

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Tainá Soares Martins

**PROSPECÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIVIRAL DE
Byrsonima aerugo SAGOT. CONTRA ARBOVÍRUS
EMERGENTES**

BELÉM – PA

2025

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**PROSPECÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIVIRAL DE *Byrsonima aerugo* SAGOT. CONTRA
ARBOVÍRUS EMERGENTES**

Autora: Tainá Soares Martins

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Consuelo Yumiko
Yoshioka e Silva

Coorientador: Prof. Dr. Wandson
Braamcamp de Souza Pinheiro

Dissertação de mestrado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Ciências
Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos
e Medicamentos, do Instituto de Ciências da
Saúde da Universidade Federal do Pará como
requisito final para a obtenção do título de Mestre
em Ciências Farmacêuticas.

BELÉM – PA

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S676p Soares Martins, Tainá.
PROSPECÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIVIRAL DE
Byrsonima aerugo SAGOT. CONTRA ARBOVÍRUS
EMERGENTES / Tainá Soares Martins. — 2025.
43 f. : il. color.

Orientador(a): Prof^ª. Dra. Consuelo Yumiko Yoshioka E Silva
Coorientador(a): Prof. Dr. Wandson Braamcamp de Souza
Pinheiro

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em
Assistência Farmacêutica, Belém, 2025.

1. Byrsonima aerugo; flavonoides; arboviroses; atividade
antiviral; fitoquímicos.. I. Título.

CDD 615.4

FOLHA DE APROVAÇÃO

Tainá Soares Martins

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGCF da Universidade Federal do Pará como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.
Área de concentração: Fármacos e medicamentos.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof^a. Dr^a. Consuelo Yumiko Yoshioka e Silva - orientadora
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

Prof. Dr. Wandson Braamcamp de Souza Pinheiro - coorientador
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Biotecnologia da Rede BIONORTE

Prof. Dr. Milton Nascimento da Silva
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/UFPA

Prof^a. Dr^a. Ariane Coelho Ferraz - membro externo
Universidade Federal de Ouro Preto/UFOP

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade de vivenciar a experiência de um mestrado tão bom, pela orientação ao longo desse e, mais ainda pelas pessoas que foram colocadas em meu caminho neste meio tempo.

Individualmente agradeço à minha orientadora, Consuelo, pelo suporte dado desde o primeiro contato, pelos conselhos de trabalho e de vida, pelas vezes que se importou comigo como um ser humano de fato, já que nem tudo se resume apenas a trabalho.

Ao professor Milton, pelos conselhos, piadas diárias e ensinamentos constantes, bem como pela paciência com as brincadeiras em laboratório ou em trabalhos de campo, nada como uma garupa de moto no Marajó (risos escandalosos, afinal, eu rio de qualquer coisa).

Ao meu coorientador, Wandson, por todo o apoio, ensino, correções e brincadeiras, é um prazer ter a oportunidade de ser sua aluna.

À minha querida doutora Sônia Pamplona (Soninha), a pessoa que acolheu a todos os discentes com muito carinho e compartilhou seu conhecimento do modo mais amoroso possível, serei eternamente grata.

Às minhas amigadas Rosinha, Rayane, Loueny, Giovana, Luís, que sempre estiveram ao meu lado, foi muito bom conviver com vocês, e principalmente, me distrair com cada momento de descontração. Agradeço em especial ao meu amigo Marcos, que sempre estava junto, pra trabalho ou diversão, sempre compactuando das minhas maluquices e consertando equipamentos para que os trabalhos pudessem de fato acontecer, você é muito importante, não só para o laboratório.

Em especial, agradeço a Ana Paula, Allana e Horrana, que acompanharam cada mínimo processo comigo, que me ajudaram nos melhores e piores momentos, com quem tive minhas mais sinceras gargalhadas e os mais dolorosos prantos, tenho certeza de que a amizade que formamos é para muito além do nível profissional.

Através dessa parceria, por meio da Ana Paula, tive a oportunidade de auxiliar em seu trabalho etnofarmacológico, o qual não possui vínculo direto ao meu trabalho, no entanto, que me encantou imensamente, e que sou eternamente grata por participar, a possibilidade de visitar e interagir com comunidades tradicionais, é uma experiência de valor inestimável, que me levou a formar amigadas também inestimáveis, inicialmente através do Walbit, nosso guia e agora amigo, além dos

trabalhos desenvolvidos pudemos vivenciar o lazer além do turismo tradicional na ilha do Marajó, formando ainda mais vínculos, como o estimado seu Meireles, que em meio às brincadeiras e ensinamentos nos proporcionou experiências inigualáveis, ao nosso querido doutor Abraão, que junto a sua família e amigos, nos recebe com muito carinho. Agradeço ao amigo Vagner, que foi nosso parceiro, motorista de areial profissional e nosso guia, à dona Eli, pela recepção amorosa de sempre, à Tati que facilitou nosso acesso às comunidades e com quem nos divertimos bastante.

Agradeço aos meus pais, Telma e Martins, e a minha irmã, Simone, pelo apoio e suporte, sei que sempre me desejaram o melhor e que traçaram os melhores caminhos para que eu chegasse até aqui. Eu estou no caminho certo. Agradeço aos meus irmãos, Juliana e Lucas por todo o suporte nas minhas quedas, comemorações a cada vitória, ainda que mínima, sem vocês nada disso seria possível, agora temos duas mestres na família e logo mais, dois doutores (kkkkkkk).

Agradeço aos meus amigos mais duradouros, Vanessa, Ewerton, Lissandra, Leandro e Juliana, vocês são muito especiais na minha vida, foram e são suporte em muitos momentos, com vocês cada momento fica leve, tudo o que posso fazer é agradecer sempre.

Agradeço a Breno, pelo incentivo para que eu retornasse à vida acadêmica, pelo incentivo durante o processo, você foi muito importante em toda essa etapa. Agradeço a Rose e Augusto, que me apoiaram em cada momento, vibrando a cada pequena conquista. Agradeço a Isa, por ter sido uma amiga tão especial, que muitas vezes cuidou de mim e me incentivou a ser melhor e mais forte, te admiro muito.

Ao meu outro pai e amigo, Ribamar, que sempre me acolhe e apoia, aquele que cuidou das minhas inseguranças e medos, antes de tudo começar oficialmente, sem você esse processo seria muito doloroso, obrigada por cada puxão de orelha.

Agradeço ao meu amigo Manoel, o que mais me incentivou a entrar nessa loucura que valeu muito a pena, desculpa por não ter te ouvido antes, mas no fim tudo deu certo, agora ambos somos mestres, e um dia chefiaremos e o laboratório de cardiologia vinculada aos produtos naturais (kkkkkk).

Esse título é de todos vocês, cada um tem participação notável na minha vida, serei grata sempre.

RESUMO

MARTINS, T.S. PROSPECÇÃO QUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIVIRAL DE *Byrsonima aerugo* SAGOT. CONTRA ARBOVÍRUS EMERGENTES. 2025. 40 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2025.

As arboviroses representam um desafio significativo para a saúde pública, demandando a busca por novas alternativas terapêuticas. Neste estudo, investigou-se o perfil fitoquímico e a atividade antiviral dos extratos de *Byrsonima aerugo*, com foco nos vírus Mayaro (MAYV), Oropouche (OROV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV). A análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS) revelou a presença predominante de flavonoides e ácidos fenólicos, compostos reconhecidos por seu potencial bioativo. Os ensaios antivirais demonstraram que os extratos aquosos, em especial o Extrato Aquoso da Entrecasca (EAE), apresentaram os melhores índices de seletividade (IS), com destaque para o CHIKV (IS = 18,78) e o OROV (IS = 10,95). Além disso, o extrato etanólico do caule (EECaule) exibiu atividade relevante contra o CHIKV (IS = 12,5). Esses achados indicam que os compostos presentes nos extratos podem atuar inibindo mecanismos-chave da multiplicação viral, tornando-se candidatos promissores para o desenvolvimento de novos fármacos antivirais. Estudos futuros incluirão ensaios *in vivo* e investigações detalhadas dos mecanismos de ação dos compostos bioativos identificados.

Palavras-chave: *Byrsonima aerugo*; flavonoides; arboviroses; atividade antiviral; fitoquímicos.

ABSTRACT

Arboviruses represent a significant challenge for public health, requiring the search for new therapeutic alternatives. This study investigated the phytochemical profile and antiviral activity of *Byrsonima aerugo* extracts, focusing on the Mayaro (MAYV), Oropouche (OROV), Zika (ZIKV) and Chikungunya (CHIKV) viruses. Analysis by liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS) revealed the predominant presence of flavonoids and phenolic acids, compounds recognized for their bioactive potential. The antiviral tests showed that the aqueous extracts, especially the Aqueous Extract of the Entrecasca (EAE), had the best selectivity indices (IS), especially for CHIKV (IS = 18.78) and OROV (IS = 10.95). In addition, the ethanolic extract of the stem (EECaule) showed significant activity against CHIKV (SI = 12.5). These findings indicate that the compounds present in the extracts may act by inhibiting key mechanisms of viral replication, making them promising candidates for the development of new antiviral drugs. Future studies will include in vivo assays and detailed investigations into the mechanisms of action of the bioactive compounds identified.

Keywords: *Byrsonima aerugo*; flavonoids; arboviruses; antiviral activity; phytochemicals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Apresentação de características morfológicas de cinco espécies do gênero <i>Byrsonima</i> spp.....	14
Figura 2 - Representação esquemática da estrutura base de um flavonoide.....	17
Figura 3 - Análise da similaridade química entre as partes da planta.	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Anotações no modo negativo (M-H) ⁻ de compostos químicos de <i>Byrsonima aerugo</i>	29
Tabela 2 - Valores das concentrações citotóxicas (CC50) apresentadas pelos extratos.	34
Tabela 3 - Concentrações efetivas dos extratos para 50% de células infectadas e índice de seletividade dos extratos para os arbovírus descritos neste estudo (OROV, MAYV, CHIKV e ZIKV).	35

LISTA DE SIGLAS

ABTS	diamonium-2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
CC ₅₀	Concentrações citotóxicas para 50% das células
CE ₅₀	Concentração Efetiva para 50% das células
CHIKV	Vírus Chikungunya
CI ₅₀	Concentração Inibitória média
COX	Ciclo-oxigenases
DAD	Detector de Diodos
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
IS	Índice de seletividade
LOX	Lipoxigenases
MAYV	Vírus Mayaro
MTT	Solução de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol
OROV	Vírus Oropouche
PBS	Tampão salina-fosfato
SOD	Superóxido dismutase
TR	Tempo de Retenção
UV/VIS	Ultravioleta-visível
ZIKV	Vírus Zika

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.2 Flavonoides.....	16
2.3 Arboviroses.....	17
2.3.1 FEBRE ZIKA	18
2.3.2 FEBRE CHYKUNGUNIA	19
2.3.3 FEBRE MAYARO.....	20
2.3.4 FEBRE OROPOUCHE	20
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo geral	21
3.2 Objetivos específicos	22
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1 Coleta, identificação e registro	22
4.2 Secagem, processamento e extração de material botânico	22
4.3 Análise por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)	23
4.3.1 PROCESSAMENTO DE DADOS ESPECTROMÉTRICOS	24
4.3.2 ANÁLISE DA REDE MOLECULAR.....	24
4.4 Atividade antiviral	25
4.4.1 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE	25
4.4.2 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIVIRAL	26
4.4.3 ÍNDICE DE SELETIVIDADE DOS COMPOSTOS COM AÇÃO ANTIVIRAL	27
5 RESULTADOS.....	27
5.1 Perfil químico por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)	27
5.1.1 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS	27
5.2 Antiviral	32
6 DISCUSSÃO	36
7 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS.....	40

1 INTRODUÇÃO

As arboviroses, doenças virais transmitidas por vetores, constituem um desafio global à saúde pública, pois manifestam-se como um fenômeno recorrente em diferentes partes do globo principalmente em países tropicais, como o Brasil (FRITZELL *et al.*, 2018; DONATELI; CAMPOS, 2023). Dentre as arboviroses de maior relevância, pode-se destacar a febre Chikungunya, a Zika, a Mayaro e a Oropouche, as quais apresentam sintomas que variam de leves a graves, podendo evoluir para complicações que levam ao óbito, em conformidade com Pereira *et al.* (2021). Embora representem uma ameaça à população, as estratégias de controle e prevenção das arboviroses ainda são ineficazes no Brasil, o que demanda a implementação de estratégias de controle vetorial, de investimento em pesquisas e de adoção de políticas públicas eficazes para a mitigação dessas doenças (GIRARD *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2021).

