

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 18/07/2027

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

PÂMELA JÓYCE PREVIDELLI DA CONCEIÇÃO

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO DE MOLÉCULAS NATURAIS E SINTÉTICAS
COMO ANTIVIRAIS CONTRA O VÍRUS MAYARO (MAYV)**

São José do Rio Preto

2025

PÂMELA JÓYCE PREVIDELLI DA CONCEIÇÃO

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO DE MOLÉCULAS NATURAIS E SINTÉTICAS
COMO ANTIVIRAIS CONTRA O VÍRUS MAYARO (MAYV)**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de
Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio
Preto, para obtenção do título de Doutora em
Microbiologia.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marília de Freitas Calmon

Coorientadoras: Prof^ª. Dr^ª. Paula Rahal e Prof^ª. Dr^ª.
Cíntia Bittar Oliva

São José do Rio Preto

2025

D118a

Conceição, Pâmela Jóyce Previdelli da

Análise in vitro da ação de moléculas naturais e sintéticas como antivirais contra o vírus Mayaro (MAYV) / Pâmela Jóyce Previdelli da Conceição. -- São José do Rio Preto, 2025

121 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Marília de Freitas Calmon

1. Microbiologia. 2. Virologia. 3. Arbovírus. 4. Agentes antivirais. 5. Cultura de células. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp.

Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Em virtude dos arbovírus serem vírus emergentes e do problema de saúde pública causado desde o seu surgimento e circulação no Brasil, é evidente que o conhecimento a respeito da biologia viral e do ciclo de replicação desses vírus resulta em uma resposta eficiente na produção de compostos antivirais. O projeto possui grande relevância e está de acordo com os 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável para a Agenda 2030 no Brasil. O projeto está diretamente relacionado com os seguintes objetivos: 3 – Boa saúde e bem-estar; 4 – educação de qualidade; 8 – emprego digno e crescimento econômico; 9 – indústria, inovação e infraestrutura; 15 – vida sobre a terra e 17 – parcerias em prol das metas.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

Because arboviruses are emerging viruses and the public health problem they have caused since their emergence and circulation in Brazil, it is clear that knowledge about viral biology and the replication cycle of these viruses results in an efficient response in the production of antiviral compounds. The project is highly relevant and aligns with the 17 Sustainable Development Goals for the 2030 Agenda in Brazil and is valued by UNESP's Strategic Plan for Internationalization. The project is directly related to the following goals: 3 – Good health and well-being; 4 – Quality education; 8 – Decent work and economic growth; 9 – Industry, innovation, and infrastructure; 15 – Life on land; and 17 – Partnerships for the goals.

PÂMELA JÓYCE PREVIDELLI DA CONCEIÇÃO

**ANÁLISE *IN VITRO* DA AÇÃO DE MOLÉCULAS NATURAIS E SINTÉTICAS
COMO ANTIVIRAIS CONTRA O VÍRUS MAYARO (MAYV)**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Câmpus de São José do Rio Preto, para obtenção do título de Doutora em microbiologia.

Data da defesa: 18 de julho de 2025

Comissão Examinadora:

Prof^ª. Dr^ª. Marília de Freitas Calmon
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Karina Alves de Toledo
UNESP – Câmpus de Assis

Prof. Dr. Bruno Moreira Carneiro
Universidade Federal de Rondonópolis - UFR

Prof. Dr. Guilherme Rodrigues Fernandes Campos
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto - FAMERP

DEDICATÓRIA

*A Deus, aos meus familiares e a todos que me incentivaram desde o princípio,
sem vocês eu nada seria.*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por ter me dado saúde e vitalidade para viver com plenitude.

Ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP/IBILCE) por ter cedido toda sua estrutura, tornando possível a realização do projeto e pelo corpo docente extremamente qualificado.

À minha orientadora Profa. Dra. Marília de Freitas Calmon, por todos os ensinamentos, pela confiança no meu trabalho, pela paciência e por todas as oportunidades que sempre me proporcionou.

Às minhas coorientadoras Profa. Dra. Paula Rahal e Profa. Dra. Cintia Bittar por todos os ensinamentos, por terem me dado a oportunidade de fazer parte de sua equipe e por terem depositado confiança no meu trabalho.

Ao nosso colaborador Prof. Dr. Flávio da Silva Emery e sua equipe, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, por terem cedido seus compostos para realização desse trabalho.

À nossa colaboradora Profa. Dra. Ana Carolina Gomes Jardim e sua equipe, da Universidade Federal de Uberlândia, por terem cedido o vírus usado no estudo.

