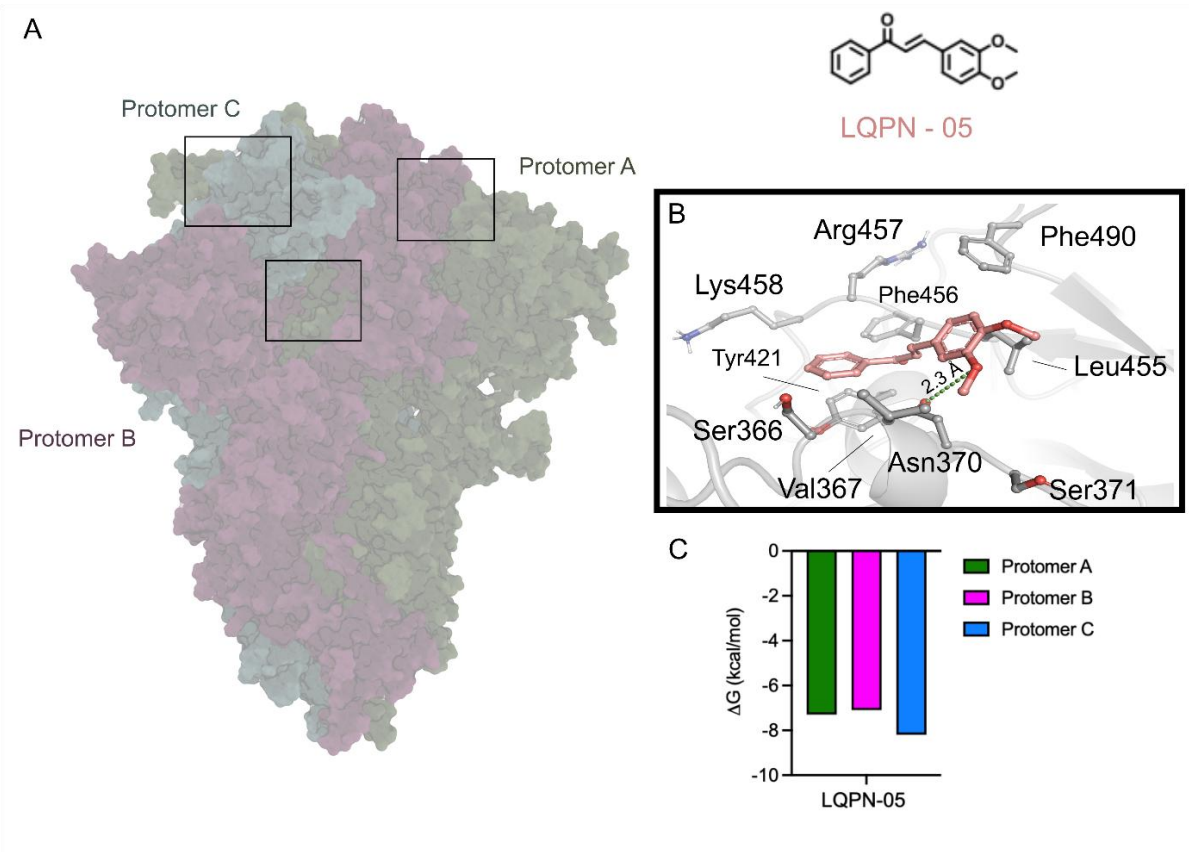


Figure 2. Molecular modeling results to spike protein of SARS-CoV-2. (**A**) spike protein of SARS-CoV-2 subdivided in Protomer's A, B and C. (**B**) Protomer C and LQPN-05 profile interaction. (**C**) Energy profile (kcal/mol) of spike protein of SARS-CoV-2 by Protomer's A, B and C.

The bonds between LQPN-05 and the SARS-CoV-2 spike protein are important because they show how LQPN-05 attaches to the protein. Specifically, hydrogen bonds form between certain amino acids on both LQPN-05 and the spike protein, providing stability to their connection. These bonds help position LQPN-05 correctly for binding. In addition, hydrophobic bonds occur between certain hydrophobic amino acids on both LQPN-05 and the spike protein. These bonds strengthen the connection between the two and increase their overall attachment. LQPN-05 interacts similarly with different parts of the spike protein, suggesting it can attach to multiple sites, possibly making it more effective as a blocker. However, it shows a stronger interaction with one part, protomer C, indicating it might bind better there. This could be due to better arrangement of bonds or other factors like electrical charges or changes in the shape of the spike protein.

It was corroborated that Protomer C on the spike protein of SARS-CoV-2 holds significant importance as it facilitates the binding to the human ACE2 receptor, initiating viral entry into host cells. The spike protein consists of three identical protomers, each containing a receptor-binding domain (RBD) capable of attaching to the ACE2 receptor[6]. Protomer C stands out because it exhibits a higher affinity for the ACE2 receptor compared to protomers A and B, primarily due to the unique conformation of its RBD, which is more likely to be in the active "up" position, facilitating easier binding to the ACE2 receptor[37]. Moreover, protomer C is a prime target for neutralizing antibodies developed as potential therapeutics for COVID-19[38]. These antibodies specifically bind to the RBD in protomer C, preventing the virus from binding to the ACE2 receptor and thus hindering viral entry into host cells. In essence, protomer C of the SARS-CoV-2 spike protein plays a critical role in viral entry and serves as a crucial target for the development of therapeutics and vaccines against COVID-19[15].

To assess the antiviral potential of compound LQPN-05 in vitro, we utilized a Thermal Shift Assay (TSA), a rapid and effective method in drug discovery. TSA measures the binding of a target with inhibitors by detecting the increase in melting temperature. In our study, we focused on the effect of LQPN-05 on SARS-CoV-2. First, we determined the melting temperature (Tm) of control to be 48.6°C. Subsequently, we investigated the impact of LQPN-05 across various concentrations. Our findings indicate that LQPN-05 effectively modifies the melting temperature across all tested concentrations, suggesting its binding affinity with this enzyme (Fig 3A). Notably, our analyses revealed that the concentration required to inhibit 50%

of RdRp activity is 3.01 µM. This highlights the potential of LQPN-05 as a promising inhibitor of SARS-CoV-2 and warrants further exploration for its therapeutic implications.

Few studies have explored the biological activity of Thermal Shift Assay (TSA) compounds against SARS-CoV-2 targets[30]. In comparison to existing research on inhibitors of SARS-CoV-2 enzymes, LQPN-05 demonstrated notable efficacy. It required lower concentrations to achieve a higher increase in melting temperature (ΔTm) on its target. Specifically, LQPN-05 achieved a significantly higher ΔTm against control at a concentration more than 10 times lower in µM compared to other candidate inhibitors like Baicalein [38]. This suggests a potentially much higher affinity of LQPN-05 for the target[39,40]. Based on these findings, we conducted a cell assay to assess the cytotoxicity of both compounds on A549 and VeroE6 cells, as well as their efficacy in suppressing viral replication in VeroE6 cells.

After confirming the in vitro binding of LQPN-05, we investigated its cytotoxicity profile in two cell lines. Our findings revealed satisfactory cell viability, with a CC50 (half-maximal cytotoxic concentration) of 7.04 µM in Vero E6 cells and 35.4 µM in A549 cells (Fig. 3B,C). It's noteworthy that other compounds exhibited a comparable cytotoxicity profile to LQPN-05. Moreover, it's essential to highlight that, like our study, previous research indicates that different cell lines may respond differently to the same compound. This underscores the importance of assessing cytotoxicity across multiple cell lines to gain a comprehensive understanding of a compound's safety profile[41,42].