De acordo com os dados mais recentes do Ministério da Saúde (2024), a Chikungunya apresentou, no primeiro semestre de 2024, 233.225 casos notificados, revelando uma taxa de incidência de 114,9 casos por 100 mil habitantes, e 134 óbitos confirmados (BRASIL, 2024). Em relação ao Zika, no mesmo período de 2024, foram notificados 8.519 casos prováveis, sendo que a Região Nordeste apresentou uma taxa de incidência de 2,1 casos por 100 mil habitantes (BRASIL, 2024). Ademais, foram registrados 6.976 casos de febre do Oropouche, sobretudo na região amazônica, considerada endêmica para a doença, partindo de amostras analisadas a partir da técnica RT-PCR (BRASIL, 2024). O arbovírus Mayaro está sendo investigado devido à sua expansão crescente. Por isso, na comunidade científica, observa-se um crescente interesse pelo estudo de propriedades antivirais em compostos naturais, com enfoque em plantas, a fim de identificar compostos com potencial farmacológico para o tratamento dessas doenças.

Segundo Costa (2019), a Amazônia, por ser o maior bioma brasileiro, deve ser um foco prioritário para a investigação de novos compostos antivirais, visto que abriga uma rica biodiversidade compostas por milhares de metabólitos presentes na flora local. Nesse contexto, a prospecção de compostos bioativos em plantas, como as do gênero *Byrsonima*, amplamente utilizado na medicina tradicional, é fundamental para o desenvolvimento de novos medicamentos, podendo oferecer alternativas

terapêuticas eficazes e seguras para o tratamento de doenças infecciosas, como as causadas por barbovírus, além de integrar o conhecimento tradicional à validação científica, expandindo as possibilidades de aplicações fitoterápicas.

Sua utilização tradicional abrange várias partes da planta, incluindo raiz, caule, folhas e frutos, para fins medicinais, alimentares e comerciais. De acordo com estudos etnobotânicos, o gênero *Byrsonima* é amplamente reconhecido pelo seu uso tradicional terapêutico, que inclui atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e cicatrizante, por exemplo, a espécie *B. crassifolia* (L.) HBK, além dessas atividades, apresenta também a ação analgésica, conforme Oliveira *et al.* (2017). Além disso, observa-se que a presença de metabolitos secundários, incluindo flavonoides, como catequina, epicatequina e rutina, além de glicosídeos, taninos e triterpenos, está associada às atividades terapêuticas (HERRERA-RUIZ *et al.*, 2011; RAMOS *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2022; DE LA CABEZA-FERNÁNDEZ *et al.*, 2023).

Portanto, ao considerar os compostos fitoquímicos bioativos encontrados em diversas espécies de *Byrsonima*, infere-se que essas plantas apresentam potencial antiviral, destacando-se a espécie *Byrsonima aerugo*, que é pouco explorada em termos de propriedades medicinais e fitoquímicas. Diante disso, o presente estudo buscou explorar os potenciais farmacológicos, terapêuticos e biológicos da espécie a fim de caracterizar a sua composição fitoquímica, bem como investigar seu potencial antiviral. Consequentemente, este estudo visa contribuir de maneira significativa para a exploração de alternativas terapêuticas no combate às arboviroses, ampliando as perspectivas de tratamento por meio de compostos bioativos naturais em contextos clínicos.

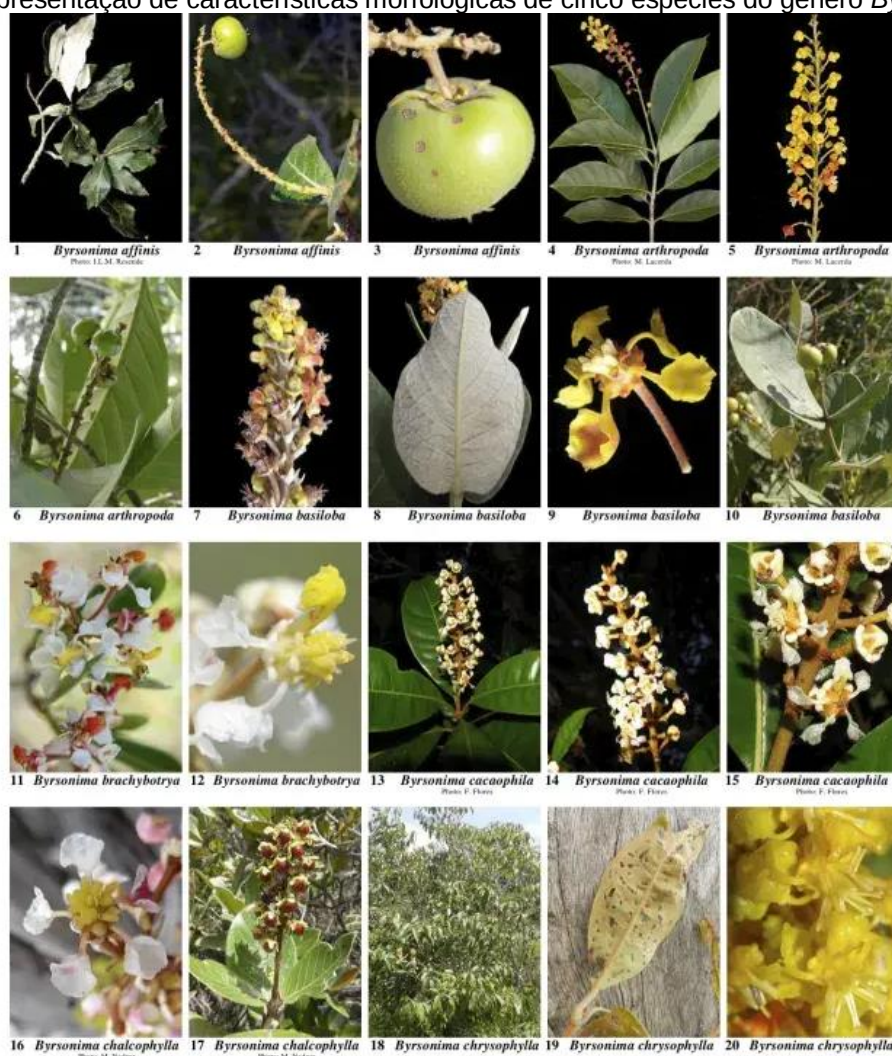
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Byrsonima*

O gênero *Byrsonima* (Malpighiaceae), é nativo da América Tropical e Subtropical, no Brasil, especialmente na floresta amazônica, regiões Sudeste, Centro-oeste e Nordeste geralmente em terrenos secos e elevados, de solos arenosos e pobres, seu período de colheita pode ocorrer de novembro a março (CAMACAM; DE OMENA MESSIAS, 2022). Atualmente, existem 163 espécies

catalogadas para o gênero (ROYAL BOTANIC GARDENS, 2023). Sua representação se dá por plantas dicotiledôneas, de característica arbustiva, flores de coloração amarela, branca ou rosada, geralmente possuem tronco tortuoso com casca espessa, folhas simples direcionadas às extremidades dos ramos. Os frutos são arredondados, carnosos e pequenos, a polpa fina e verde, torna-se amarela, laranja, vermelha, roxa, azul ou preta-azulada na maturidade, são comestíveis e bastante apreciados pela população, além de terem alto teor nutricional, na Figura 1 pode-se observar as distinções entre diferentes espécies do gênero (FRANCENER, 2020).

Figura 1 - Apresentação de características morfológicas de cinco espécies do gênero *Byrsonima* spp.



Fonte: FRANCENER et al., 2016.

Quanto aos principais compostos encontrados no gênero *Byrsonima* spp., há uma maior prevalência de flavonoides, destacando-se, flavanois e seus

heterosídeos, flavanonas, biflavonoides, catequinas e epicatequinas, proantocianidinas, compostos triterpênicos, além de ácido gálico e derivados, derivados do ácido quínico, aminoácidos entre outras substâncias menos usuais foram isolados de diferentes espécies do gênero *Byrsonima* (GUILHON-SIMPLÍCIO e PEREIRA, 2011). A análise fitoquímica da casca de *Byrsonima crassifolia*, por exemplo, indicou a presença de diversos metabólitos secundários da planta sendo eles: flavonoides, taninos, saponinas, antraquinonas e alcaloides, quanto aos compostos isolados, foram identificados ácido gálico, ácido protocatecuico, (+) catequina, procianidina B2 e (-) epicatequina (DE LA CABEZA FERNÁNDEZ et al., 2023).

O extrato metanólico das folhas de *B. fagifolia*, apresentou potencial de inibição significativa em relação a lesões gástricas induzidas por etanol. Esse extrato acelerou a cicatrização da mucosa ulcerada gástrica, estimulando fatores proliferativos e aumentando a produção de muco gástrico sem ação tóxica. A ação se deu pelo bloqueio do processo de desenvolvimento da inflamação, também apresentou atividades antidiarreicas (LIMA et al., 2008).

Em testes realizados com os extratos hidroalcólico e em diclorometano feito a partir das cascas da *B. crassifolia*, testados em ratos, demonstraram que o extrato hidroalcólico apresentou efeitos neurofarmacológicos significativos (DE LA CABEZA FERNÁNDEZ et al., 2023). O estudo de Andrade et al., (2018) observou que as folhas apresentaram potente atividade antioxidante, justificada pela presença de compostos fenólicos e flavonoides conhecidos por sua capacidade de capturar radicais livres e inibir possíveis danos oxidantes, além de apresentar atividade antifúngica contra *Fusarium solani* e *Sclerotinia sclerotiorum* em diferentes níveis de inibição do crescimento do fungo micelial, atribui-se o potencial antifúngico da espécie aos compostos fenólicos e derivados de triterpenos.