Ao prof. Dr. Bo Zhang e sua equipe, da Universidade de Huhan, China, por ter cedido o plasmídeo de Mayaro.

Ao nosso colaborador Prof. Dr. José González-Santamaría e sua equipe, do Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, Panamá, pelas análises de Western blotting.

À Profa. Dra. Brenda Konigheim e sua equipe, da Universidade Nacional de Córdoba, pela recepção, pelos conhecimentos compartilhados e por terem cedido seu laboratório para realização do meu doutorado sanduíche.

À banca examinadora por terem aceitado meu convite para participar da banca.

Aos meus familiares, Natalie, Célia, Silvio, Paulo, Lu, Kever, Layra e Nicolas que tornam meus dias mais felizes e iluminados, que sempre me apoiaram e me incentivaram a não desistir dos meus sonhos, sempre compreendendo minha ausência em alguns momentos para realização do meu trabalho.

Aos meus amados avós, que na simplicidade, sempre me ensinaram tudo o que podiam e por terem me dado todo o amor do mundo.

Às minhas queridas amigas Dayla, Gabi, Tamara e Marilê pelos momentos de alegria, pela amizade, pelos maravilhosos ensinamentos e por terem feito parte do meu amadurecimento, tanto profissional, como pessoal.

Aos meus amigos do laboratório, por todos os ensinamentos, por sempre estarem dispostos a ajudar no que fosse preciso, que foram amigos e parceiros em todos os momentos, sejam eles profissionais ou pessoais, bons ou ruins.

A todos os meus familiares e amigos, sou muito grata por tudo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

“Todas as vitórias ocultam uma abdicação. ”
(SIMONE DE BEAUVOIR, 1958, p. 243)

RESUMO

O vírus Mayaro (MAYV) é um arbovírus pertencente à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*. A infecção envolvendo o MAYV é marcada por sintomas como febre alta, cefaléia, mialgia, artralgia e inchaço nas articulações, podendo evoluir para artrite crônica e causar complicações neurológicas. Atualmente não existem medicamentos licenciados contra o MAYV, sendo necessária a busca por compostos antivirais eficazes. Nessa linha, o uso de compostos naturais é de grande valia, pois diversos estudos já mostraram seu potencial terapêutico. Com isso, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antiviral do polifenol (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG) e das naftoquinonas naturais (QHM-001 – lapachol) e sintéticas (QHM-0011, QHM0020, QHM-0110) contra MAYV. Para tal, foram utilizadas diferentes concentrações dos compostos para determinar a máxima concentração não-tóxica, pelo método de MTT, em células VERO E6 e BHK-21 por 24 horas. Após, foi realizado um ensaio de triagem para avaliar a atividade dos compostos e de dose dependência. Ademais, foi realizado o ensaio de tempo de adição para discriminar quais etapas do ciclo replicativo o composto poderia estar agindo. A partir dos resultados obtidos para o MAYV, realizamos o ensaio de tempo de adição para o CHIKV para comprovar o efeito das naftoquinonas sobre o ciclo replicativo de vírus do gênero *Alphavirus*. E por fim, realizamos análises de Western blotting e Docking molecular para avaliar a expressão de proteínas virais na presença dos compostos e associar a interação dos compostos com determinadas proteínas virais, respectivamente. No ensaio de triagem, O EGCG apresentou percentual de inibição de 90,99% em células BHK-21 e 88,27% em células VERO E6. Observou-se uma taxa de 49,14 % de inibição em BHK-21 e 99,29% em VERO E6 para QHM0001, para QHM0011 obteve-se um percentual de 94,66% e 77,08%, para QHM0020 obteve-se 99,23% e 87,35% e por fim, para QHM0110 obteve-se 88,09% e 94,14% em BHK-21 e VERO E6, respectivamente. Os compostos com maior índice de seletividade (IS) foram o EGCG, com 13.26 em BHK-21 e 5.85 em VERO E6 e o composto QHM0011 com 2.49 in BHK-21 e 26.70 em VERO E6. A partir do ensaio de tempo de adição, vários dos compostos testados demonstraram efeito inibitório nas etapas de entrada e pós-entrada, como replicação viral, montagem e liberação. As análises de bioinformática e western blotting também mostram interação dos compostos com as principais proteínas virais (estruturais e não estruturais). Conclui-se que todos os compostos testados possuem efeito inibitório contra a infecção por MAYV. Sendo assim, mais estudos precisam ser realizados para determinar os mecanismos de ação desses compostos, mas os resultados apresentados os mostram como importantes candidatos a antivirais.

Palavras-chave: mayaro vírus; MAYV; antiviral; EGCG; naftoquinonas.