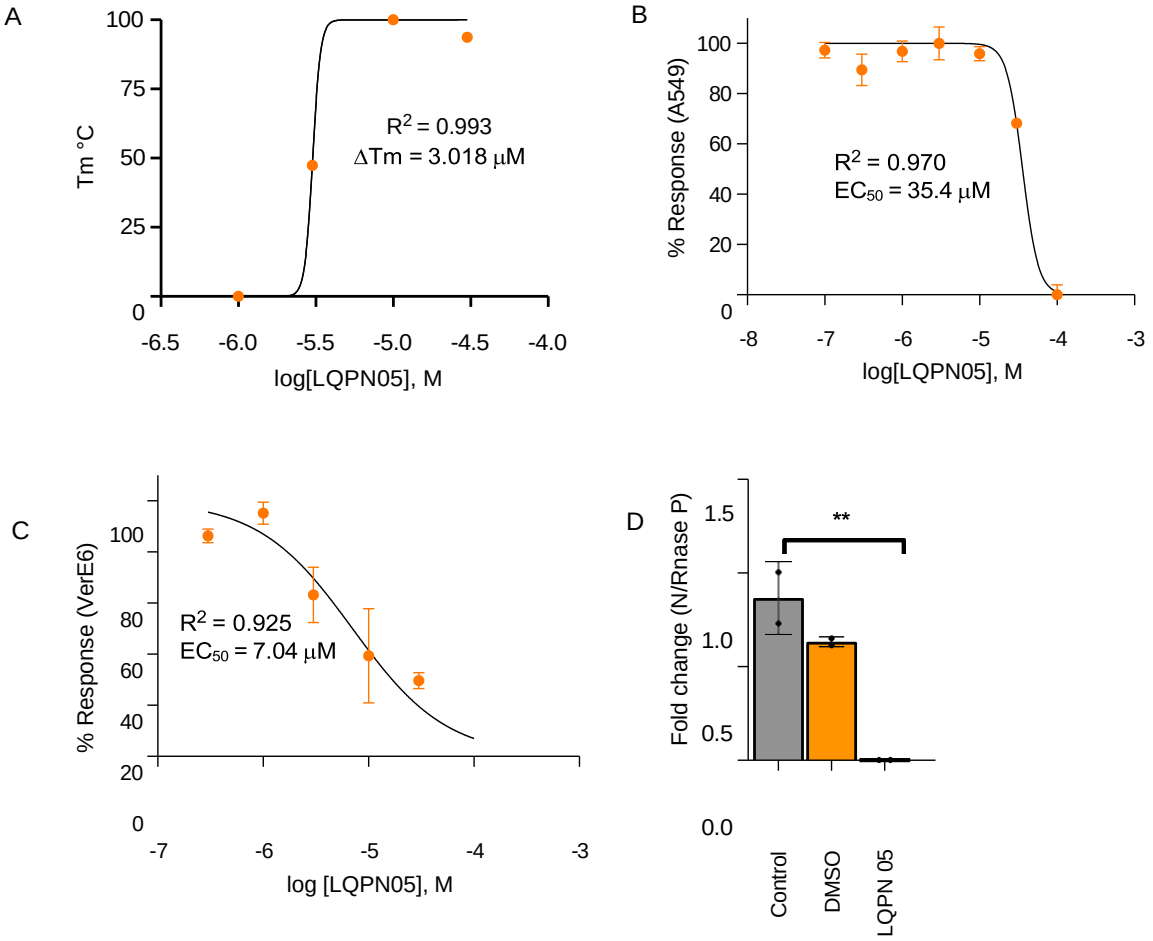


Figure 3. Relationship between concentration of LQPN-05 (log[LQPN-05]) and response for SARS-CoV-2 virus. (**A**) Thermal shift assay result, R^2 value (goodness-of-fit) and ΔTm value (change in melting temperature) are indicated. (**B**) EC_{50} value and percentage response in A549 cells versus log[LQPN-05]. (**C**) EC_{50} value and percentage response in VeroE6 cells versus log[LQPN-05]. (**D**) Fold change in activity of RNase P enzyme compared to a control (N/Rnase P) versus log[LQPN-05].** p-value < 0.001.

In our study, we proceeded to evaluate the potential of LQPN-05 to inhibit viral replication in SARS-CoV-2 infected cells. We observed a significant reduction ($p<0.05$) in viral load, as measured by RT-qPCR in infected cells, when exposed to 50 µM LQPN-05 (Fig. 3D). This finding highlights the potent antiviral effect of LQPN-05 against SARS-CoV-2. Interestingly, similar antiviral effects have been reported for other flavonoids isolated from plants against viruses within the coronavirus genus. This suggests promising therapeutic applications for LQPN-05 and underscores the potential of natural compounds in combating viral infections. Further research is warranted to elucidate the mechanisms underlying the antiviral activity of LQPN-05 and its therapeutic implications for COVID-19 treatment[15,43,44].

These findings hold significance as they introduce a new compound with anti-SARS-CoV-2 activity. While antivirals like Remdesivir and Nirmatrelvir have shown effectiveness against SARS-CoV-2, there's emerging evidence of the virus developing resistance to these drugs. Mutations such as S759A, V792I, E802D, and V166A in RdRp have been documented

to increase the IC_{50} of Remdesivir in vitro. Similarly, increases in the effective concentration of Nirmatrelvir have been observed in the M^{pro} of SARS-CoV-2 with mutations like L50F, E166V, and L167F. These mutations have the potential to be transmitted in vivo, indicating the evolving challenge of drug resistance[45-48]. Therefore, the discovery of new compounds like LQPN-05 with anti-SARS-CoV-2 activity is crucial, especially considering the potential for resistance development to existing antiviral treatments. Further research into these novel compounds can offer alternative therapeutic options and help address the evolving landscape of viral resistance.

Additionally, we conducted a five-day in vivo assay involving 15 animals divided into three groups: control, SARS-infected without LQPN-05 (wo), and SARS-infected with LQPN-05 (w). Throughout the experiment, the animals received intraperitoneal (IP) administrations of 12.5 mg/kg of LQPN-05, diluted in 1% saline solution. Subsequently, histological sections of the animals' lungs were evaluated for analysis (Fig. 4A). We observed a substantial increase in weight over the course of the study in the group treated with LQPN-05 compared to the control group (SARS-infected without LQPN-05, wo). This suggests that LQPN-05 may have helped maintain the weight of these animals during the study period (Fig. 4B). Weight loss is a common clinical feature observed in COVID-19, both in humans and animal models of the disease. The severity of weight loss can vary depending on factors such as the viral variant and the species of the host. Additionally, other clinical manifestations such as splenic atrophy and neurological symptoms have been reported in animal models of COVID-19[49,50].

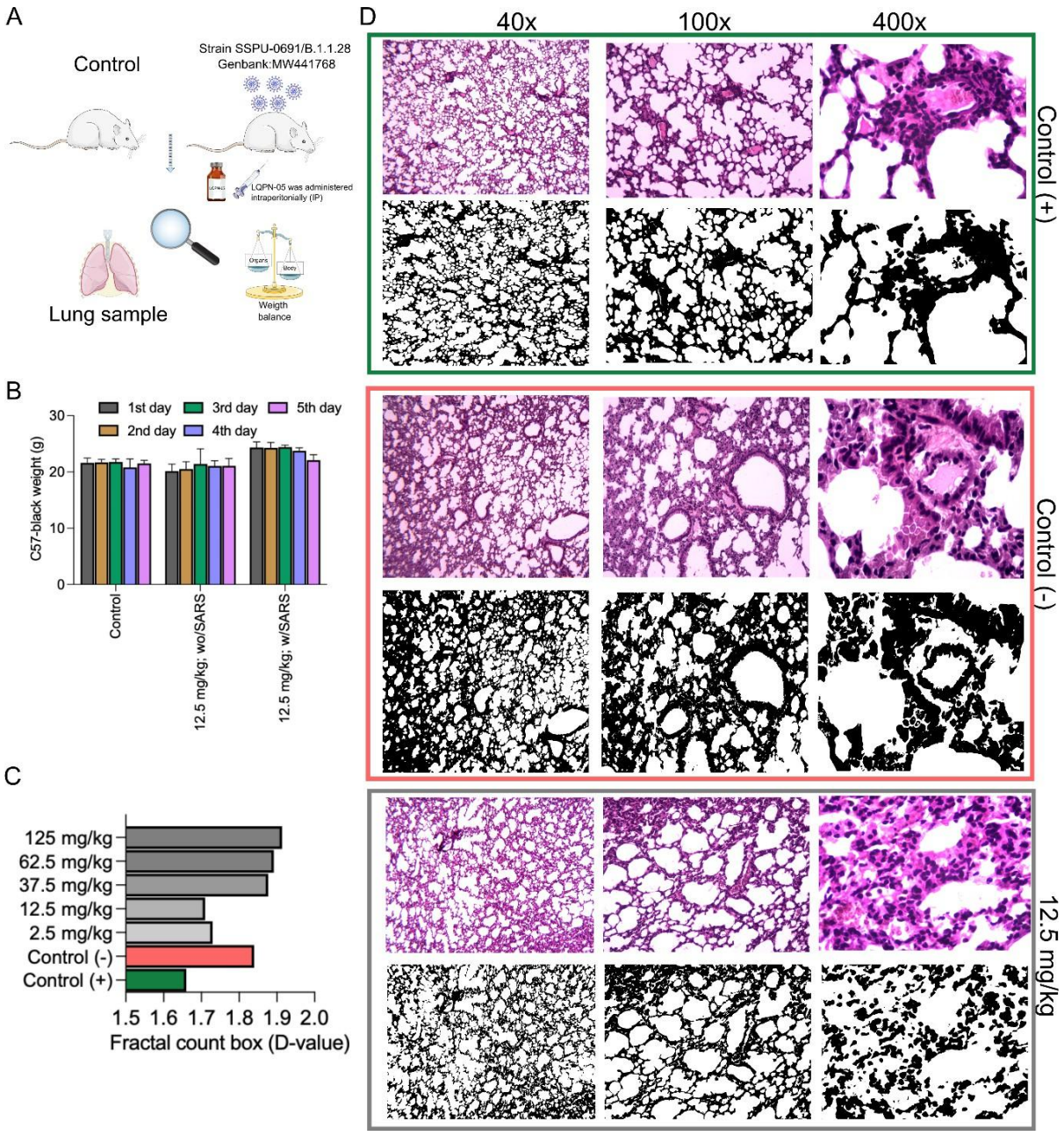


Figure 4. Lung pathology following LOPN-05 administration. (**A**) Workflow of in vivo assay. (**B**) Weight loss analysis during the experiments. (**C**) Fractal count box analysis. (**D**) Fractal analysis was performed on the lung tissue images (40x, 100x and 400x). *Labels for the groups (Control (-), Control (+), 12.5 mg/kg, 37.5 mg/kg, 62.5 mg/kg, 125 mg/kg). Note that Control (-) and Control (+) likely refer to different control groups within the experiment. Fractal analysis was performed on the lung tissue images (details not shown in the provided image). LOPN-05 was administered intraperitoneally (IP).