O estudo realizado com o extrato etanólico das folhas de *Byrsonima gardneriana* evidenciou atividade predominantemente fungistática contra *Candida* spp., bem como, apresentou baixa atividade hemolítica em todos os tipos sanguíneos testados, entretanto não pode prevenir estresse osmótico nos eritrócitos humanos (SOUZA-MELO et al., 2021). O estudo realizado por Cecílio et al. (2012) testou diversas plantas, dentre essas, a espécie *B. verbascifolia* foi uma das espécies que apresentou potencial mais promissor a atividade *in vitro* contra o

rotavírus. O seu extrato preveniu a formação de efeito citopático e a análise reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) não detectou nenhuma ampliação de material genético por parte do vírus.

2.2 Flavonoides

Os flavonoides são uma classe distinta de compostos secundários polifenólicos que podem ser alternativas terapêuticas viáveis por sua vasta atividade biológica, seu potencial abrange o espectro antifúngico, antiviral, antibacteriano e antiparasitário. Além disso, sua capacidade imunomoduladora e anti-inflamatória na modulação das respostas imunes e na atenuação de processos inflamatórios (MORAES et al., 2022).

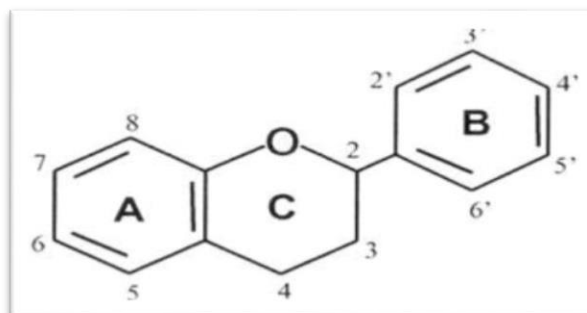
Esses compostos polifenólicos são biossintetizados a partir do ácido cinâmico, um intermediário essencial na via de biossíntese de substâncias aromáticas em plantas. Essa via origina o ácido cinâmico e seus derivados, como os ácidos cafeico, ferúlico e sinápico, todos contendo nove átomos de carbono. Paralelamente, a via do acetato leva à formação de um triacetato com seis átomos de carbono. A condensação de dois derivados do ácido cinâmico com um tricetídeo resulta em um composto de 15 átomos de carbono, constituindo o precursor fundamental de todas as classes de flavonoides (SILVA et al., 2016).

Assim, a estrutura química fundamental dos flavonoides, conhecidos como flavílio, é formada por 15 átomos de carbono distribuídos em dois anéis aromáticos (A e B), ambos benzeno, conectados a um anel heterocíclico central do tipo pirano (anel C). Nessa configuração, o primeiro anel benzênico encontra-se condensado com o sexto carbono do anel pirano, enquanto a posição 2 deste último carrega um grupo fenil (DORNAS et al., 2010), conforme ilustrado na Figura 2.

Uma das atribuições mais relevantes dos flavonoides é atividade antioxidante, que está intrinsecamente relacionada à sua estrutura química, sendo especialmente influenciada pela presença de grupos hidroxila, os quais desempenham um papel fundamental na sua eficiência. Quanto maior o número desses grupos hidroxila, mais formidável se torna a sua capacidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, protegendo as células contra o estresse oxidativo e contribuindo para a manutenção da homeostase celular (FLAMBÓ,

2013).

Figura 2 - Representação esquemática da estrutura base de um flavonoide.



Fonte: De Araújo, 2016.

Os flavonoides são capazes de regular os sistemas enzimáticos celulares, atuando como inibidores seletivos de uma gama de enzimas cruciais para a homeostase fisiológica. Eles intervêm habilmente na função das xantinaoxidasas (XO), um mediador de inflamação e estresse oxidativo. Simultaneamente, esses compostos fenólicos exercem controle sobre as ciclo-oxigenases (COX), enzimas-chave na modulação de processos inflamatórios e a dor. Adicionalmente, as lipoxigenases (LOX), também são alvos desses agentes bioativos, que, ao inibir tais enzimas, contribuem para a regulação da resposta imune e a manutenção da integridade celular (AGUIAR et al., 2007; MOREIRA LOPES e SOUSA, 2022).

Dessa forma, a capacidade dos flavonoides em modular enzimaticamente mecanismos fisiopatológicos relacionados à resposta bioquímica e celular permite que esses compostos possam ser utilizados como candidatos promissores no desenvolvimento de terapias inovadoras para uma infinidade de condições patológicas, desde distúrbios metabólicos até doenças inflamatórias crônicas, oferecendo um espectro terapêutico vasto e ainda a ser plenamente explorado (MERCÊS e SANTOS, 2022).

2.3 Arboviroses

Arboviroses correspondem a enfermidades virais ocasionadas por arbovírus

(vírus transmitido por artrópode), abrangendo o vírus da dengue, o vírus Zika, o vírus Chikungunya, Oropouche e Mayaro, entre outros. Essas infecções possuem relevância global, com a dengue destacando-se como a mais prevalente, sobretudo no continente americano. A expansão dos mosquitos vetores em áreas urbanas constitui um desafio contínuo para a saúde pública no Brasil (MELO et al., 2024)

Os principais vetores responsáveis pela propagação das arboviroses são os mosquitos, em especial os gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*. Esses insetos atuam como portadores do vírus, adquirindo-os ao picar uma pessoa já infectada e, posteriormente, transmitindo-os a outras pessoas (BRASIL, s.d).

2.3.1 FEBRE ZIKA

A infecção pelo vírus Zika (ZIKV), pertencente ao gênero *Flavivirus*, membro da família *Flaviviridae* pode se manifestar de forma assintomática ou sintomática, com um quadro clínico que exhibe uma ampla variabilidade. As manifestações podem variar desde formas leves e autolimitadas até complicações neurológicas graves e malformações congênitas. O vírus apresenta um período de incubação que varia entre 2 a 7 dias. As manifestações mais frequentemente observadas incluem: febre baixa ($\leq 38,5$ °C) ou ausente; exantema de início precoce; conjuntivite não purulenta; cefaleia, artralgia, astenia e mialgia; edema periarticular e linfonodomegalia (OPAS, s.d).

Além das manifestações clínicas comuns, o prurido emerge como um sintoma relevante durante o período agudo da doença, podendo impactar significativamente as atividades cotidianas e o sono. Duas complicações neurológicas graves associadas ao ZIKV foram identificadas: Síndrome de Guillan-Barré (SGB), uma condição rara em que o sistema imunológico de uma pessoa ataca os nervos periféricos e; Microcefalia, a manifestação mais grave de um espectro de defeitos congênitos. Essas complicações ressaltam a importância da vigilância clínica e do manejo adequado dos pacientes infectados pelo vírus Zika, especialmente em gestantes, visando à prevenção e ao controle dessas manifestações adversas (RODRIGUES, 2019).

Em 2024, foram notificados 8.519 casos prováveis de Zika no País (taxa de incidência de 4,2 casos/100 mil habitantes), o que representa um aumento de 9%

no número de casos prováveis quando comparado com o mesmo período do ano anterior (7.840 casos prováveis e 3,9 casos/100 mil habitantes), não foram confirmados óbitos por Zika no Brasil em 2024 (BRASIL, 2024)

2.3.2 FEBRE CHIKUNGUNIA

O vírus Chikungunya (CHIKV) pertence ao gênero *Alphavirus*, da família *Togaviridae*. Este vírus possui um genoma de RNA de fita simples, de sentido positivo, com um tamanho aproximado de 11,8 kb. O CHIKV é um vírus envelopado e é transmitido aos seres humanos principalmente pelos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (LANI et al., 2016; BADSHAH et al., 2021). Após a picada do mosquito vetor, CHIKV penetra na epiderme e cai na circulação sanguínea. Após a replicação inicial nos fibroblastos dérmicos, o CHIKV dissemina-se pela corrente sanguínea, podendo infectar diversos órgãos e tecidos, incluindo fígado, músculos, articulações, baço, linfonodos e sistema nervoso central (WHO, 2020).

A chikungunya é caracterizada por manifestações agudas e crônicas, geralmente incluindo febre e poliartralgia, que geralmente são altamente debilitantes. Atualmente, a doença representa um grande problema de saúde pública nas Américas, causando impactos econômicos diretos e indiretos (DE SOUZA et al., 2024).

Segundo o Boletim epidemiológico nº11 (2024), em 2024, foram notificados 233.225 casos prováveis de chikungunya no Brasil, correspondendo a uma taxa de incidência de 114,9 casos por 100 mil habitantes. Esse valor representa um incremento de 78,8% em comparação ao mesmo período de 2023, quando foram notificados 130.458 casos prováveis (59,3 casos por 100 mil habitantes). Foram confirmados 134 óbitos por chikungunya no Brasil (taxa de letalidade de 0,06%), o que representa um aumento de 42,5% em relação ao mesmo período do ano anterior, quando foram confirmados 94 óbitos (taxa de letalidade de 0,07%) (Brasil, 2024). Em novembro de 2023, a Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos aprovou a primeira vacina contra a chikungunya. No entanto, a implementação de amplos programas de imunização ainda se faz necessária, e fármacos antivirais específicos para a profilaxia e o tratamento da doença seguem indisponíveis (MULLARD, 2024; DE SOUZA et al., 2024).

2.3.3 FEBRE MAYARO

A Febre de Mayaro é uma enfermidade infecciosa aguda, caracterizada por febre e sintomatologia predominantemente benigna, apresentando similaridades clínicas com a infecção pelo vírus Chikungunya. Seu agente etiológico, o vírus Mayaro (MAYV), pertence à família *Togaviridae* e ao gênero *Alphavirus*, o mesmo do CHIKV, com o qual compartilha proximidade genética. As manifestações clínicas associadas ao MAYV são análogas às provocadas pelo CHIKV e por outros arbovírus, englobando sintomas como febre, artralgia e exantema. A transmissão ocorre, principalmente, por meio da picada de mosquitos vetores infectados, sendo a doença endêmica em regiões tropicais da América do Sul e Central (Domingos, 2024).

A apresentação clínica da Febre de Mayaro inicia-se de forma abrupta, manifestando-se por febre alta, tipicamente entre 39 e 40°C, acompanhada de cefaleia intensa, artralgia, mialgia, edema articular e calafrios. Sintomas adicionais incluem dor retro-orbital, sensação de mal-estar generalizado e exantema cutâneo. Manifestações gastrointestinais como vômitos e diarreia também podem ocorrer (Santos et al., 2020). A patogênese do MAYV é caracterizada por um quadro clínico distinto, no qual o paciente manifesta sintomas exantema maculopapular e, principalmente, artralgias intensas e prolongadas, que podem persistir por meses ou até anos. O período de incubação varia de 7 a 12 dias, e os sintomas geralmente persistem entre 2 e 5 dias. A evolução do quadro clínico tende à recuperação completa, sem deixar sequelas (Torres et al., 2004; Azevedo et al., 2009; Domingos, 2024).