ABSTRACT

Mayaro virus (MAYV) is an arbovirus belonging to the *Togaviridae* family, genus *Alphavirus*. Infection involving MAYV is marked by symptoms such as high fever, headache, myalgia, arthralgia and joint swelling which can develop into chronic arthritis and cause neurological complications. There are no licensed drugs against MAYV, requiring the search for effective antiviral compounds. Therefore, the use of natural compounds is of great value, as several studies have already shown their therapeutic potential. Thus, this study aimed to evaluate the antiviral potential of polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and natural (QHM-001 – lapachol) and synthetic (QHM-0011, QHM0020, QHM-011) naphthoquinones against MAYV infection. For this, different concentrations of compounds were used to determine the maximum non-toxic concentration, by the MTT method, in VERO E6 and BHK-21 cells for 24 hours. Afterwards, a screening test was performed to evaluate the activity of the compounds and their dose dependence. Furthermore, the time-of-addition test was performed to discriminate which stages of the replication cycle the compound could be acting on. Based on the results obtained for MAYV, we performed a time-of-addition assay for CHIKV to verify the effect of naphthoquinones on the replication cycle of viruses in the *Alphavirus* genus. Finally, we performed Western blotting and molecular docking analyses to evaluate the expression of viral proteins in the presence of the compounds and associate the interaction of the compounds with certain viral proteins, respectively. In the screening assay, the EGCG showed a percentage of inhibition of 90.99% in BHK-21 cells and 88.27% in VERO E6 cells. An inhibition rate of 49.14% was observed in BHK-21 and 99.29% in VERO E6 for QHM0001, for QHM0011 a percentage of 94.66% and 77.08% was obtained, for QHM0020 it was obtained 99.23% and 87.35%, for QHM0110 we obtained 88.09% and 94.14% and, finally, for QHM0230 we obtained a percentage of 40.66% and 65.93%, in BHK-21 and VERO E6, respectively. The compounds with the highest selectivity index (SI) were EGCG, with 13.26 in BHK-21 and 5.85 in VERO E6, and compound QHM0011, with 2.49 in BHK-21 and 26.70 in VERO E6. From the time-of-addition assay, several of the tested compounds demonstrated inhibitory effect on entry and post-entry steps such as viral replication, assembly and release. Bioinformatics and western blotting analyses also show interaction of the compounds with the main viral proteins (structural and non-structural). Therefore, more studies need to be carried out to determine the mechanisms of action of these compounds, but the presented results show them as important candidates for antivirals.

Keywords: mayaro virus; MAYV; antiviral; EGCG; naphthoquinones.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura esquemática do genoma e do vírion MAYV

Figura 2. Esquema do ciclo de replicação do MAYV

Figura 3. Representação dos principais efeitos farmacológicos dos componentes bioativos da *Camellia sinensis*.

Figura 4. Estrutura química das quatro principais catequinas do chá verde.

Figura 5. Estruturas de naftoquinonas abundantemente presentes na natureza.

Artigo científico I

Figure 1. Fórmula estrutural do epigallocatequina galato (EGCG) (Structural formula of (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG))

Figure 2. Efeito inibitório do EGCG no MAYV (Inhibitory effect of EGCG on MAYV)

Figure 3. Efeito virucida (Virucidal effect)

Figure 4. Efeito do EGCG no pré-tratamento, entrada e estágios pós-entrada do ciclo de replicação do MAYV-*nanoluc* (Effect of EGCG on pretreatment, entry and post-entry stages of the MAYV-*nanoluc* replication cycle)

Figure 5. EGCG modula negativamente a expressão das proteína E1 e nsP1 de MAYV (EGCG downmodulates the expression of MAYV E1 and nsP1 proteins)

Figure 6. Proteína do capsídeo de MAYV ancorada com o EGCG (Capsid protein from MAYV docked with EGCG)

Figure 7. Proteína E2 de MAYV ancorada com o EGCG (E2 protein from MAYV docked with EGCG)

Fig. S1 – Efeito citotóxico dos compostos (Cytotoxic effect of compounds)

Fig. S2 – Proteína E1 de MAYV ancorada com o EGCG (E1 protein from MAYV docked with EGCG)

Artigo científico II

Figure 1. Estrutura do lapachol e seus derivados sintéticos (Structure of lapachol and its synthetic derivatives)

Figure 2. Os compostos QHM0001, QHM0011, QHM0020 e QHM0110 inibem a infecção pelo CMV-MAYV-*nanoluc* infection. (The compounds QHM0001, QHM0011, QHM0020 and QHM0110 inhibit CMV-MAYV-*nanoluc* infection)