We analyzed the histological of lung by fractal count box analysis (Fig. 4C,D). Fractal analysis is a method used in histological analysis to measure the complexity and space-filling properties of cells and tissues. It involves placing a grid of boxes of different sizes over an object, counting how many boxes are needed to cover it, and then analyzing the relationship between box count and size to calculate the fractal dimension (FD)[51]. Based on the analysis of FD values, a threshold of FD < 1.5 was associated with an appropriate level of cellular

organization, as evidenced by observations in the control group with LQPN-05 treatment (+). Conversely, FD values exceeding 1.5 indicated cellular disorganization, as observed in the untreated control group (-). This observation suggests a correlation between FD values and the level of cellular organization. Approaching the value of 2 indicated cellular disorganization, as observed in the untreated control group.

Interestingly, the administration of LQPN-05 at concentrations of 12.5 and 2.5 mg/kg not only failed to induce cytotoxic effects but also exerted a notable control over viral infection in animals challenged with SARS-CoV-2 (Strain SSPu-0691/B.1.1.28; Genbank: Mw441768). This observation highlights the potential therapeutic efficacy of LQPN-05 in combating SARS-CoV-2 infection, while also preserving cellular organization within the tissue microenvironment. It was reported that the model employed in the study accurately reflects several clinical features commonly observed in humans with COVID-19, including splenic atrophy, lymphopenia characterized by decreased B cell counts, and weight loss[49,50]. Animals experienced substantial weight loss, with approximately 22% ± 1% reduction in weight within 5 days of SARS-CoV-2 injection. In contrast, the control eGFP/SARS-CoV-2 group did not demonstrate any significant weight loss[50].

The findings underscore the multifaceted benefits of LQPN-05, demonstrating its ability to both mitigate viral infection and maintain cellular integrity. Further investigations into the mechanisms underlying these effects could pave the way for the development of novel therapeutic strategies targeting viral infections while preserving tissue homeostasis.

Conclusion

In summary, the spike protein of SARS-CoV-2 comprises three protomers and nine domains, each crucial for its function and interaction with host cells. Understanding these structural components is vital for therapeutic and vaccine development. Notable variants like E484K and N501Y impact the protein's ability to bind to host receptors, influencing infectivity. Molecular modeling revealed LQPN-05's interaction with the spike protein, suggesting its potential as an inhibitor. In vitro assays demonstrated LQPN-05's ability to modify viral enzyme activity, with promising efficacy at low concentrations. Moreover, it exhibited minimal cytotoxicity and effectively inhibited viral replication in cell assays.

LQPN-05's anti-SARS-CoV-2 activity holds significance amid emerging drug resistance. In vivo studies showed weight maintenance and potential therapeutic benefits in SARS-CoV-2-infected animals. Fractal analysis of lung histology highlighted cellular organization preservation by LQPN-05. This compound offers multifaceted benefits, mitigating

viral infection while maintaining tissue integrity. Further research into its mechanisms could yield novel therapeutic strategies against viral infections while safeguarding tissue homeostasis.

Acknowledgments

In Brazil, this study was supported by FAPESP (Grant # 2016/12899-6, 2021/11205-9, 2020/13480-4). GMF and MHH are a recipient of a fellowship from FAPESP, Brazil. CMP and RPU are a recipient of a fellowship from National Council for Technology and Scientific Development (CNPq, grant numbers: 310168/2021-0 and 306397/2023-4), We acknowledge Desmond Molecular Dynamics System, version 6.4, D. E. Shaw Research, New York, NY for making this software available for academics.

Author contributions statement

W.K.R.L., G.M.F, C.Z.G.P.A.L, L.M.M.D, C.Q.R, VBM, AMK and E.W.A.P. design *in silico*, *in vitro* and *in vivo* experiments and analysis. C.M.P., R.P.U, R., R.S.S., L.H.O., R.L., T.N. perfomed the *in vitro* experiments and analysis. KB performed the histological analysis. GMF, W.K.R.L., E.W.A.P., E.M.S, M.H.H, and L.G.L.N helped with the discussion and writing. G.M.F., M.H.H, and L.G.L.N contributed to resources and overall study supervision. All authors prepared and reviewed the manuscript.

Competing Interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary information is available at DOI: XXXX

References

1. To, K. K.-W. *et al.* Lessons learned 1 year after SARS-CoV-2 emergence leading to COVID-19 pandemic. *Emerg. Microbes Infect.* **10**, 507–535 (2021).
2. Worobey, M. Dissecting the early COVID-19 cases in Wuhan. *Science* **374**, 1202–1204 (2021).
3. Chinnaswamy, S. SARS-CoV-2 infection in India bucks the trend: Trained innate immunity? *Am. J. Hum. Biol.* **33**, e23504 (2021).
4. Alteri, C. *et al.* Genomic epidemiology of SARS-CoV-2 reveals multiple lineages and early spread of SARS-CoV-2 infections in Lombardy, Italy. *Nat. Commun.* **12**, 434 (2021).
5. Yoshimoto, F. K. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19. *Protein J.* **39**, 198–216 (2020).
6. Banerjee, S. *et al.* Comprehensive role of SARS-CoV-2 spike glycoprotein in regulating host signaling pathway. *J. Med. Virol.* **94**, 4071–4087 (2022).
7. Malone, B., Urakova, N., Snijder, E. J. & Campbell, E. A. Structures and functions of coronavirus replication–transcription complexes and their relevance for SARS-CoV-2 drug design. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **23**, 21–39 (2022).
8. Greasley, S. E. *et al.* Structural basis for the in vitro efficacy of nirmatrelvir against SARS-CoV-2 variants. *J. Biol. Chem.* **298**, 101972 (2022).
9. Lamb, Y. N. Nirmatrelvir Plus Ritonavir: First Approval. *Drugs* **82**, 585–591 (2022).
10. Lamb, Y. N. Remdesivir: First Approval. *Drugs* **80**, 1355–1363 (2020).

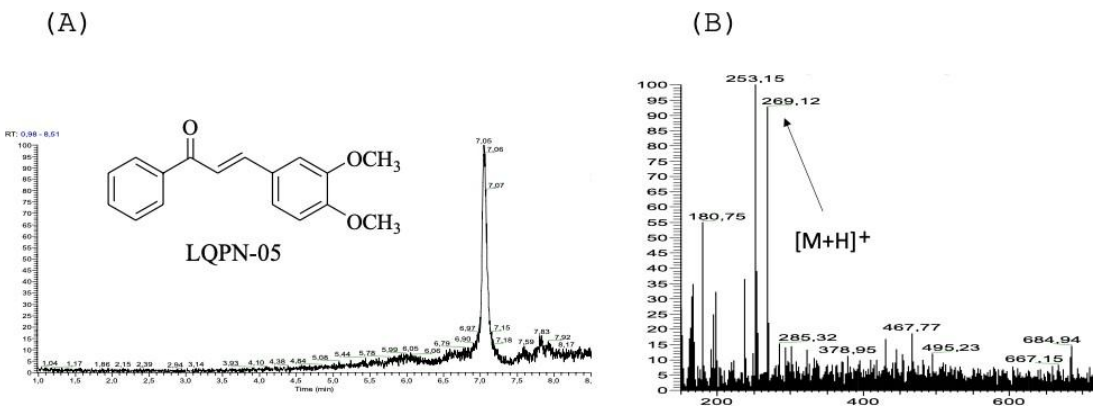
11. Dimeglio, C. *et al.* Post-Vaccination Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Antibody Kinetics and Protection Duration. *Clin. Infect. Dis.* **75**, e924–e925 (2022).
12. Fonseca, D. C. S. C. *et al.* Decrease in CD8+CD45+CCR7+CD62L+ T cells in individuals vaccinated with Sinovac-CoronaVac following COVID-19 infection. *Clin. Immunol.* **242**, 109092 (2022).
13. Joshi, G. *et al.* Exploring the COVID-19 vaccine candidates against SARS-CoV-2 and its variants: where do we stand and where do we go? *Hum. Vaccines Immunother.* **17**, 4714–4740.
14. Saputri, D. S. *et al.* Flexible, Functional, and Familiar: Characteristics of SARS-CoV-2 Spike Protein Evolution. *Front. Microbiol.* **11**, (2020).
15. Xia, X. Domains and Functions of Spike Protein in Sars-Cov-2 in the Context of Vaccine Design. *Viruses* **13**, 109 (2021).
16. Vázquez-Boland, J. A. *et al.* Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 584–640 (2001).
17. da Rocha, C. Q. *et al.* Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Arrabidaea brachypoda* (DC.) Bureau roots. *J. Ethnopharmacol.* **133**, 396–401 (2011).
18. Martin, O. V. *et al.* Defective Spermatogenesis: Martin et al. Respond. *Environ. Health Perspect.* **116**, A332 (2008).
19. Meneguelli, A. Z. *et al.* Ethnopharmacological and botanical evaluation of medicinal plants used by Brazilian Amazon Indian community. *Interações Campo Gd.* **21**, 633–645 (2020).
20. Lopes, V. G., Filho, A. de B. C., Yoshinaga, M. Y., Hirata, M. H. & Ferreira, G. M. Carnitine palmitoyl transferase I: Conformational changes induced by long-chain fatty acyl CoA ligands. *J. Mol. Graph. Model.* **112**, 108125 (2022).
21. Rational Design of Suprastat: A Novel Selective Histone Deacetylase 6 Inhibitor with the Ability to Potentiate Immunotherapy in Melanoma Models | Journal of Medicinal Chemistry. https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.0c00567.
22. Yan, R. *et al.* Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science* **367**, 1444–1448 (2020).
23. Very fast prediction and rationalization of pKa values for protein-ligand complexes - PubMed. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18498103/.
24. Jones, G., Willett, P., Glen, R. C., Leach, A. R. & Taylor, R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. *J. Mol. Biol.* **267**, 727–748 (1997).
25. Fischer, A., Smieško, M., Sellner, M. & Lill, M. A. Decision Making in Structure-Based Drug Discovery: Visual Inspection of Docking Results. *J. Med. Chem.* **64**, 2489–2500 (2021).
26. Bowers, K. J. *et al.* Molecular dynamics---Scalable algorithms for molecular dynamics simulations on commodity clusters. in *Proceedings of the 2006 ACM/IEEE conference on Supercomputing - SC '06* 84 (ACM Press, New York, New York, USA, 2006). doi:10.1145/1188455.1188544.
27. Banks, J. L. *et al.* Integrated Modeling Program, Applied Chemical Theory (IMPACT). *J. Comput. Chem.* **26**, 1752–1780 (2005).
28. Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W. & Klein, M. L. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* **79**, 926–935 (1983).
29. Darden, T., York, D. & Pedersen, L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.* **98**, 10089–10092 (1993).