2.3.4 FEBRE OROPOUCHE

O vírus Oropouche (OROV), pertencente ao gênero *Orthobunyavirus*, família *Peribunyaviridae*. É transmitido pelo mosquito *Culicoides paraensis* e está associado a quadros de febre aguda. Sua distribuição é ampla em regiões tropicais, particularmente na América Central e do Sul. Desde sua identificação inicial, um elevado número de casos associados ao OROV é reportado anualmente. Entre 2023

e 2024, o Brasil enfrentou uma epidemia significativa do vírus Oropouche, com mais de 8.200 casos registrados até outubro de 2024. Inicialmente restrito à região Amazônica, o vírus expandiu-se para outras áreas, incluindo casos em estados como Pernambuco, Acre e Ceará (FIOCRUZ, 2024). O vírus pode desencadear infecções sistêmicas, afetando os sistemas nervoso e hematológico, o que pode resultar em complicações graves. Schwartz, Dashraath e Baud (2024) identificaram casos conclusivos relacionados a transmissão vertical e casos de microcefalia. Os sintomas são semelhantes aos observados na infecção pelo vírus Chikungunya, incluindo cefaleia, mialgia, artralgia, náusea e diarreia. (Romero-Alvarez e Escobar, 2018). O espectro sintomático pode abranger manifestações como dor retrobulbar, hipoxemia, mialgia e dermatoses. Adicionalmente, um contingente significativo de infecções pode progredir para quadros neurológicos graves, tais como meningite ou encefalite. Manifestações hemorrágicas espontâneas, embora infrequentes, podem incluir petéquias, epistaxe e hemorragia periodontal, em alguns casos até meningite asséptica (Silva-Caso et al., 2019).

A partir de 2023, a detecção de casos de febre do Oropouche (FO) aumentou significativamente, 831 amostras tiveram diagnóstico laboratorial de biologia molecular (RT-PCR) detectável para o OROV. Em 2024, 6.976 amostras tiveram resultado detectável para o vírus, maior parte dos casos teve como local provável de infecção (LPI) municípios dos estados da Região Norte. Em 2024, a região amazônica, considerada endêmica, concentrou 78,4% dos casos registrados no País. Transmissão autóctone em estados extra-amazônicos foi registrada na Bahia, no Espírito Santo, em Santa Catarina, em Minas Gerais, no Rio de Janeiro, no Piauí, em Mato Grosso, em Pernambuco e no Maranhão. O LPI dos casos detectados no Ceará, no Paraná e em Mato Grosso do Sul está em investigação (Brasil, 2024).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Investigar o perfil químico e a atividade antiviral dos extratos de *Byrsonima aerugo*, com foco na identificação de compostos bioativos e na avaliação de seu

potencial terapêutico contra arbovírus de relevância epidemiológica, como Chikungunya (CHIKV), Oropouche (OROV), Mayaro (MAYV) e Zika (ZIKV).

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o perfil químico dos extratos de *Byrsonima aerugo* por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS), identificando os principais metabólitos secundários presentes.
- Avaliar a atividade antiviral dos extratos de *Byrsonima aerugo* contra os arbovírus Chikungunya (CHIKV), Oropouche (OROV), Mayaro (MAYV) e Zika (ZIKV) utilizando ensaios *in vitro*, como a determinação da citotoxicidade e a análise da proteção celular frente aos vírus.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta, identificação e registro

O espécime foi coletado no município de Ananindeua/PA, na Reserva do Utinga, em solo argiloso, no dia 23 de fevereiro de 2014. Foram coletadas amostras das folhas, caule, casca, alburno e raízes. A identificação e coleta foi realizada pelo sr. Manoel Cordeiro, da Instituição Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA - Amazônia Oriental), e as exsiccatas foram depositadas no herbário, com as seguintes informações: herbário IAN - número de registro: 192689. O acesso ao patrimônio genético foi legalizado na plataforma SISGEN, com número de registro: A678D8C.

4.2 Secagem, processamento e extração de material botânico

A obtenção dos extratos foi desenvolvida nas seguintes etapas: *Etapas 1* - As folhas, caule, alburno, raízes e cascas da espécie foram secas em estufa

microprocessada com circulação e renovação de ar à 40 °C até peso constante; *Etapa 2* - O material seco foi triturado em moinhos de bolas até obtenção de granulometria de pó semifino (cuja partícula passa em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 µm); *Etapa 3* - O extrato etanólico foi preparado na razão 1:10 de g material vegetal/mL de etanol 96% durante 48 horas, sendo trocado o solvente em intervalos de 24 horas a fim de exaurir a extração; *Etapa 4* - O extrato aquoso foi preparado na proporção de 1/10, utilizando-se o método de infusão para as folhas e decocção para o caule, alburno, raiz e cascas; *Etapa 5* - os respectivos volumes foram reunidos e concentrados em evaporador rotativo, e o volume reduzido foi concentrado e seco em estufa (45 °C) até peso constante.

4.3 Análise por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)

As análises de cromatografia líquida/espectrometria de massas (LC-MS/MS) foram realizadas com um espectrômetro de massas de alta resolução Xevo G2-S QToF (Waters Corp., Milford, MA, EUA) equipado com uma fonte Lockspray. A leucina-encefalina foi utilizada como referência para medições de massa exatas. O software MassLynx 4.1 foi utilizado para o controle do sistema e a aquisição de dados. Uma alíquota de 2 µL de cada extrato a 2000 ppm foi injetada e separada numa coluna BEH C18 (Waters Corp; 50 mm; 2,1 mm; tamanho de partícula 1,7 µm) a 40 °C. A água ultrapura (A) e o acetonitrila (B) foram utilizados como fase móvel. A injeção foi realizada a 300 µL/min, e o tempo total de execução foi de 24 minutos com o seguinte gradiente: 0-18 minutos (gradiente linear de 10% a 100% B), 18-20 minutos (limpeza da coluna), 20-21 minutos (redução linear de 100% a 10% B) e 24 minutos (mantido a 10% B durante 2 minutos para equilibrar a coluna). A ionização negativa (IN) foi utilizada para a aquisição de dados na gama de massas de m/z 100 a 1200. Foi aplicada a Aquisição Dependente de Dados (DDA) com uma forma de centróide e a seleção de cinco íons (Experiência Top 5). A energia de colisão foi definida de 15 a 65 eV. O tempo de varrimento foi de 0,1 s e os estados de carga foram +2, com uma janela de tolerância de ± 0,2 Da e uma tolerância de extração de pico de 2 Da. A tolerância de isótopos foi de ± 3 Da e a

tolerância de extração de isótopos foi de 6 Da. As temperaturas da fonte e da dessolvatação foram fixadas em 150 °C e 300 °C, respectivamente. Os caudais de gás de cone e de dessolvatação foram de 50 L/h e 800 L/h, respectivamente. A tensão capilar foi de 3,0 kV e a tensão do cone foi de 40 V.

4.3.1 PROCESSAMENTO DE DADOS ESPECTROMÉTRICOS

Os ficheiros obtidos a partir do espectrômetro de massa Xevo G2-S QToF para todos os extratos foram convertidos para o formato mzML utilizando o software MSConvert (ProteoWizard, Palo Alto, CA, EUA) (Chambers et al., 2012). Os dados foram processados com o software MZmine, versão 4.0 (Schmid et al., 2023). Os limites para precursores e fragmentos foram $1,0 \times 10^3$ (MS1) e $8,0 \times 10^1$ (MS2) 1. O algoritmo ADAP foi utilizado para construir os cromatogramas de íons totais (TIC). O tempo de retenção foi definido de 0,02 a 10,00 minutos, o tamanho mínimo do grupo foi definido para pelo menos 3, o limite de intensidade do grupo foi definido para $1,0 \times 10^3$, a intensidade máxima e mínima foi definida para $3,0 \times 10^4$ e a precisão dos scanners foi definida para 0,002 m/z ou 10 ppm. O algoritmo Local Minimum Resolver foi utilizado para deconvoluir o cromatograma com o limiar cromatográfico fixado em 80%, o intervalo mínimo de pesquisa entre tempo de retenção/mobilidade fixado em 0,050, a tolerância do precursor fixada em 0,002 m/z ou 10 ppm, o limiar de ruído fixado em 15, a altura mínima absoluta fixada em $1,0 \times 10^4$ e o rácio pico a pico foi de 1,7, a gama de duração do pico foi de 0,10 a 1,00 e a gama de comprimento de onda (RT) foi de 0,05 a 0,15. Os isótopos foram detectados utilizando uma janela de picos com uma tolerância de 0,002 m/z ou 10 ppm, uma tolerância de tempo de retenção de 0,2 minutos e uma carga máxima de 2. O alinhamento dos picos foi efetuado utilizando uma tolerância m/z de 3:1 por tempo de retenção e um tempo de retenção de 0,2 minutos. A lista resultante foi filtrada para remover duplicados e linhas sem um espectro MS2 associado. Os ficheiros mgf e CSV foram exportados para pesquisa em bibliotecas e análise de redes moleculares na plataforma GNPS (Wang et al., 2016).

4.3.2 ANÁLISE DA REDE MOLECULAR

A análise da rede molecular foi efetuada em modo de ionização negativa com as seguintes definições. Para o agrupamento espectral, a tolerância m/z foi fixada em 0,02 Da para o íon precursor e 0,02 Da para o íon fragmento. A pontuação mínima de cosseno é superior a 0,7 e o número mínimo de íons de fragmento é definido como 4. Para pesquisar os espectros experimentais nas bibliotecas espectrais GNPS MS/MS, foram aplicadas pontuações mínimas de cosseno superiores a 0,7 e um mínimo de 4 combinações de íons de fragmento. Também foram utilizados metadados para descrever a informação relativa à quantidade de íons nos extratos de *B.aerugo* (trabalho de ionização negativa <https://gnps.ucsd.edu/ProteoSAFe/status.jsp?task=b1d9e21d146b44b89267dd3d72b7f9cf>). Os resultados foram visualizados e avaliados utilizando o Cytoscape versão 3.10.2 (Shannon et al., 2003).

4.4 Atividade antiviral

4.4.1 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE

Antes da realização dos testes antivirais, os extratos foram submetidos ao ensaio de citotoxicidade, o qual determina a concentração de trabalho, citotóxica para 50% das células (CC50). Células Vero foram distribuídas em microplacas de 96 poços (5×10^4 células/poço) e incubadas a 37°C por 24 horas. Em seguida, foram adicionados 100 µL/poço de meio Eagle modificado por Dulbec (DMEM) completo com 1% de Soro Fetal Bovino (SFB) e 100 µL/poço de diferentes concentrações dos extratos, em triplicata. As placas foram incubadas a 37°C por 48 horas e, após a remoção do meio de cultura, foram adicionados 25 µL da solução de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (1 mg/mL em PBS 1×), incubando-as a 37°C por 90 minutos. Para que os cristais de formazan formados pela metabolização do MTT fossem dissolvidos, foram adicionados 100 µL/poço do solvente dimetilsulfóxido (DMSO), mantendo as culturas sob agitação a 150 rpm por 15 minutos.