Figure 3. Atividade virucida dos compostos (Virucidal activity of the compounds)

Figure 4. Atividade antiviral dos compostos QHM0001, 0011, 0020, 0110 em diferentes estágios do ciclo de replicação do CMV-MAYV-*nanoluc*. (Antiviral activity of the compounds QHM0001, 0011, 0020, 0110 on different stages of replication cycle of CMV-MAYV-*nanoluc*)

Figure 5. Composto natural lapachol (QHM0001) e seus derivados QHM0011, QHM0020 e QHM0110 reduzem a expressão das proteínas E1 e nsP1 de MAYV. (Natural compound Lapachol (QHM0001) and its derivatives compounds QHM0011, QHM0020, and QHM0110 reduce the expression of the MAYV E1 and nsP1 proteins)

LISTA DE TABELAS

Table 1. Valores de concentração citotóxica de 50% (CC₅₀) e concentração máxima não tóxica (MNTC) em ambas as linhagens celulares. (Cytotoxic concentration values of 50% (CC₅₀) and maximum non-toxic concentration (MNTC) in both cell lines)

Table 2. Valores de CC₅₀, EC₅₀ e IS em células BHK-21 and Vero E6 (CC₅₀, EC₅₀ and IS values in BHK-21 and Vero E6 cells)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ATCC:** Coleção Americana de culturas tipo (American Type Culture Collection)
- BHK-21:** células renais de hamster recém-nascido (baby hamster kidney cells)
- C:** proteína do capsídeo (capsid protein)
- CC₅₀:** Concentração citotóxica de 50% (50% cytotoxic concentration)
- CHIKV:** chikungunya
- CMC:** carboximetilcelulose (carboxymethyl cellulose)
- CMV:** citomegalovírus (cytomegalovirus)
- CPV-I:** vacúolo citopático tipo I (type I cytopathic vacuole)
- DENV:** vírus da dengue (dengue vírus)
- DHODH:** diidroorotato desidrogenase (dihydroorotate dehydrogenase)
- DMEM:** Meio de Eagle Modificado por Dulbecco (Dulbecco's Modified Eagle's Medium)
- DMSO:** dimetilsulfóxido (dimethyl sulfoxide)
- DNA:** ácido desoxirribonucleico (deoxyribonucleic acid)
- E:** proteína do envelope (envelope protein)
- EC:** epicatequina (epicatechin)
- EC₅₀:** Concentração inibitória de 50% (50% viral inhibitory effect concentration)
- ECG:** (-)-epicatequina galato (epicatechin gallate)
- EGC:** (-)-epigallocatequina (epigallocatechin)
- EGCG:** (-)-epigallocatequina-galato (epigallocatechin gallate)
- EROs:** espécies reativas de oxigênio (ROS: reactive oxygen species)
- ESI:** ionização por eletrospray (electrospray ionization)
- FBS:** Soro fetal bovino (fetal bovine serum)
- FDA:** Administração de Alimentos e Medicamentos (Food and Drug Administration)
- FLU:** Vírus influenza (*Influenza virus*)
- h.p.i:** horas pós infecção (hours post-infection)
- HCV:** vírus da hepatite C (hepatitis C vírus)
- HeLa:** células de câncer de cólo uterino (cervical cancer cells)
- HepG2:** células de carcinoma hepatocelular humano (human hepatocellular carcinoma cells)
- HIV:** vírus da imunodeficiência humana (human immunodeficiency vírus)
- HRMS:** Espectros de massa de alta resolução (High-resolution mass spectra)
- HSV:** Vírus herpes simplex (herpes simplex vírus)
- IgM:** imunoglobulina M (immunoglobulin M)
- IL-6:** interleucina-6 (interleukin-6)

IU/mL: unidades internacionais por mililitro (international units per milliliter)

Kb: quilobase (kilobase)

LCMS: Cromatografia Líquida-Espectrometria de Massas (Liquid Chromatography-Mass Spectra)

MAYV: vírus Mayaro

MDCK: células de rim Canino Madin-Darby (Madin-Darby Canine Kidney cells)

mg/mL: miligramas por mililitros (milligrams per milliliter)

MNTC: concentração máxima não tóxica (maximum non-toxic concentrations)

MOI: multiplicidade de infecção (multiplicity of infection)

MTT: Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium Bromide)

Na₂SO₄: sulfato de sódio (sodium sulfate)

ng: nanogramas (nanograms)

NLuc: Nanoluciferase

NMR: ressonância magnética nuclear (nuclear magnetic resonance)

nsPs: proteínas não estruturais (non-structural proteins)