30. Huynh, K. & Partch, C. L. Analysis of protein stability and ligand interactions by thermal shift assay. *Curr. Protoc. Protein Sci.* **79**, 28.9.1-28.9.14 (2015).
31. Enayathullah, M. G., Parekh, Y., Banu, S., Ram, S., Nagaraj, R., Kumar, B. K., & Idris, M. M. Gramicidin S and melittin: Potential anti-viral therapeutic peptides to treat SARS-CoV-2 infection. *Scientific Reports*, **12**(1), 3446 (2022).
32. Rezende-Júnior, L. M. *et al.* Chalcones Isolated from Arrabidaea brachypoda Flowers as Inhibitors of NorA and MepA Multidrug Efflux Pumps of Staphylococcus aureus. *Antibiotics* **9**, 351 (2020).
33. Gupta, J. *et al.* SARS CoV-2 spike protein variants exploit DC-SIGN/DC-SIGNR receptor for evolution and severity: an in-silico insight. *VirusDisease* **34**, 278–296 (2023).
34. Harvey, W. T. *et al.* SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. *Nat. Rev. Microbiol.* **19**, 409–424 (2021).
35. Lan, J. *et al.* Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* **581**, 215–220 (2020).
36. Shang, J. *et al.* Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* **581**, 221–224 (2020).
37. Zhang, J., Xiao, T., Cai, Y. & Chen, B. Structure of SARS-CoV-2 spike protein. *Curr. Opin. Virol.* **50**, 173–182 (2021).
38. Takeda, M. Proteolytic activation of SARS-CoV-2 spike protein. *Microbiol. Immunol.* **66**, 15–23 (2022).
39. Ma, C., Hu, Y., Wang, Y., Choza, J. & Wang, J. Drug-Repurposing Screening Identified Tropifexor as a SARS-CoV-2 Papain-like Protease Inhibitor. *ACS Infect. Dis.* **8**, 1022–1030 (2022).
40. Saied, E. M. *et al.* A Comprehensive Review about the Molecular Structure of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Insights into Natural Products against COVID-19. *Pharmaceutics* **13**, 1759 (2021).
41. Carter-Timofte, M. E. *et al.* Antiviral Potential of the Antimicrobial Drug Atovaquone against SARS-CoV-2 and Emerging Variants of Concern. *ACS Infect. Dis.* **7**, 3034–3051 (2021).
42. Acharya, A. *et al.* Discovery and Evaluation of Entry Inhibitors for SARS-CoV-2 and Its Emerging Variants. *J. Virol.* **95**, 10.1128/jvi.01437-21 (2021).
43. Xiao, Y., Zhang, S., Tong, H. & Shi, S. Comprehensive evaluation of the role of soy and isoflavone supplementation in humans and animals over the past two decades. *Phytother. Res. PTR* **32**, 384–394 (2018).
44. Kim, J. H. *et al.* The inhibitory activity of methoxyl flavonoids derived from *Inula britannica* flowers on SARS-CoV-2 3CLpro. *Int. J. Biol. Macromol.* **222**, 2098–2104 (2022).
45. Gandhi, S. *et al.* De novo emergence of a remdesivir resistance mutation during treatment of persistent SARS-CoV-2 infection in an immunocompromised patient: a case report. *Nat. Commun.* **13**, 1547 (2022).
46. Stevens, L. J. *et al.* Mutations in the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase confer resistance to remdesivir by distinct mechanisms. *Sci. Transl. Med.* **14**, eabo0718 (2022).
47. Abdelnabi, R. *et al.* Nirmatrelvir-resistant SARS-CoV-2 is efficiently transmitted in female Syrian hamsters and retains partial susceptibility to treatment. *Nat. Commun.* **14**, 2124 (2023).
48. Zhou, Y. *et al.* Nirmatrelvir-resistant SARS-CoV-2 variants with high fitness in an infectious cell culture system. *Sci. Adv.* **8**, eadd7197 (2022).
49 Li, S. *et al.* Metabolic reprogramming and epigenetic changes of vital organs in SARS-CoV-2–induced systemic toxicity. *JCI Insight* **6**, (2023).

50. Bentley, E. G. *et al.* SARS-CoV-2 Omicron-B.1.1.529 Variant leads to less severe disease than Pango B and Delta variants strains in a mouse model of severe COVID-19. 2021.12.26.474085 Preprint at https://doi.org/10.1101/2021.12.26.474085 (2021).

51. Ternifi, R. *et al.* Quantitative Biomarkers for Cancer Detection Using Contrast-Free Ultrasound High-Definition Microvessel Imaging: Fractal Dimension, Murray's Deviation, Bifurcation Angle & Spatial Vascularity Pattern. *IEEE Trans. Med. Imaging* **40**, 3891–3900 (2021).

Supplementary information



Supplementary Figure 1. Identification of Compound LQPN-05 from *Fridericia platyphylla*. Chromatogram (A) and mass spectrum obtained by LC-ESI-IT/MS for the compound LQPN-05 (3,4-dimethoxy-chalcone) (B) isolated from the organic extract of *Fridericia platyphylla* flowers.

Supplementary Table 1. LQPN-05 frequency of interaction.

LQPN-05 (Hbond %)				
Residue	Asn370	Lys458	Tyr421	
Protomer A	65.5	90.1	89.1	
Protomer B	97.1	96.4	91.1	
Protomer C	89.4	92.3	96.7	
	LQPN-05 (Hydrophobic %)			
Residue	Val367	Leu455	Phe456	Phe490
Protomer A	71.4	99.5	89.1	79.3
Protomer B	0	12.4	93.3	67.4
Protomer C	56.1	68.7	91.3	88.1

5 Capítulo 3: DISCUSSÃO INTEGRADORA

Diante da emergência de saúde publica mundial da COVID-19, houve a necessidade emergencial na busca de novas moléculas promissoras para o tratamento de infecções pelo SARS-CoV-2. Neste sentido, o nosso estudo avaliou o potencial antiviral de moléculas isoladas da planta *F. platyphylla*.

Primeiramente, nossas descobertas começaram com o isolamento de LQPN-05 (3,4-dimetoxi-calcona), Rutina e Quercetrina das flores de *F. platyphylla* usando Cromatografia em Coluna Aberta. Comparamos nossas descobertas com as de Rezende-Júnior et al.32, que também identificaram este composto nas flores de *F. platyphylla*. Subsequentemente, analisamos o composto purificado usando LC-MS. LQPN-05, também conhecido como 3,4-dimetoxi-calcona, exibiu um pico distinto em 7,05 minutos, indicando sua presença. Análises adicionais por espectrometria de massa confirmaram sua massa molecular. A comparação com os resultados de Rezende-Júnior et al.32 forneceu validação (Figura Suplementar 1B). Além disso, realizamos análises suplementares de MS/MS para confirmar a identidade estrutural do composto.

Estruturalmente, a proteína spike é subdividida em três protômeros e nove domínios (SS, NTD, RBD, RBM, FP, HR1, HR2, TM e CD; Fig. 1A,B,C), cada um desempenhando um papel crucial em sua função e interação com as células hospedeiras. Esses domínios contribuem para a capacidade da proteína de reconhecer e se ligar a receptores na superfície das células hospedeiras, facilitar a fusão das membranas viral e celular, e mediar a entrada do vírus na célula hospedeira, levando à infecção. Compreender a estrutura e função desses domínios é essencial para o desenvolvimento de terapêuticas e vacinas direcionadas à proteína spike. Além disso, variantes da proteína spike, como E484K e N501Y, estão localizadas dentro do domínio RBM (Motivo de Ligação ao Receptor)33,34. Essas mutações podem alterar a capacidade da proteína de se ligar aos receptores das células hospedeiras, potencialmente afetando sua infectividade e transmissibilidade.