A técnica colorimétrica com MTT foi adotada para avaliação quantitativa desse ensaio, assim como o de atividade antiviral, por ser um método muito utilizado, sensível, reprodutível, de baixo custo e fácil realização. O composto MTT

é um sal tetrazólio amarelo que apresenta coloração púrpura apenas quando é metabolizado, ou seja, somente ocorre alteração de cor se houver células viáveis para realizar a redução do sal. O sistema enzimático succinato-tetrazol redutase, pertencente à cadeia respiratória mitocondrial, é o responsável por reduzir o MTT a um cristal de formazan (Mossmann, 1983). Sendo assim, a viabilidade celular é mensurada devido à sua correlação direta com a quantidade de formazan gerado, medido por espectrofotometria a $\lambda = 490 \text{ nm}$.

A toxicidade celular foi expressa em termos da CC_{50} , onde a conversão da absorbância em porcentagem de células viáveis foi calculada como descrito na Equação (1) e, a partir dos valores obtidos, realizou-se análise de regressão usando o *software* Excel para determinação da CC_{50} .

$$\% \text{células viáveis} = \frac{(B \times 100)}{A} \quad (1)$$

4.4.2 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIVIRAL

As maiores concentrações não citotóxicas para 50% das células (CC_{50}) dos diferentes extratos foram testadas quanto à atividade antiviral frente aos vírus Mayaro (MAYV), Oropouche (OROV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV). Para isso, células Vero distribuídas em microplacas de 96 poços (5×10^4 células/poço) foram incubadas por 24 horas. O meio foi removido e 100 μL das diluições dos extratos candidatos foram adicionados, em triplicatas, juntamente com 100 μL de suspensão viral (moi 1). Após 48 horas da infecção (hpi), o experimento foi revelado, utilizando a mesma técnica do MTT. A concentração eficaz com 50% de efeito antiviral, ou seja, concentração efetiva/protetiva para 50% das células infectadas (CE_{50}) foi expressa como a concentração que promoveu a proteção de 50% das células infectadas, também calculada por meio de análise de regressão pelo *software* Excel, no qual a porcentagem de células viáveis foi determinada como descrito na Equação (2).

$$\% \text{ células viáveis} = \left(\frac{A-B}{C-B} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde **A**, **B** e **C** representam as absorbâncias a 490 nm dos poços nos quais estavam presentes células tratadas e infectadas (A), não tratadas e infectadas (B) e não tratadas e não infectadas (C), respectivamente. Os compostos candidatos foram testados em uma faixa de concentração de 250 — 7,8 µg/mL.

4.4.3 ÍNDICE DE SELETIVIDADE DOS COMPOSTOS COM AÇÃO ANTIVIRAL

O índice de seletividade (IS) é um parâmetro importante na avaliação da atividade antiviral de uma substância ou extrato, pois fornece a relação entre os efeitos farmacológicos e tóxicos, é também considerado a janela entre a dose efetiva e a dose citotóxica do composto em estudo. O índice de seletividade expressa a razão entre a concentração da amostra tóxica para 50% das células (CC₅₀) e a concentração eficaz que inibe 50% da infecção viral (CE₅₀). Portanto, para os casos em que os compostos candidatos apresentaram atividade inibitória frente ao MAYV, CHIKV, ZIKV e OROV o IS foi calculado como descrito na Equação (3).

$$IS = \frac{CC_{50}}{CE_{50}} \quad (3)$$

5 RESULTADOS

5.1 Perfil químico por Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas (LC-MS)

5.1.1 IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

A análise por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas no modo negativo [M-H]⁻ possibilitou a anotação de 25 compostos químicos. A identificação desses compostos foi realizada por meio de uma abordagem integrada, que combinou dados experimentais de alta precisão com os fragmentos identificados através de análises realizadas utilizando a plataforma GNPS, o que

resultou na anotação de 13 flavonoides, sendo sete glicosilados, uma flavona, um flavonol e quatro de subclasse não identificada. Além disso, foram anotados seis ácidos fenólicos, dois glicosídeos, uma amida fenólica, uma cumarina, uma lignana e uma piperazina. Todos os compostos foram meticulosamente avaliados para assegurar a obtenção de gráficos de espelho aceitáveis entre os espectros experimentais e os de referência. A atribuição do metabólito fundamentou-se na pontuação de cosseno entre os espectros MS/MS experimentais e os de referência recuperados das bibliotecas GNPS.

Os resultados obtidos até o momento fornecem base significativa para a compreensão da composição química da espécie estudada. A Tabela 1 mostra os compostos anotados com os respectivos valores experimentais de razão massa/carga (m/z) comparados com os valores teóricos calculados a partir das fórmulas moleculares. O erro experimental manteve-se abaixo de 5 ppm para todos os compostos, indicando uma elevada precisão na identificação.

Tabela 1 - Anotações no modo negativo (M-H)⁻ de compostos químicos de *Byrsonima aerugo*.

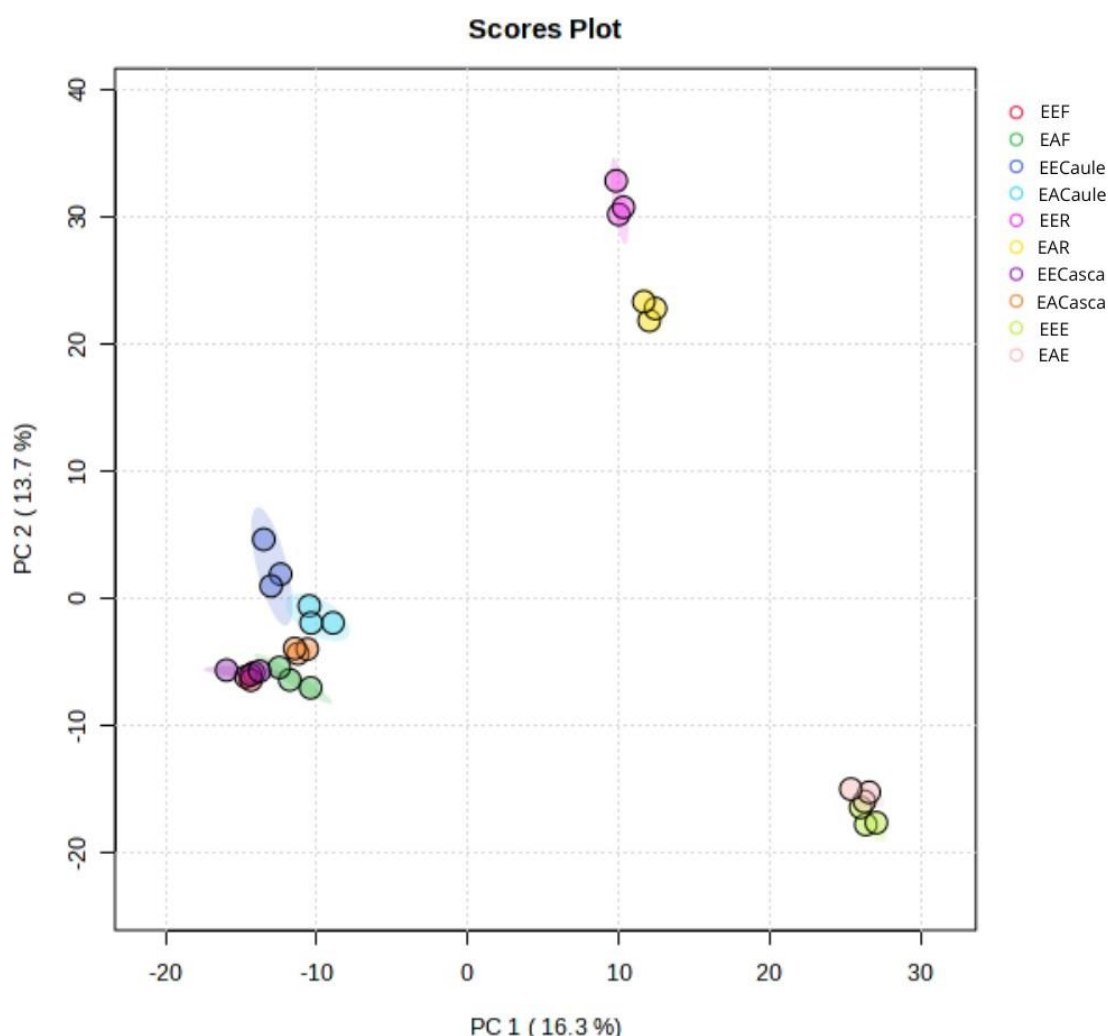
Pico	TR (min)	Fórmula molecular	(m/z) Observada	(m/z) Teórica	Erro (ppm)	Fragmentação MS/MS	Composto	Referência Id	Classe	Extrato
1	0,42	C7H6O5	169.0139	169.0140	0.5	169, 125	Ácido gálico	CCMSLIB0000 5749209	Ácido fenólico	EEF, EECaule, EECasca
2	0,51	C9H1O5	197.0451	197.0460	4.5	166,138, 123	Ácido 2-hidroxi- 3,4-dimetoxibenzóico	CCMSLIB0000 4693649	Ácido fenólico	EECaule, EEE, EECasca
3	0,56	C33H40O20	755.2033	755.2040	0.9	755, 300	Isômero de Mangaslin	CCMSLIB0000 4706300	Flavonoide glicosilado	EEF
4	0,99	C16H18O 8	337.0921	337.0930	2.6	173, 163, 119	Ácido 4-p-cumaroilquinico	CCMSLIB0001 2420192	Ácido fenólico	EEF, EAF,EECaule,
5	1,01	C16H18O 8	337.0923	337.0930	2	191, 163, 119	Ácido ciclohexanocarboxílico,1,3,4-tri- hidroxi-5-[[3-(4- hidroxifenil)-1-oxo-2- propenil]oxi]-, (1r,3r,4s,5r)-	CCMSLIB0000 4697368	Ácido fenólico	EEF
6	1,02	C13H8O8	291.0137	291.0150	4.4	247, 219,191, 173,145	Ácido brevifolincarboxílico	CCMSLIB0001 2335585	Ácido fenólico	EEF, EAF, EECasca
7	1,34	C16H18O 8	337.0925	337.0930	1.4	191, 173, 163, 119	Ácido 3-p-Coumaroilquinic o	CCMSLIB0001 2428458	Ácido fenólico	EAF
8	1,39	C12H22O 11	377.0847	377.0860	3.4	377, 341, 215, 179	Sucrose	CCMSLIB0001 2867704	Glicosídeo	EEF
9	1,73	C18H19NO 4	312.1234	312.1240	1.9	190, 178, 148, 135	feruloiltramina	CCMSLIB0001 2401151	Amida fenólica	EER
10	1,81	C18H26O 10	447.1509	447.1510	0.2	401, 269, 161, 113, 101	benzil-beta-primeverosídeo	CCMSLIB0001 2429421	Glicosídeo	EECaule
11	1,86	C9H6O4	177.0183	177.0190	3.9	177, 133, 121, 105	Dafnetina	CCMSLIB0000 5740211	Cumarina	EEF, EER
12	2,14	C45H38O 18	865.1952	865.1990	4.3	865, 739, 713, 695, 287	Trímero de procianidina T2	CCMSLIB0001 207 9550	Flavonoide	EACaule, EACasca

13	2,28	C33H40O20	755.2025	755.2040	1.9	300, 271, 255	Isômero de Mangaslin	CCMSLIB0001 2411855	Flavonoide glicosilado	EEF, EECasca
14	2,3	C33H40O20	755.2021	755.2040	2.5	300, 271, 255, 243	Isômero de Mangaslin	CCMSLIB0000 4706300	Flavonoide glicosilado	EEF, EAF, EECaule, EACaule, EEE, EAE, EECasca, EACasca
15	2,63	C28H24O16	615.0992	615.0990	0.3	301,178, 151	2'-O-galoilhiperina	CCMSLIB0001 2327320	Flavonoide glicosilado	EACaule
16	2,85	C21H20O12	463.0872	463.0877	1.0	463, 301	Isoquercitrina	CCMSLIB0001 2079506	Flavonoide glicosilado	EAE
17	2,96	C20H22O 6	357.1329	357.1340	3.0	151, 136, 121	Pinoresinol	CCMSLIB0001 1428781	Lignana	EACaule
18	3,26	C20H18O11	433.0769	433.0771	2.5	433, 300, 271, 255	Quercetina-3-D- xilósídeo	CCMSLIB0000 4706644	Flavonoide glicosilado	EEF, EAF, EECaule, EACaule, EECasca, EACasca
19	3,69	C20H18O10	417.0821	417.0830	2.1	417, 284	Juglalina	CCMSLIB0000 4718521	Flavonoide glicosilado	EAF
20	3,89	C17H17N O3	282.1131	282.1140	3.1	282, 162, 132,119,117	Paprazina	CCMSLIB0001 2291403	Piperazina	EER, EAR
21	4,01	C30H26O 13	593.1290	593.1300	1.6	285, 284, 255, 227, 145	Tilirosídeo	CCMSLIB0001 240 3989	Flavonoide	EAF
22	5,01	C15H10O 7	301.0349	301.0350	0.3	301, 178, 151, 121, 107	Quercetina	CCMSLIB0000 5747791	Flavonoide	EAF, EAR
23	5,55	C15H12O 5	271.0605	271.0610	1.8	119, 107	Naringenina	CCMSLIB0001 2079524	Flavonoide	EAF, EEF, EECaule, EER, EECasca
24	480	C15H10O6	285.0398	285.0410	4.2	285, 175, 151, 133, 132	Luteolina	CCMSLIB0001 0012027	Flavona	EEF, EAF, EER, EAR, EEE, EECasca
25	3.48	C21H20O11	447.0919	447.0930	2.4	255, 227, 211, 183	5,7-Di-hidroxi-2-(4- hidroxifenil)-3-[3,4,5-tri- hidroxi-6- (hidroximetil)oxan-2- il]oxicromeno-4-ona /	CCMSLIB0000 5747460	Flavonol	EEE

Legenda: TR: Tempo de Retenção, ppm: partes por milhão, ID: Identidade. EEF: extrato etanólico das folhas; EAF: extrato aquoso das folhas; EECaule: extrato etanólico do caule; EACaule: extrato aquoso do caule; EER: extrato etanólico da raiz; EEE: extrato etanólico da entrecasca; EAE: extrato aquoso da entrecasca; EECasca: extrato etanólico da casca; e EACasca: extrato aquoso da casca.

A Figura 1 mostra uma análise comparativa dos perfis moleculares de diferentes extratos e partes de *Byrsonima aerugo*, destacando as suas composições químicas distintas e a presença de potenciais compostos bioativos. A Análise de Componentes Principais (PCA) mostra um agrupamento bem definido entre EER e EAR, além de revelar a similaridade entre EEE e EAE. Os demais extratos mostraram a presença de compostos comuns, como pode ser visto no agrupamento formado no canto inferior esquerdo da figura, sem diferenças estatisticamente significativas. Além disso, a nítida separação entre os extratos etanólico e aquoso evidencia a significativa influência da escolha do solvente na composição dos metabólitos extraídos, enfatizando a relevância dos métodos de extração nas investigações fitoquímicas.

Figura 3 - Análise da similaridade química entre as partes da planta.



Legenda: Distribuição espacial entre os extratos de *B. Aerugo* ($p < 0,001$), analisados na Plataforma Digital MetaboAnalyst, demonstra significância estatística dos padrões de grupo é avaliada usando PERMANOVA. EEF: extrato etanólico das folhas; EAF: extrato aquoso das folhas; EECaule: extrato etanólico do caule; EACaule: extrato aquoso do caule; EER: extrato etanólico da raiz; EEE:

extratoetanólico da entrecasca; EAE: extrato aquoso da entrecasca; EECasca: extrato etanólico da casca; e EACasca: extrato aquoso da casca.

Fonte: MetaboAnalyst, 2025.

5.2 Antiviral

A atividade antiviral foi realizada por meio da avaliação da Concentração Efetiva dos extratos da planta em 50% das células (CE50), que avaliou o grau de proteção dos extratos frente aos vírus, a partir das maiores concentrações não citotóxicas para 50% das células (CC50), dos diferentes extratos que foram testados frente aos vírus Oropouche (OROV), Mayaro (MAYV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) conforme demonstrado na Tabela 2. Foram selecionados 9 de 10 extratos, visto que nos testes qualitativos, o Extrato Aquoso das Raízes (EAR) não apresentou atividade frente aos arbovírus analisados.

O teste de citotoxicidade permitiu a avaliação da concentração citotóxica (CC50), a qual é responsável pela determinação da quantidade necessária de uma substância para reduzir em 50% a viabilidade celular. O parâmetro analisado serve como base para o entendimento do potencial tóxico dos extratos investigados, sendo que a CC50 é inversamente proporcional à toxicidade, nos quais os valores elevados dessa concentração indicam menor toxicidade, enquanto valores baixos dessa indicam maior toxicidade do extrato.

a análise dos extratos da *Bysornima aerugo*, observou-se que o EEF apresentou uma CC50 >250 µg/mL, o que sugere uma citotoxicidade moderada em relação aos outros extratos. Por outro lado, os extratos EEE e EER apresentaram os menores valores para CC50, com valores de 150,77 µg/mL e 163,73 µg/mL, respectivamente, indicando uma maior citotoxicidade em comparação aos outros extratos analisados. Ademais, os extratos EECaule, EECasca e EACasca obtiveram valores de concentração >250 µg/mL, o que indica uma toxicidade moderada, enquanto os extratos EAF, EACaule e EAE mostraram valores de concentração >500 µg/mL, o que caracteriza uma baixa toxicidade. Conforme a Tabela 2, que detalha as concentrações citotóxicas dos extratos utilizados no estudo, destacando os extratos com maior e menor toxicidade, o que implica na análise dos dados a partir de uma visão antiviral.

Portanto, a análise dos dados demonstra que a toxicidade dos extratos pode ser determinada a partir da avaliação do CC50, evidenciando que os extratos EEE e

EER apresentam os maiores índices de citotoxicidade. Em contrapartida, os extratos EAF, EACaule e EAE apresentaram baixa toxicidade, o que pode ser relevante para a aplicação na atividade antiviral.

Tabela 2 - Valores das concentrações citotóxicas (CC₅₀) apresentadas pelos extratos.

Citotoxicidade	
Extrato	CC₅₀ (µg/mL)
EEF	259,81
EAF	>500
EECaule	>250
EACaule	>500
EER	163,73
EEE	150,77
EAR	--
EAE	>500
EECasca	>250
EACasca	>250

Legenda: EEF: extrato etanólico das folhas; EAF: extrato aquoso das folhas; EECaule: extrato etanólico do caule; EACaule: extrato aquoso do caule; EER: extrato etanólico da raiz; EEE: extrato etanólico da entrecasca; EAE: extrato aquoso da entrecasca; EECasca: extrato etanólico da casca; e EACasca: extrato aquoso da casca.

Fonte: dados da pesquisa, 2024.

A CE₅₀ indica a concentração de um determinado composto com capacidade de realizar 50% do efeito máximo desejado em um sistema biológico. Por meio dos valores de CC₅₀ e CE₅₀ dos compostos foi possível calcular o valor do índice de seletividade (IS). Seu cálculo é feito a partir da razão entre CC₅₀ e CE₅₀ respectivamente, conforme Tabela 3. Para avaliar a atividade de viabilidade celular frente aos vírus, foram utilizados três parâmetros: a concentração citotóxica para 50% das células (CC₅₀), a concentração efetiva para 50% das células (CE₅₀) e o Índice de Seletividade (IS). Com base nesses valores, pode-se calcular o índice de seletividade,

representado pela razão entre a CC50 e a CE50, que é fundamental para determinar a eficácia dos extratos analisados, frente a viabilidade celular observada, o IS avalia exclusivamente a relação entre a dose tóxica que afeta 50% das células e a dose capaz de proteger 50% das células da infecção viral, ou seja, boa eficácia e baixa toxicidade (FERRAZ et al., 2019).

Tabela 3 - Concentrações efetivas dos extratos para 50% de células infectadas e índice de seletividade dos extratos para os arbovírus descritos neste estudo (OROV, MAYV, CHIKV e ZIKV).

	Anti-OROV		Anti-MAYV		Anti-CHIKV		Anti-ZIKV	
Extract	CE ₅₀ (µg/mL)	IS	CE ₅₀ (µg/mL)	IS	CE ₅₀ (µg/mL)	IS	CE ₅₀ (µg/mL)	IS
EEF	90,18±0,74	2,88	53,87±17,73	4,82	72,12±21,47	3,60	66,09±3,74	3,93
EAF	155,94±8,97	3,21	54,53±1,53	9,17	60,40±0,26	8,28	103,90±5,22	4,81
EECaule	64,72±9,16	3,86	75,01±0,93	3,33	20,00±3,92	12,50	79,57±13,34	3,14
EACaule	184,33±15,40	2,71	65,29±7,12	7,66	126,05±28,05	3,97	72,65±10,85	6,88
EER	126,30±1,83	1,30	SA	--	80,71±1,40	2,03	51,77±13,96	3,16
EAR	SA	--	SA	--	SA	--	SA	--
EEE	29,09±4,40	5,18	45,30±9,34	3,33	47,74±19,09	3,16	45,25±3,75	3,33
EAE	45,66±8,58	10,95	54,31±9,33	9,21	26,63±17,32	18,78	66,19±9,58	7,55
EECasca	105,30±4,76	2,37	74,00±6,02	3,38	96,09±13,23	2,60	64,28±10,15	3,89
EACasca	144,94±7,73	1,72	48,77±26,04	5,13	149,63±38,93	1,67	75,34±4,63	3,32

Legenda: SA: Sem atividade.

Fonte: dados da pesquisa, 2024.

A análise dos resultados indicou que nove dos dez extratos estudados apresentaram atividade antiviral contra ao menos um dos quatro arbovírus analisados. Contudo, o Extrato Etanólico da Raíz (EER) foi o único entre todos que não apresentou atividade frente ao MAYV, apresentando IS e CE50 nulos. De forma geral, os extratos aquosos demonstraram ser mais efetivos na atividade antiviral quando relacionados aos extratos etanólicos.