Conduzimos um impacto de modelagem molecular para avaliar a interação do complexo LQPN-05-proteína spike. Observou-se que LQPN-05 interage de maneira semelhante nos protômeros A, B e C (Fig. 2A) por meio de ligações de hidrogênio (Asn370, Lys458 e Tyr421; Fig. 2B) e ligações hidrofóbicas (Val367, Leu455, Phe456 e Phe490; Fig. 2B). Por outro lado, nosso resultado sugere que LQPN-05 tem um perfil de energia de interação melhor com o protômero C do que com os protômeros A e B (Fig. 2C). Além disso, os resultados de MD mostraram que os resíduos Asn370 (Protômero A 65,5%; Protômero B 97,1%; e Protômero C 89,4%), Lys458 (Protômero A 90,1%; Protômero B 96,4%; e Protômero C 92,3%) e Tyr421 (Protômero A 89,1%; Protômero B 91,1%; e Protômero C 96,7%) interagem por ligações de hidrogênio, enquanto Val367 (Protômero A 89,1%; Protômero B 91,1%; e Protômero C 96,7%), Leu455 (Protômero A 89,1%; Protômero B 91,1%; e Protômero C 96,7%), Phe456 (Protômero A 89,1%; Protômero B 91,1%; e Protômero C 96,7%) e Phe490 (Protômero A 89,1%; Protômero B 91,1%; e Protômero C 96,7%) interagem por

ligação hidrofóbica.

Após toda caracterização da molécula SPIKE do SARS-CoV2, as ligações entre LQPN-05, Rutina e Quercetrina com esta proteína foram avaliadas e mostraram importante interação forte do LQPN-05 ao liga à proteína. Especificamente, ligações de hidrogênio se formam entre certos aminoácidos tanto em LQPN-05 quanto na proteína spike, proporcionando estabilidade à sua conexão. Essas ligações ajudam a posicionar LQPN-05 corretamente para a ligação. Além disso, ligações hidrofóbicas ocorrem entre certos aminoácidos hidrofóbicos tanto em LQPN-05 quanto na proteína spike. Essas ligações fortalecem a conexão entre os dois e aumentam sua ligação geral. LQPN-05 interage de maneira semelhante com diferentes partes da proteína spike, sugerindo que pode se ligar a múltiplos sítios, possivelmente tornando-o mais eficaz como bloqueador. No entanto, mostra uma interação mais forte com uma parte, o protômero C, indicando que pode se ligar melhor ali. Isso pode ser devido a um melhor arranjo de ligações ou outros fatores como cargas elétricas ou mudanças na forma da proteína spike.

Foi corroborado que o protômero C na proteína spike do SARS-CoV-2 tem uma importância significativa, pois facilita a ligação ao receptor ACE2 humano, iniciando a entrada viral nas células hospedeiras. A proteína spike consiste em três protômeros idênticos, cada um contendo um domínio de ligação ao receptor (RBD) capaz de se ligar ao receptor ACE2. O protômero C se destaca porque exibe uma afinidade maior pelo receptor ACE2 em comparação com os protômeros A e B, principalmente devido à conformação única de seu RBD, que é mais provável de estar na posição ativa "para cima", facilitando a ligação ao receptor ACE2. Além disso, o protômero C é um alvo principal para anticorpos neutralizantes desenvolvidos como potenciais terapêuticos para COVID-19. Esses anticorpos se ligam especificamente ao RBD no protômero C, impedindo que o vírus se ligue ao receptor ACE2 e, assim, dificultando a entrada viral nas células hospedeiras. Em essência, o protômero C da proteína spike do SARS-CoV-2 desempenha um papel crítico na entrada viral e serve como um alvo crucial para o desenvolvimento de terapêuticas e vacinas contra a COVID-19.
Embora a Quercitrina e Rutina isolada desta planta 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 et al., 2024). Utilizando simulação in sílico, 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. 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 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 sílico, sugerindo o seu potencial como candidato terapêutico (Rashid 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 sílico 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.

Apesar das moléculas Quercetrina e Rutina não tenham apresentado efeito antiviral, observou-se uma forte ação enzimática do composto LQPN-05 in vitro, ao utilizamos o Ensaio de Desnaturação Térmica (TSA), um método rápido e eficaz na descoberta de medicamentos. O TSA mede a ligação de um alvo com inibidores detectando o aumento na temperatura de fusão. Em nosso estudo, focamos no efeito de LQPN-05 no SARS-CoV-2. Primeiro, determinamos a temperatura de fusão (Tm) do controle para ser 48,6°C. Subsequentemente, investigamos o impacto de LQPN-05 em várias concentrações. Nossos achados indicam que LQPN-05 modifica efetivamente a temperatura de fusão em todas as concentrações testadas, sugerindo sua afinidade de ligação com esta enzima. Notavelmente, nossas análises revelaram que a concentração necessária para inibir 50% da atividade de RdRp é 3,01 µM. Isso destaca o potencial de LQPN-05 como um inibidor promissor do SARS-CoV-2 e justifica uma exploração adicional de suas implicações terapêuticas.

Poucos estudos exploraram a atividade biológica de compostos de Ensaio de Desnaturação Térmica (TSA) contra alvos do SARS-CoV-2. Em comparação com pesquisas existentes sobre inibidores de enzimas do SARS-CoV-2, LQPN-05 demonstrou eficácia notável. Requereu concentrações mais baixas para alcançar um aumento maior na temperatura de fusão (ΔTm) em seu alvo. Especificamente, LQPN-05 alcançou um ΔTm significativamente maior contra o controle em uma concentração mais de 10 vezes menor em µM em comparação com outros inibidores candidatos como Baicalein. Isso sugere uma afinidade potencialmente muito maior de LQPN-05 pelo alvo. Com base nesses achados, conduzimos um ensaio celular para avaliar a citotoxicidade de ambos os compostos em células A549 e VeroE6, bem como sua eficácia em suprimir a replicação viral em células VeroE6.

Após confirmar a ligação in vitro de LQPN-05, investigamos seu perfil de citotoxicidade em duas linhagens celulares. Nossos achados revelaram viabilidade celular satisfatória, com um CC50 (concentração citotóxica média) de 7,04 µM em células Vero E6 e 35,4 µM em células A549. É

notável que outros compostos exibiram um perfil de citotoxicidade comparável ao de LQPN-05. Além disso, é essencial destacar que, como em nosso estudo, pesquisas anteriores indicam que diferentes linhagens celulares podem responder de maneira diferente ao mesmo composto. Isso ressalta a importância de avaliar a citotoxicidade em várias linhagens celulares para obter uma compreensão abrangente do perfil de segurança de um composto. Em nosso estudo, prosseguimos para avaliar o potencial de LQPN-05 para inibir a replicação viral em células infectadas pelo SARS-CoV-2. Observamos uma redução significativa ($p<0,05$) na carga viral, medida por RT-qPCR em células infectadas, quando expostas a 50 µM de LQPN-05. Este achado tem significância, pois introduzem um novo composto com atividade anti-SARS-CoV-2. Embora antivirais como Remdesivir e Nirmatrelvir tenham mostrado eficácia contra o SARS-CoV-2, há evidências emergentes de que o vírus está desenvolvendo resistência a esses medicamentos. Mutações como S759A, V792I, E802D e V166A em RdRp foram documentadas para aumentar o IC50 do Remdesivir in vitro. Da mesma forma, aumentos na concentração efetiva de Nirmatrelvir foram observados na Mpro do SARS-CoV-2 com mutações como L50F, E166V e L167F. Essas mutações têm o potencial de serem transmitidas in vivo, indicando o desafio crescente da resistência a medicamentos. Portanto, a descoberta de novos compostos como LQPN-05 com atividade anti-SARS-CoV-2 é crucial, especialmente considerando o potencial de desenvolvimento de resistência aos tratamentos antivirais existentes. Pesquisas adicionais sobre esses novos compostos podem oferecer opções terapêuticas alternativas e ajudar a enfrentar o cenário em evolução da resistência viral.

Além disso, conduzimos um ensaio in vivo de cinco dias envolvendo 15 animais divididos em três grupos: controle, infectados por SARS sem LQPN-05 (wo) e infectados por SARS com LQPN-05 (w). Durante todo o experimento, os animais receberam administrações intraperitoneais (IP) de 12,5 mg/kg de LQPN-05, diluídos em solução salina a 1%. Subsequentemente, seções histológicas dos pulmões dos animais foram avaliadas para análise. Observamos um aumento substancial de peso ao longo do estudo no grupo tratado com LQPN-05 em comparação com o grupo controle (infectados por SARS sem LQPN-05, wo). Isso sugere que o LQPN-05 pode ter ajudado a manter o peso desses animais durante o período do estudo. A perda de peso é uma característica clínica comum observada na COVID-19, tanto em humanos quanto em modelos animais da doença. A gravidade da perda de peso pode variar dependendo de fatores como a variante viral e a espécie do hospedeiro. Além disso, outras manifestações clínicas, como atrofia esplênica e sintomas neurológicos, foram relatadas em modelos animais de COVID-19.