O extrato EAF revelou atividade antiviral significativa contra MAYV, com CE50 de 54,53 µg/mL, e contra CHIKV, com CE50 de 60,40 µg/mL, o que resultou

em IS de 9,17 e 8,28, respectivamente. Em relação aos demais arbovírus, esse extrato apresentou baixa eficácia, indicando que, para alcançar uma atividade antiviral consideravelmente boa, seria necessária a utilização de concentrações mais elevadas. Partindo para o extrato EACaule, pode-se observar que a atividade antiviral contra MAYV apresentou uma CE50 de 65,29 µg/mL, e contra o ZIKV CE50 de 72,65 µg/mL, o que resultou em um IS de 7,66 e 6,88, respectivamente. Contudo, mesmo que tenha apresentado atividade contra vírus, a eficácia desse extrato, ao compará-la aos demais que obtiveram dados relevantes, menos significativa. Por fim, o extrato EACasca revelou resultados abaixo dos esperados, já que para atingir uma boa atividade antiviral deveria utilizar altas concentrações, o que pode levar a riscos de toxicidade.

Além disso, ao analisar os extratos etanólicos, foi possível observar que entre eles, somente o EECaule obteve resultados relevantes na atividade antiviral por apresentar uma CE50 de 20 µg/mL, um IS de 12,50 contra o CHIKV, o segundo maior índice observado entre todos os extratos analisados, no entanto, para os outros arbovírus testados. Os demais extratos etanólicos (EEF, EEA, EECasca e EER) demonstraram IS abaixo de 10, dados com relevância abaixo do considerado no estudo, conforme os dados de Indrayanto, Putra, e Suhud (2020).

Por fim, o extrato EAE destacou-se como o mais promissor entre todos os extratos avaliados, pois demonstrou atividade de proteção celular frente a todos os arbovírus testados e apresentou valores relevantes de IS. Contra o OROV, o extrato apresentou CE50 média de 45,66 µg/mL, com IS de 10,95; contra MAYV, a CE50 54,31 µg/mL, IS de 9,21; contra o CHIKV, a concentração média foi de 26,63 µg/mL, IS de 18,79; e contra o ZIKV, obteve-se uma CE50 de 66,19 µg/mL, IS de 7,55. Valores significativamente altos quando há a comparação com os demais extratos, o que demonstra uma atividade de proteção celular frente aos vírus testados.

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que os extratos de *Byrsonima aerugo* possuem um perfil fitoquímico rico em flavonoides e outros compostos bioativos, corroborando estudos anteriores sobre o gênero *Byrsonima*.

A presença predominante desses metabólitos secundários sugere um grande potencial farmacológico, especialmente no contexto da terapia antiviral. Trabalhos prévios indicam que flavonoides, como a naringenina, presente nos EEF, EAF, EECaule, EER e EACasca, podem interferir diretamente nos mecanismos de infecção viral, inibindo etapas essenciais do ciclo de multiplicação dos arbovírus (Pohjala et al., 2011).

Já a isoquercitrina, presente no EAE, é relatada na literatura com uma atividade notável na inibição da replicação do vírus Zika, conforme demonstrado em estudos *in vitro*. Esses resultados sugerem que a isoquercitrina possui um potencial promissor como agente antiviral contra o vírus Zika, devido à sua eficácia na redução da carga viral em células infectadas. (AGRAWAL, BLUNDEN e JACOB, 2023). A identificação desse e de outros compostos flavonoides nos extratos reforça a relevância dos achados.

Ao analisar os resultados da atividade antiviral, observou-se que os extratos aquosos, em particular o extrato aquoso da entrecasca (EAE), demonstraram os melhores desempenhos, apresentando altos índices de seletividade (IS), especialmente contra o CHIKV (IS = 18,78) e o OROV (IS = 10,95). Esses valores são significativamente superiores aos observados para outros extratos e indicam uma relação favorável entre a efetividade antiviral e a baixa toxicidade celular. O extrato etanólico do caule (EECaule) também se destacou, particularmente contra CHIKV (IS= 12,5), sugerindo um forte potencial terapêutico. Comparando-se com estudos anteriores, esses valores de IS são superiores aos de outros compostos naturais investigados para a atividade antiviral, destacando a relevância farmacológica da espécie estudada (Ferraz et al., 2019).

Os mecanismos de ação dos compostos presentes nos extratos podem incluir a inibição da entrada viral nas células hospedeiras, o bloqueio da replicação do RNA viral e a interferência na síntese de proteínas virais. Flavonoides como a naringenina e a quercetina foram previamente descritos como agentes antivirais promissores devido à sua capacidade de modular proteínas virais essenciais, como as proteases e polimerases, além de fortalecerem respostas imunes celulares (Ahmad et al., 2015; Badshah et al., 2021). A presença desses compostos nos extratos reforça a hipótese de que a atividade antiviral observada pode estar associada a esses mecanismos de ação.

Outro ponto relevante é a comparação entre os solventes de extração utilizados. Os extratos aquosos mostraram maior efetividade antiviral do que os extratos etanólicos, o que pode estar relacionado à solubilidade e biodisponibilidade diferencial dos compostos bioativos. Esse achado é consistente com outros estudos que indicam que determinados flavonoides e compostos fenólicos são melhor extraídos em solventes polares, resultando em um perfil fitoquímico mais favorável para interações biológicas (Penã-Morán et al., 2016).

A anotação do glicosídeo benzil beta-primeverosídeo no extrato etanólico do caule de *B. aerugo* é de grande relevância, visto que, até o momento, o composto é relatado principalmente nas folhas de *Camellia sinensis*, onde atua como precursor de compostos aromáticos, como o benzaldeído, que contribuem para o aroma característico do chá (Zhang et al., 2025). Além disso, é válido ressaltar que, em uma pesquisa mais aprofundada, ambas pertencem a famílias que não estão próximas filogeneticamente (Byng et al., 2016), o que levanta questões importantes sobre a diversidade química de *B. aerugo*.

É notável a presença de compostos específicos nos extratos das raízes, como é o caso da dafnetina (EER e EAR), um composto conhecido como antitumoral (JIMÉNEZ-OROZCO et al., 2021) e a paprazina, um composto comum às piperáceas (gênero *Piper* spp.), compostos conhecidos por sua atividade anti-helmíntica (SILVA, 2009), sendo esses, relatados pela primeira vez no gênero *Byrsonima* spp. Evidenciando diversidade química da espécie

Apesar dos resultados promissores, algumas limitações devem ser consideradas. Primeiramente, os ensaios foram realizados apenas in vitro, e estudos complementares in vivo são necessários para validar a segurança e eficácia dos extratos em modelos animais. Ademais, a identificação estrutural detalhada dos flavonoides e outros compostos bioativos deve ser aprofundada por meio de técnicas como Ressonância Magnética Nuclear (RMN), a fim de compreender melhor sua interação com alvos virais específicos.

Em termos de aplicações farmacêuticas, os extratos com alto índice de seletividade podem ser explorados no desenvolvimento de formulações antivirais, como fitoterápicos ou novos princípios ativos para medicamentos sintéticos. Ensaios futuros podem incluir avaliação da biodisponibilidade dos compostos, possíveis interações farmacocinéticas e testes clínicos preliminares.

Em síntese, os achados deste estudo reforçam o potencial da *Byrsonima aerugo* como uma fonte promissora de compostos antivirais naturais, oferecendo novas perspectivas para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras contra arbovírus. O aprofundamento nas pesquisas, incluindo testes in vivo e investigações estruturais dos compostos bioativos, é essencial para a validação definitiva do seu uso terapêutico.

7 CONCLUSÃO

Diante do exposto, constata-se que a espécie estudada apresenta um potencial antiviral considerável, o que pode posicioná-la como uma alternativa promissora aos tratamentos atualmente disponíveis. Os resultados obtidos, de relevância significativa, evidenciam não apenas uma baixa citotoxicidade, mas também uma ampla janela terapêutica, aspectos que são cruciais para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. Esse perfil favorável sugere que o extrato da espécie em questão possui uma margem de segurança confiável, o que torna sua utilização potencialmente viável, tanto para o tratamento de infecções virais quanto para a minimização de efeitos adversos indesejáveis. Tais características tornam a espécie um candidato promissor para investigações mais aprofundadas e para futuras aplicações farmacológicas, representando uma contribuição relevante para a área de virologia e farmacoterapia.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; TSAI, S. M.; PARK, Y. K. Transformações enzimáticas de flavonoides. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 25, n. 1, p. 61-76, 2007. Disponível em: <<https://revistas.ufpr.br/alimentos/article/download/8395/5844/24470>>.
- AGRAWAL, P.K.; BLUNDEN, G.; JACOB, C. Antiviral significance of isoquercetin (quercetin-3-O-glucoside) with special reference to its anti-coronaviral potential. *Natural Product Communications*, [s.l.], v. 19, n. 1, p. 1-9, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X231219560>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/home/npx>. Acesso em: 14 mar 2025.
- AHMAD, A.; KALEEM, M.; AHMED, Z.; SHAFIQ, H. Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections- A review. *Food Research International*, v. 77, p. 221-235, 2015. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.06.021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.021>>. Acesso em: 2015.
- ANDRADE, B. S.; MATIAS, R.; CORRÊA, B. O.; OLIVEIRA, A. K. M.; GUIDOLIN, D.G. F.; ROEL, A. R. Phytochemistry, antioxidant potential and antifungal of *Byrsonima crassifolia* on soil phytopathogen control. *Brazilian Journal of Biology*, v. 78, n. 1, p. 140-146, 2018. DOI: 10.1590/1519-6984.166532. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1519-6984.166532>>. Acesso em: 7 mar. 2025.
- AZEVEDO, R. S. S.; SILVA, E. V. P.; CARVALHO, V. L.; RODRIGUES, S. G.; NUNES NETO, J. P.; MONTEIRO, H. A. O.; PEIXOTO, V. S.; CHIANG, J. O.; NUNES, M. R. T.; VASCONCELOS, P. F. C. Mayaro fever virus, Brazilian amazon. *Emerging Infectious Diseases*, v. 15, n. 11, 2009. DOI: 10.3201/eid1511.090461. Disponível em: <<https://doi.org/10.3201/eid1511.090461>>.
- BADSHAH, S. L.; FAISAL, S.; MUHAMMAD, A.; POULSON, B. G.; EMWAS, A. H.; JAREMKO, M. Antiviral activities of flavonoids. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 140, p. 111596, ago. 2021. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111596. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34126315>>. Acesso em: 11 jun. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Arboviroses. S.d. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/arboviroses>. Acesso em: 6 mar. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico, volume 55, n. 11. Brasília: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-11.pdf>>. Acesso em: 06 mar. 2025.
- BYNG, J. W. et al. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, p. 1-20, 2016.
- CAMACAM, B.L.M.; DE OMENA MESSIAS, C.M.B. Potencial alimentar de frutas e plantas da caatinga: revisão integrativa. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 9, p. e39911931997-e39911931997, 2022.
- CECÍLIO, A.B. et al. Screening of Brazilian medicinal plants for antiviral activity against rotavirus. *Journal of Ethnopharmacology*. Volume 141, Issue 3, 2012, Pages 975-981, ISSN 0378-8741. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.031>.
- CHONG, H. Y.; LEOW, C. Y.; BAKAR, A. M. A.; LEOW, C. H. Flavivirus Infection-A Review of Immunopathogenesis, Immunological Response, and Immunodiagnosis. *Virus Research*, v. 197770, 2019. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.197770. Disponível

em: <<https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197770>>. Acesso em: 2019.