Analisamos a histologia do pulmão por análise de contagem de caixas fractais. A análise fractal é um método usado na análise histológica para medir a complexidade e as propriedades de preenchimento de espaço das células e tecidos. Envolve a colocação de uma grade de caixas de diferentes tamanhos sobre um objeto, contando quantas caixas são necessárias para cobri-lo e, em seguida, analisando a relação entre a contagem de caixas e o tamanho para calcular a dimensão

fractal (FD). Com base na análise dos valores de FD, um limiar de FD < 1,5 foi associado a um nível apropriado de organização celular, conforme evidenciado pelas observações no grupo controle com tratamento com LQPN-05 (+). Por outro lado, valores de FD superiores a 1,5 indicaram desorganização celular, conforme observado no grupo controle não tratado (-). Esta observação sugere uma correlação entre os valores de FD e o nível de organização celular. Aproximando-se do valor de 2 indicou desorganização celular, conforme observado no grupo controle não tratado.

Curiosamente, a administração de LQPN-05 em concentrações de 12,5 e 2,5 mg/kg não apenas não induziu efeitos citotóxicos, mas também exerceu um controle notável sobre a infecção viral em animais desafiados com SARS-CoV-2 (Cepa SSPu-0691/B.1.1.28; Genbank: Mw441768). Esta observação destaca a potencial eficácia terapêutica de LQPN-05 no combate à infecção por SARS-CoV-2, ao mesmo tempo em que preserva a organização celular dentro do microambiente tecidual. Foi relatado que o modelo empregado no estudo reflete com precisão várias características clínicas comumente observadas em humanos com COVID-19, incluindo atrofia esplênica, linfopenia caracterizada por diminuição na contagem de células B e perda de peso. Os animais experimentaram uma perda de peso substancial, com aproximadamente 22% ± 1% de redução no peso dentro de 5 dias após a injeção de SARS-CoV-2. Em contraste, o grupo controle eGFP/SARS-CoV-2 não demonstrou nenhuma perda de peso significativa.

Os achados ressaltam os benefícios multifacetados de LQPN-05, demonstrando sua capacidade de mitigar a infecção viral e manter a integridade celular. Investigações adicionais sobre os mecanismos subjacentes a esses efeitos podem abrir caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas direcionadas a infecções virais, ao mesmo tempo em que preservam a homeostase tecidual.

6 CONCLUSÕES

A atividade anti-SARS-CoV-2 das moléculas 3,4-dimetoxicalcona, Quercetrina e Rutina, isoladas da *F. platyphylla,* foi avaliada em nosso estudo, sendo constatado um efeito promissor antiviral para a 3,4-dimetoxicalcona. O que oferece benefícios multifacetados, mitigando a infecção viral, enquanto mantém a integridade tecidual.

Mediante a possibilidade de futuras infecções pelo vírus SARS-CoV-2 e de novas pandemias, este estudo propicia uma possível molécula promissora, para ser um medicamento eficaz para o tratamento destas infecções.

No entanto, a continuidade do estudo se faz necessária com estudos pré-clínicos e clínicos validados.

ANEXO I – COMITÊ DE ÉTICA

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO - Seção 1 ISSN 1677 7042 Nº 52, sexta feira, 15 de março de 2024

Ministério da Agricultura e Pecuária

SECRETARIA DE POLÍTICA AGRÍCOLA

RETIFICAÇÃO

No Anexo da Portaria SPA/MAPA Nº 3, de 07 de fevereiro de 2024, publicada no Diário Oficial da União de 09 de fevereiro de 2024, seção 1, que aprovou o Zoneamento Agrícola de Risco Climático - ZARC para a cultura da cebola, em sistema de cultivo irrigado, no Brasil, no item 1. NOTA TÉCNICA, onde se lê:

V. Ciclo:

As cultivares de cebola para semeadura direta ou transplantio de mudas foram classificadas em seis grupos de cultivares conforme tabela abaixo.

Grupo	Ciclo (dias)	Nº médio de dias da emergência à maturação ponto de colheita
Grupo I	100	80 – 100
Grupo II	120	101 – 120
Grupo III	130	121 – 130
Grupo IV	140	131 – 140
Grupo V	160	141 – 160
Grupo VI	180	> 160

As cultivares de cebola para plantio de bulbinho foram classificadas em um grupo de cultivar, com ciclo médio de 80 dias e número médio de dias da emergência à maturação ponto de colheita ≤ 80;

Leia-se:

V. Ciclo:

Ciclos médios e duração das fases da cultura utilizadas no zoneamento agrícola de riscos climáticos da cebola.

Grupo de cultivares	Ciclo representativo (dias)	Inclui as cultivares com ciclo médio entre (dias)	Fase I (dias)	Fase II (dias)	Fase III (dias)	Fase IV (dias)
*I	80	70 a 90	20	20	20	20
II	100	90 a 110	25	30	25	20
III	120	111 a 130	25	40	35	20
IV	140	131 a 150	25	50	45	20
V	160	151 a 170	30	60	50	20
VI	180	171 a 190	30	70	55	25
VII	200	191 a 210	35	75	60	30

Fase I - Compreende o período que vai da semeadura ou do transplante das mudas ou do plantio de bulbinhos até o estabelecimento inicial das plantas (10% do crescimento vegetativo). Irrigar frequentemente até a profundidade de 20cm (deixando a umidade do solo entre 80 a 100% da água disponível).

Fase II - Período entre o estabelecimento inicial das plantas e o início da bulbificação.

Fase III - Estádio da formação de bulbos que se prolonga até o início da maturação. É o período de máxima demanda de água pelas plantas. Esse estádio juntamente com o de pegamento de mudas são os mais sensíveis ao déficit hídrico.

Fase IV - Período entre o início da maturação dos bulbos e a colheita (redução no consumo de água em 20 a 30% em relação ao período de bulbificação).

*I - Plantio de bulbinho.

RETIFICAÇÃO

No Anexo da Portaria SPA/MAPA Nº 4, de 07 de fevereiro de 2024, publicada no Diário Oficial da União de 09 de fevereiro de 2024, seção 1, que aprovou o Zoneamento Agrícola de Risco Climático - ZARC para a cultura da cebola, em sistema de cultivo de sequeiro, no Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, no item 1. NOTA TÉCNICA, onde se lê:

V. Ciclo:

As cultivares de cebola para semeadura direta ou transplantio de mudas foram classificadas em seis grupos de cultivares conforme tabela abaixo.

Grupo	Ciclo (dias)	Nº médio de dias da emergência à maturação ponto de colheita
Grupo I	100	80 – 100
Grupo II	120	101 – 120
Grupo III	130	121 – 130
Grupo IV	140	131 – 140
Grupo V	160	141 – 160
Grupo VI	180	> 160

As cultivares de cebola para plantio de bulbinho foram classificadas em um grupo de cultivar, com ciclo médio de 80 dias e número médio de dias da emergência à maturação ponto de colheita ≤ 80;

Leia-se:

V. Ciclo:

Ciclos médios e duração das fases da cultura utilizadas no zoneamento agrícola de riscos climáticos da cebola.

Grupo de cultivares	Ciclo representativo (dias)	Inclui as cultivares com ciclo médio entre (dias)	Fase I (dias)	Fase II (dias)	Fase III (dias)	Fase IV (dias)
*I	80	70 a 90	20	20	20	20
II	100	90 a 110	25	30	25	20
III	120	111 a 130	25	40	35	20
IV	140	131 a 150	25	50	45	20
V	160	151 a 170	30	60	50	20
VI	180	171 a 190	30	70	55	25
VII	200	191 a 210	35	75	60	30

Fase I - Compreende o período que vai da semeadura ou do transplante das mudas ou do plantio de bulbinhos até o estabelecimento inicial das plantas (10% do crescimento vegetativo). Irrigar frequentemente até a profundidade de 20cm (deixando a umidade do solo entre 80 a 100% da água disponível).

Fase II - Período entre o estabelecimento inicial das plantas e o início da bulbificação.

Fase III - Estádio da formação de bulbos que se prolonga até o início da maturação. É o período de máxima demanda de água pelas plantas. Esse estádio juntamente com o de pegamento de mudas são os mais sensíveis ao déficit hídrico.

Fase IV - Período entre o início da maturação dos bulbos e a colheita (redução no consumo de água em 20 a 30% em relação ao período de bulbificação).

*I - Plantio de bulbinho.

SECRETARIA EXECUTIVA

SUPERINTENDÊNCIA DE AGRICULTURA E PECUÁRIA DO ESTADO DO PARANÁ

PORTARIAS DE 13 DE MARÇO DE 2024

O SUPERINTENDENTE FEDERAL DE AGRICULTURA NO PARANÁ, no uso das atribuições previstas no Regimento Interno das Superintendências Federais de Agricultura, aprovado pela Portaria Ministerial nº 561 de 11 de abril de 2018, publicada no DOU de 13 de abril de 2018 e Portaria SE/MAPA n.°326, de 09 de março de 2018, publicada no DOU de 19 de março de 2018, e para fins de aplicação do disposto no Decreto-Lei nº 818, de 05 de setembro de 1969 e Instrução Normativa nº 22, de 20 de junho de 2013, resolve:

Nº 1.266 - HABILITAR o Médico Veterinário GUSTAVO ANDRÉ ZANINI SACOMAN, CRMV-PR Nº 23401 para fornecer GUIA DE TRÂNSITO ANIMAL para fins de trânsito de animais das espécies AVES no Estado do Paraná (Processo nº 21034.002605/2024-01).

Nº 1.267 - HABILITAR o Médico Veterinário WAGNER ANTUNES, CRMV-PR Nº 19743 para fornecer GUIA DE TRÂNSITO ANIMAL para as espécies EQUINOS, ASININOS E MUARES no Estado do Paraná (Processo nº 21034.002576/2024-70).

CLEVERSON FREITAS

PORTARIAS DE 14 DE MARÇO DE 2024

O SUPERINTENDENTE FEDERAL DE AGRICULTURA NO PARANÁ, no uso das atribuições previstas no Regimento Interno das Superintendências Federais de Agricultura, aprovado pela Portaria Ministerial nº 561 de 11 de abril de 2018, publicada no DOU de 13 de abril de 2018 e Portaria SE/MAPA n.°326, de 09 de março de 2018, publicada no DOU de 19 de março de 2018, e para fins de aplicação do disposto no Decreto-Lei nº 818, de 05 de setembro de 1969 e Instrução Normativa nº 22, de 20 de junho de 2013, resolve:

Nº 1.268 - CANCELAR A HABILITAÇÃO da Médica Veterinária NATÁLIA SILVA SUMBACH, CRMV-PR Nº 22441, de acordo com o item VII do Art. 9º da instrução Normativa nº 22 de 20/06/2013 e REVOGAR a Portaria nº 1029 de 26/05/2023 (Processo nº 21034.002649/2024-23).

Nº 1.269 - CANCELAR A HABILITAÇÃO da Médica Veterinária PATRÍCIA CRISTINA SAMPAIO SALVÁTICO, CRMV-PR Nº 8163, de acordo com o item VII do Art. 9º da instrução Normativa nº 22 de 20/06/2013 e REVOGAR a Portaria nº 34 de 23/01/2013 (Processo nº 21034.002679/2024-30).

CLEVERSON FREITAS

Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação

COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.958/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 06/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico de aprovação para o seguinte processo:

Processo: 01245.000146/2024-21

Requerente: Sucaro S.A

CQB: 325/11

Assunto: Solicitação de Exclusão de unidade operativa do Certificado de Qualidade em Biossegurança - CQB

PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA • CASA CIVIL • IMPRENSA NACIONAL

LUIZ INÁCIO LULA DA SILVA
Presidente da República

RUI COSTA DOS SANTOS
Ministro de Estado Chefe da Casa Civil

AFONSO OLIVEIRA DE ALMEIDA
Diretor-Geral da Imprensa Nacional

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO - Seção 1 ISSN 1677-7042 Nº 52, sexta-feira, 15 de março de 2024

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após análise de pedido de revisão do seu Certificado de Qualidade em Biossegurança nº325/11 para alteração no Laboratório de Entomologia, Casa de Vegetação 1, Almoxarifado e Prédio de Operações e Fenotipagem, localizados na Unidade Operativa de Itapetininga/SP, concluiu pelo DEFERIMENTO.

No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, considera-se que O presente pedido atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou saúde humana.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.961/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 260ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a CTNBio apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo SEI Nº: 01245.021761/2023-90

Requerente: CJ do Brasil Indústria e Comércio de Produtos Alimentícios Ltda.

CQB: 332/11

Assunto: Solicitação de parecer para liberação comercial do derivado de Microrganismo Geneticamente Modificado (C. glutamicum KCCM 80368), LYS-Prosur (ou dried C. glutamicum KCCM 80368) e suas formulações

Extrato Prévio: 9.180/2023, publicado no Diário Oficial da União em 10/11/2023

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação da solicitação de liberação Comercial do derivado de Microrganismo Geneticamente Modificado - MGM (C. glutamicum KCCM 80368), LYS-Prosur (ou dried C. glutamicum KCCM 80368) e suas formulações, concluiu pelo deferimento nos termos deste Parecer Técnico.

No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que as medidas de biossegurança propostas atendem às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou saúde humana.

A CTNBio informa que, de acordo com o artigo 34 do Regimento interno da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança e instruído pela NOTA TÉCNICA Nº 152/2023/SEI-CTNBio - Membros da Secretaria Executiva da CTNBio, a Presidente da CTNBio aprovou solicitação de sigilo para as informações contidas no "Apêndice Confidencial" do referido processo.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.963/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 260ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo SEI nº: 01245.023213/2023-02

Requerente: Instituto René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz

Endereço: Av. Augusto de Lima, 1715 - Barro Preto Belo Horizonte, MG

CQB: 157/02

Assunto: Solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado - OGM de classe de risco 2.

Extrato Prévio: 9242/2023, publicado no Diário Oficial da União em 13/12/2023

Decisão: DEFERIDO

O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança do Instituto René Rachou/Fundação Oswaldo Cruz, Dr. Edward José de Oliveira, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado, denominado "Busca e triagem de novos fármacos e validação de alvos moleculares promissores para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra as leishmanioses", a ser desenvolvido nas instalações da instituição, sob a responsabilidade da Dra. Silvane Maria Fonseca Murta. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.964/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 260ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo SEI nº: 01245.023578/2023-29

Requerente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Endereço: Caixa Postal, 8091 - São Paulo - SP

CQB: 217/06

Assunto: Solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado - OGM de classe de risco 2.

Extrato Prévio: 9.252/2023, publicado no Diário Oficial da União em 15/12/2023

Decisão: DEFERIDO

A Presidente da Comissão Interna de Biossegurança do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Dra. Suely Kazue Nagahashi Marie, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado, denominado "Geração de Macrófagos Humanos expressando

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.965/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 260ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo SEI nº: 01245.000150/2024-99.

Requerente: Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

Endereço: Rua Vital Brasil, 80 - Cidade Universitária, Campinas - SP.

CQB: 072/98.

Assunto: Solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado (OGM) da Classe de Risco 2 (CR-2).

Extrato Prévio: 9.302/2024, publicado no Diário Oficial da União em 17/01/2024.

Decisão: DEFERIDO

A Presidente da Comissão Interna de Biossegurança da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, Dra. Iscia Lopes Cendes, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com OGM, denominado "Avaliação da função da apolipoproteína-E em neurônios proopiomelanocortina do hipotálamo", a ser desenvolvido nas instalações da instituição, sob a responsabilidade do Dr. Licio Augusto Velloso. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.971/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 260ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo SEI nº: 01245.001064/2024-01

Requerente: Raizen Biotecnologia S/A.

CQB: 270/08

Endereço: Bairro Costa Pinto - Piracicaba, SP, CEP 13411-900

Assunto: Solicitação de parecer para Extensão de Certificado de Qualidade de Biossegurança da instituição para desenvolvimento de atividades com nível de biossegurança NB1.

Extrato Prévio: 9327/2024, publicado no Diário Oficial da União em 29/01/2024.

Decisão: DEFERIDO

O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança da Raizen Biotecnologia S/A., Sr. Luciano Zamberlan, solicita parecer para extensão de Certificado de Qualidade de Biossegurança da instituição para inclusão de áreas da Usina Costa Pinto, localizada em Piracicaba-SP, para execução das atividades de pesquisa em regime de contenção, uso comercial, transporte, avaliação de produto, detecção e identificação de OGM, descarte, armazenamento, produção industrial, importação e exportação com organismos geneticamente modificados (OGM), com Nível de Biossegurança 1. A CTNBio, após apreciação da solicitação de parecer para Extensão de Certificado de Qualidade em Biossegurança da instituição, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.972/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 260ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:

Processo SEI nº: 01245.002100/2024-46

Requerente: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Ibilce - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"

CQB: 141/01

Endereço: R. Cristóvão Colombo, 2265 CEP 15.054-000 São José do Rio Preto - SP.

Assunto: Solicitação de parecer extensão de Certificado de Qualidade de Biossegurança - CQB da instituição para inclusão de áreas com nível de biossegurança NB2.

Extrato Prévio: 9365/2024, publicado no Diário Oficial da União em 26/02/2024.

Decisão: DEFERIDO

O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Ibilce - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Dr. Fernando Alves de Melo, solicita parecer para extensão de Certificado de Qualidade de Biossegurança da instituição para inclusão das áreas do Laboratório do Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular, para execução das atividades de pesquisa em regime de contenção com organismos geneticamente modificados (OGM), com Nível de Biossegurança 2. A CTNBio, após apreciação da solicitação de parecer para Extensão de Certificado de Qualidade em Biossegurança da instituição, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

Este processo foi considerado urgente de acordo com o Despacho PRBio 11733190, tendo como fundamento legal o artigo 23 do Decreto 5.591 de 22/12/2005.

A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.