DE ARAÚJO, M.E.M.B. Biossíntese de novos derivados acilados de flavonoides e avaliação in vitro de sua bioatividade. 2016. 117p. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) - Universidade São Francisco, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Bragança Paulista/SP, 2016.

DE LA CABEZA FERNÁNDEZ, M. et al. Neuropharmacological Effects in Animal Models and HPLC-Phytochemical Profiling of *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth Bark Extracts. *Molecules* (Basel, Switzerland), 28(2), 764, 2023. <https://doi.org/10.3390/molecules28020764>

DE SOUZA, William M. et al. Chikungunya: a decade of burden in the Americas. *The Lancet Regional Health – Americas*, v. 30, p. 100673, 2024.

DOMINGOS, G. M. O. de C.. Avaliação dos mecanismos de ação antiviral da silimarina contra o vírus Mayaro em células Vero. 2024. 38 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Instituto de Ciências Exatas e Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2024. Disponível em:

<https://monografias.ufop.br/bitstream/35400000/7186/4/MONOGRRAFIA_Avalia%C3%A7%C3%A3oMecanismoA%C3%A7%C3%A3o.pdf>. Acesso em: 6 mar. 2025.

DORNAS, W. C.; OLIVEIRA, T. T. D.; RODRIGUES, R. G. D.; SANTOS, A. F. D.; NAGEM, T. J. Flavonoides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. *Revista Ciência Agrícola Aplicação Básica*, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2009.

FERRAZ, A. C.; MORAES, T. F. S.; NIZER, W. S. D. C.; SANTOS, M. D.; TÓTOLA, A. H.; FERREIRA, J. M. S.; VIEIRA-FILHO, S. A.; RODRIGUES, V. G.; DUARTE, L. P.; DE BRITO MAGALHÃES, C. L.; DE MAGALHÃES, J. C. Virucidal activity of proanthocyanidin against Mayaro virus. *Antiviral Research*, v. 168, p. 76-81, 2019. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.05.008. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.05.008>>.

FLAMBÓ, D.F.A.L.P. Atividades biológicas dos flavonoides: Atividade antimicrobiana. 2013. 43p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto/Ponte de Lima, 2013.

FIOCRUZ. Fiocruz contribui em estudo sobre transmissão vertical de Oropouche. Agência Fiocruz, 2024. Disponível em: <<https://agencia.fiocruz.br/fiocruz-contribui-em-estudo-sobre-transmissao-vertical-de-oropouche>>. Acesso em: 14 mar. 2025.

FRANCENER, A. Et al., Brazil: *Byrsonima*. Chicago: The Field Museum, 2019. Disponível em: <https://fieldguides.fieldmuseum.org/sites/default/files/rapid-color-guides-pdfs/806_brazil_byrsonima.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2025.

FRANCENER, A. *Byrsonima* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. (<https://floradobrasil2020.jbrj.gov.br/FB84708>).

GUILHON-SIMPLICIO, F.; PEREIRA, M. de M. Aspectos químicos e farmacológicos de *Byrsonima* (Malpighiaceae). *Química Nova*, v. 34, n. 6, p. 1032-1041, 2011. DOI: 10.1590/S0100-40422011000600021. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000600021>>. Acesso em: 25 out 2024.

INDRAYANTO, G.; PUTRA, G.S.; SUHUD, F. Validation of in-vitro bioassay methods: Application in herbal drug research. *Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology*, [s.l.], v.46, p. 1-29, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.podrm.2020.07.005>. Disponível em:

<https://www.elsevier.com>. Acesso em: 14 mar 2025.

JIMÉNEZ-OROZCO, F. Alejandro, et al. In vitro anti-proliferative effect and in vivo antitumor action of daphnetin in different tumor cells. *Cirugía y cirujanos, México*, v. 88, n. 6, p. 765-771, 2020.

- LANI, R.; HASSANDARVISH, P.; SHU, M. H.; PHOON, W. H.; CHU, J. J.; HIGGS, S.; VANLANDINGHAM, D.; ABU BAKAR, S.; ZANDI, K. Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antiviral Research*, v. 133, p. 50-61, set. 2016. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.07.009
- LIMA, Z. P. et al. *Byrsonima fagifolia*: An integrative study to validate the gastroprotective, healing, antidiarrheal, antimicrobial and mutagenic action. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 120, n. 2, p. 149-160, 2008. DOI: 10.1016/j.jep.2008.07.047. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.047>>.
- MELO, C. M. C. da S.; ARAUJO, E. L. de L.; GONTIJO, D. T.; MONTEIRO, E. M. L. M.; SARINHO, S. W.; MELO, C. M. C. da S.; GRIZ, C. de A. S.; BELIAN, R. B. Validation of a gamified educational technology for arbovirus prevention in high school. *Texto & Contexto - Enfermagem*, v. 33, p. e20240099, 2024. DOI: 10.1590/1980-265X-TCE-2024-0099en. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1980-265X-TCE-2024-0099en>>. Acesso em: 2024.
- MERCÊS, Z. da C.; SANTOS, J. C. das M. Compostos bioativos - flavonoides: efeitos metabólicos da dietoterapia no estresse oxidativo de pessoas acometidas com doença de Huntington. *Revista Arquivos Científicos (IMMES)*, Macapá, AP, ano 2022, v. 5, n. 2, p. 1-12. ISSN 2595-4407.
- MORAES, G. V.; JORGE, G. M.; GONZAGA, R. V.; DOS SANTOS, D. A. Potencial antioxidante dos flavonoides e aplicações terapêuticas. *Research, Society and Development*, v. 11, n. 14, p. e238111436225, 2022.
- SILVA, Laís Rodrigues da; MARTINS, Lívia do Vale; CALOU, Iana Bantim Felício; DEUS, Maria do Socorro Meireles de; FERREIRA, Paulo Miche Pinheiro; PERON, Ana Paula. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. *Acta Toxicológica Argentina*, v. 23, n. 1, p. 8-15, 2015. Disponível em: <https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432015000100004>. Acesso em: 14 mar. 2025>
- MOREIRA, E. M. F.; LOPES, P. H. S.; SOUSA, M. N. A. Mapeamento de publicações científicas sobre flavonoides e seu potencial terapêutico. *Revista JMHP*, v. 7, n. 1, p. 62-71, 2022. Disponível em: <<https://jmhp.unifip.edu.br/index.php/jmhp/article/download/215/82/>>.
- MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6606682/>>. Acesso em: 16 dez. 1983.
- MULLARD, A. FDA approves first chikungunya vaccine. *Nature reviews. Drug Discovery*, 2024. <https://doi.org/10.1038/d41573-023-00201-x>
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Zika. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/zika>. Acesso em: 06 mar. 2025.
- PENÁ-MORÁN, O. A.; VILLARREAL, M. L.; ÁLVAREZ-BERBER, L.; MENESES-ACOSTA, A.; RODRÍGUEZ-LOP, V. Cytotoxicity, post-treatment recovery, and selectivity analysis of naturally occurring podophyllotoxins from *Bursera fagaroides* var. *fagaroides* on breast cancer cell lines. *Molecules*
- POHJALA, L.; UTT, A.; VARJAK, M.; LULLA, A.; MERITS, A.; AHOLA, T.; et al. Inhibitors of Alphavirus Entry and Replication Identified with a Stable Chikungunya Replicon Cell Line and Virus-Based Assays. *PLoS ONE*, v. 6, n. 12, p. e28923, 2011. DOI: 10.1371/journal.pone.0028923. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028923>>.
- RODRIGUES, A. S. R. Achados clínicos de neuroimagem e videoencefalograma e a relação com a funcionalidade de crianças com síndrome congênita pelo vírus Zika.

2019. 153 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, 2019.
- ROMERO-ALVAREZ, D.; ESCOBAR, L. E. Oropouche fever, an emergent disease from the Americas. *Microbes and Infection*, v. 20, n. 3, p. 135-146, mar. 2018. DOI: 10.1016/j.micinf.2017.11.013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29247710>>. Acesso em: 14 dez. 2017.
- ROYAL BOTANICAL GARDEN, Kew, Catálogo do Herbário. *Byrsonima* Rich. Ex Kunth. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:30006786-2>. Acesso em 9 mar 2023.
- SANTOS, S. A. K. Vírus Mayaro: Doença Infeciosa da Região Amazônica. Trabalho de Conclusão de Curso para a obtenção do Grau em Farmácia apresentado à Faculdade de Educação e Meio Ambiente, 2020.
- SILVA, M.de F. S. da. Estudo sobre os efeitos da aplicação de extratos de plantas medicinais no tratamento da leishmaniose. 2009. 100 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2009. Disponível em: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/2356>. Acesso em: 14 mar. 2025.
- SILVA-CASO, W.; AGUILAR-LUIS, M. A.; PALOMARES-REYES, C.; MAZULIS, F.; WEILG, C.; DEL VALLE, L. J.; et al. Primeiro surto de febre Oropouche relatado em uma região ocidental não endêmica da Amazônia peruana: diagnóstico molecular e características clínicas. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 83, p. 139-144, 2019. DOI: 10.1016/j.ijid.2019.04.011.
- SOUZA-MELO, W. O.; FIGUEIREDO-JÚNIOR, E. C.; FREIRE, J. C. P.; COSTA, B. P.; LIRA, A. B.; FREIRES, I. A.; CAVALCANTI, Y. W.; LOPES, W. S.; TAVARES, J. F.; PESSÔA, H. L. F.; PEREIRA, J. V. Phytochemistry, antifungal and antioxidant activity, and cytotoxicity of *Byrsonima gardneriana* (A. Juss) extract. *Archives of Oral Biology*, v. 123, p. 104994, 2021. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2020.104994.
- SCHWARTZ, D. A.; DASHRAATH, P.; BAUD, D. Oropouche Virus (OROV) in pregnancy: an emerging cause of placental and fetal infection associated with stillbirth and microcephaly following vertical transmission. *Viruses*, v. 16, n. 9, p. 1435, 9 set. 2024. DOI: 10.3390/v16091435. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4915/16/9/1435>. Acesso em: 14 mar. 2025.
- TORRES, J. R.; RUSSELL, K. L.; VASQUEZ, C.; BARRERA, R.; TESH, R. B.; SALAS, R.; WATTS, D. M. Family cluster of Mayaro fever, Venezuela. *Emerging Infectious Diseases*, v. 10, n. 7, 2004. DOI: 10.3201/eid1007.030860. Disponível em: <<https://doi.org/10.3201/eid1007.030860>>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Chikungunya. www.who.int, 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>>. Acesso em: dez. 2021.
- ZHANG, R.; et al. Selenium improves the flavor-promoting substances of summer tea (*Camellia sinensis*) by altering the expression of flavonoid and amino acids metabolic genes. *Horticulture Advances*, p. 1-15, 2025.
- ZHANG, Y.; LIU, X.; WU, Z.; FENG, S.; LU, K.; ZHU, W.; SUN, H.; NIU, G. Oropouche virus: A neglected global arboviral threat. *Virus Research*, v. 341, p. 199318, mar. 2024. DOI: 10.1016/j.virusres.2024.199318. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38224842>>. Acesso em: 16 jan. 2024.