A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

DIÁRIO OFICIAL DA UNIÃO - Seção 1 ISSN 1677 7042 Nº 52, sexta-feira, 15 de março de 2024

Extrato Prévio: 8912/2023, publicado no Diário Oficial da União em 27/06/2023.
Decisão: DEFERIDO
O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (Universidade de São Paulo - USP), Dr. João Carlos Monteiro de Carvalho, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado, denominado: "Desenvolvimento de novos inibidores de HMG-CoA redutase integrando estudos genéticos de pacientes dislipidêmicos e modelagem molecular", a ser desenvolvido nas instalações da instituição, sob a responsabilidade do Dr. Mário Hiroyuki Hirata. A CTNBio, após apreciação da solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa da instituição, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.
A CTNBio esclarece que este extrato não exime o requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.977/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:
Processo: 01245.000141/2024-06
Requerente: Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
CQB: 240/07
Endereço: Rua Monteiro Lobato, 270. Cidade Universitária, Campinas - SP. CEP 13083-862.
Assunto: Solicitação de parecer para execução de atividades de pesquisas com Organismo Geneticamente Modificado - OGM da classe de risco 2.
Extrato Prévio: 0303/2024, publicado no DOU em 12 de janeiro de 2024.
Decisão: DEFERIDO
A Presidente da Comissão Interna de Biossegurança do Instituto de Química (Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP), Dra. Ljubica Tasic, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado, denominado "Estudo da trajetória evolutiva de enzimas OXAs - Investigação da inibição da OXA-143 e Caracterização biofísica e bioquímica da variante OXA-143", a ser desenvolvido nas instalações da instituição, sob a responsabilidade do Dr. Fábio César Gozzo. A CTNBio, após apreciação da solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa da instituição, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.
A CTNBio esclarece que este extrato não exime o requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.978/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:
Processo: 01245.002112/2024-71
Requerente: Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Ibilce - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
CQB: 141/01
Endereço: R. Cristóvão Colombo, 2265 CEP 15.054-000 São José do Rio Preto - SP.
Assunto: Solicitação de parecer para execução de atividades de pesquisas com Organismo Geneticamente Modificado - OGM da classe de risco 2.
Extrato Prévio: 9366/2024, publicado no DOU em 26 de fevereiro de 2024.
Decisão: DEFERIDO
O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Ibilce - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Dr. Fernando Alves de Melo, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado, denominado "Análise da ação de moléculas de origem natural como antivirais RSV", a ser desenvolvido nas instalações da instituição, sob a responsabilidade da Dra. Fatima Pereira de Souza. A CTNBio, após apreciação da solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa da instituição, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.
Este processo foi considerado urgente de acordo com o Despacho PRBio 11733157, tendo como fundamento legal o artigo 23 do Decreto 5.591 de 22/12/2005.
A CTNBio esclarece que este extrato não exime o requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.982/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a CTNBio apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:
Processo SEI Nº: 01245.015460/2023-27
Requerente: Biohuris S.A
Endereço: Lamadrid 470, Rosario, Argentina

No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que as medidas de biossegurança propostas atendem às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou saúde humana.
A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.959/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 06/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico de aprovação para o seguinte processo:
Processo: 01245.021680/2023-90
Requerente: Agrivalle Brasil Indústria e Comércio de Produtos Agrícolas S.A
CNPJ: 05.470.581/0002-20
Assunto: Consulta de enquadramento regulatório de um possível produto obtido por Técnica Inovadora de Melhoramento de Precisão (TIMP), nos termos da Lei 11.105/05 e Resolução Normativa 16/2018.
A CTNBio, após análise do pedido em comento e considerando que, de acordo com a Resolução Normativa (RN) Nº 16, em seu Artigo 1º, define-se que TIMP "podem originar um produto não considerado como um Organismo Geneticamente Modificado (OGM) e seus derivados, conforme definições da Lei nº 11.105, de 24 de março de 2005", considerou que a Comissão só pode se posicionar quanto ao enquadramento regulatório de um produto finalizado, após as etapas de sua construção, e a partir da apresentação de dados científicos para análise de classificação como TIMP.
No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, considera-se que o presente pedido atende às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou saúde humana.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.962/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a CTNBio apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:
Processo SEI Nº: 01245.022810/2023-10.
Requerente: Vetanco do Brasil Importação e Exportação Ltda.
CQB: 378/14.
Assunto: Solicitação de Parecer para Liberação Comercial da vacina Biotech Vac COX, derivado de Microrganismo Geneticamente Modificado (MGM).
Extrato Prévio: 9197/2023, publicado no Diário Oficial da União em 23/11/2023.
Decisão: DEFERIDO
A CTNBio, após apreciação da solicitação de Liberação Comercial da vacina Biotech Vac COX, uma vacina de uso veterinário, derivada de MGM modificado da Classe de Risco 1 (CR-1), para uso em aves e suínos, concluiu pelo deferimento nos termos deste Parecer Técnico.
No âmbito das competências do art. 14 da Lei 11.105/05, a CTNBio considerou que as medidas de biossegurança propostas atendem às normas e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal. Assim, atendidas as condições descritas no processo e neste parecer técnico, essa atividade não é potencialmente causadora de significativa degradação do meio ambiente ou saúde humana.
A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio. Informações complementares ou solicitações de maiores informações sobre o processo, deverão ser encaminhadas, via Sistema FALABR, através da página eletrônica do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

LEANDRO VIEIRA ASTARITA

EXTRATO DE PARECER TÉCNICO Nº 8.966/2024

O Presidente da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, no uso de suas atribuições e de acordo com o artigo 14, inciso XIX, da Lei 11.105/05 e do Art. 5º, inciso XIX do Decreto 5.591/05, torna público que na 269ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 07/03/2024, a Comissão apreciou e emitiu parecer técnico para o seguinte processo:
Processo SEI nº: 01245.000748/2024-88
Requerente: Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP)
Endereço: Av. Prof. Lineu Prestes, 748 - 05.508-000 São Paulo - SP
CQB: 029/97
Assunto: Solicitação de parecer para execução de atividade de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado - OGM da classe de risco 2.
Extrato Prévio: 9.332/2024, publicado no Diário Oficial da União em 29/01/2024
Decisão: DEFERIDO
O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (IQ-USP), Dr. Ricardo José Giordano, solicita parecer técnico da CTNBio para execução de projeto de pesquisa com Organismo Geneticamente Modificado, denominado "RNAs não codificadores longos na regulação epigenética do câncer de pâncreas", a ser desenvolvido nas instalações da instituição, sob a responsabilidade do Dr. Eduardo Moraes Rego Reis. No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.
A CTNBio esclarece que este extrato não exime a requerente do cumprimento das demais legislações vigentes no país, aplicáveis ao objeto do requerimento.
A íntegra deste Parecer Técnico consta do processo arquivado na CTNBio.

ANEXO II – DEPÓSITO DA PATENTE

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

870230101943
20/11/2023 15:46
29409162311836060

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2023 024251 0

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 06279103000119

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária Dom Delgado, Av. dos Portugueses, 1966, Vila Bacanga.

Cidade: São Luís

Estado: MA

CEP: 65080-805

País: Brasil

Telefone: (98) 32728710

Fax:

Email: ageufma.cprp@ufma.br

Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: CEUMA – ASSOCIAÇÃO DE ENSINO SUPERIOR

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 23689763000359

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Rua Josué Montello, Nº 01 – Renascença II

Cidade: São Luís

Estado: MA

CEP: 65075-120

País: BRASIL

Telefone: (98) 321 44116

Fax:

Email: posbiologiamicrobiana@ceuma.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COMPOSTOS A PARTIR DE EXTRATOS DE Arrabidaea brachypoda, CARACTERIZADOS PARA PREPARO DE UMA FORMULAÇÃO PARA TRATAMENTO DA COVID-19

Resumo: A presente invenção descreve o uso de compostos obtidos a partir do extrato das flores de espécies vegetais do gênero Arrabidaea, em especial a Arrabidaea brachypoda, também conhecida como cipó-uma ou cervejinha do campo, no tratamento da síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2). Tal composição apresenta atividade antiviral comprovada a partir de resultados obtidos de ensaios biológicos, podendo ser utilizadas no combate e

Dados do Pedido

Natureza Patente:	10 - Patente de Invenção (PI)
Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):	PROCESSO DE OBTENÇÃO DE COMPOSTOS A PARTIR DE EXTRATOS DE Arrabidaea brachypoda, CARACTERIZADOS PARA PREPARO DE UMA FORMULAÇÃO PARA TRATAMENTO DA COVID-19
Resumo:	A presente invenção descreve o uso de compostos obtidos a partir do extrato das flores de espécies vegetais do gênero Arrabidaea, em especial a Arrabidaea brachypoda, também conhecida como cipó-uma ou cervejinha do campo, no tratamento da síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2). Tal composição apresenta atividade antiviral comprovada a partir de resultados obtidos de ensaios biológicos, podendo ser utilizadas no combate e controle de vírus, principalmente SARS-CoV-2.
Figura a publicar:	01

PETICIONAMENTO ELETRÔNICO Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 20/11/2023 às 15:46, Petição 870230101943

Nome: MARCELINO SANTOS DO ROSÁRIO
CPF: 60522531342
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Estudante de Pós Graduação
Endereço: Unidade 203, rua 03, número 02, Cidade Operária
Cidade: São Luís
Estado: MA
CEP: 65058-159
País: BRASIL
Telefone: (98) 983 330701
Fax:
Email: marcelino.sr@discente.ufma.br

Inventor 4 de 4

Nome: WASHINGTON KLEBER RODRIGUES LIMA
CPF: 46638466372
Nacionalidade: Brasileira
Qualificação Física: Professor do ensino superior
Endereço: R. MENDES FROTA 03, COND. LA VILLE CASA 09 OLHO D'ÁGUA
Cidade: São Luís
Estado: MA
CEP: 65065-100
País: BRASIL
Telefone: (98) 987 285040
Fax:
Email: washington001294@ceuma.com.br

ANEXO III – PÁGINA INICIAL DA PUBLICAÇÃO DO ARTIGO DO CAPÍTULO 1

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