OPTI-MEM: meio de cultura com soro reduzido (Reduced Serum Medium)

PDB: Banco de dados de proteínas (Protein Data Bank)

PFU/mL: unidades formadoras de placa por mL (plaque-forming units per mL)

pH: potencial Hidrogeniônico (hydrogen potential)

PRNT: teste de neutralização por redução de placas (plaque reduction neutralization test)

PRRSV: vírus da síndrome reprodutiva e respiratória suína (porcine reproductive and respiratory syndrome vírus)

RE: retículo endoplasmático (endoplasmic reticulum)

RNA: ácido ribonucleico (ribonucleic acid)

RT-qPCR: Reação em cadeia da polimerase quantitativa (Quantitative polymerase chain reaction)

SDS-PAGE: Eletroforese em Gel de Poliacrilamida com Dodecil Sulfato de Sódio (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis)

SI: índice de seletividade (selectivity index)

SINV: Sinbdis vírus

TLC: Cromatografia em camada fina (thin layer chromatography)

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa (tumor necrosis factor alpha)

T-TBS: Solução salina tamponada com Tris com Tween 20 (Tris-buffered Saline with Tween 20)

UV: Ultravioleta (ultraviolet)

VC: controle de veículo (vehicle control)

WNV: vírus do Nilo Ocidental (West Nile virus)

YFV: vírus da febre amarela (Yellow fever virus)

ZIKV: vírus Zika (Zika vírus)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
1.1 ARBOVÍRUS	9
1.2 VÍRUS MAYARO	9
1.2.1 Estrutura e ciclo replicativo	9
1.2.2 Ciclo de transmissão	13
1.2.3 Filogenia	14
1.2.4 Epidemiologia.....	14
1.2.5 Manifestações clínicas e patogênese	15
1.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	16
1.4 BUSCA POR COMPOSTOS NATURAIS E SINTÉTICOS COMO ANTIVIRAIS 17	
1.4.1 (-)-epigallocatequina-galato (EGCG)	18
1.4.2 Naftoquinonas.....	22
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL.....	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 <i>IN VITRO</i> EVALUATION OF THE ANTIVIRAL ACTIVITY OF POLYPHENOL (-)-EPIGALLOCATECHIN-3-GALLATE (EGCG) AGAINST MAYARO VIRUS.	26
4 ANTIVIRAL ACTION OF NATURAL NAPHTHOQUINONE AND ITS SYNTHETIC DERIVATIVES AGAINST MAYARO AND CHIKUNGUNYA VIRUSES 66	
5 CONCLUSÃO.....	104
REFERÊNCIAS	105

1. INTRODUÇÃO

1.1 ARBOVÍRUS

As arboviroses, doenças causadas por arbovírus, têm representado um grande desafio à saúde pública, pois elas ocorrem de forma esporádica, epidêmica ou endêmica, adquirindo características regionais definidas. As arboviroses estão frequentemente associadas a surtos em populações humanas e representam um problema de saúde pública com impacto econômico e social (Huang; Higgs; Vanlandingham, 2019; Santos et al., 2023).

Os arbovírus (*Arthropod-borne virus*), são um grupo com aproximadamente 500 espécies de vírus, que se distribuem em 14 famílias diferentes, e possuem como característica principal a transmissão por artrópodes hematófagos, como mosquitos e carrapatos (Cleton et al., 2012; Kolawole et al., 2018). Esses arbovírus estão envolvidos em diferentes ciclos de transmissão, variando de acordo com as suas condições ecológicas. Os arbovírus transmitidos por mosquitos peridomésticos, tais como o *Aedes aegypti* utilizam frequentemente hospedeiros humanos de amplificação, sendo sustentados em ciclos urbanos (Weaver et al., 2018).

Nos últimos anos, as doenças causadas por arbovírus expandiram sua distribuição geográfica e uma grande proporção da população humana está exposta a essas infecções. O Brasil possui grande diversidade de artrópodes e de animais vertebrados que, juntamente com as condições climáticas, constituem características favoráveis à ocorrência dessas doenças. Além disso, diversos fatores, tais como a globalização das viagens e do comércio, uso inadequado da terra, urbanização, alta densidade populacional, mudanças socioeconômicas e climáticas, têm contribuído para a propagação de algumas espécies de vírus e seus vetores (Huang; Higgs; Vanlandingham, 2019; Weaver; Reisen, 2010).

As principais famílias, que abrigam vírus que causam doenças em humanos e animais, são as famílias *Peribunyaviridae*, que compreende o vírus Oropouche (OROV), *Flaviviridae* (gênero *Orthoflavivirus*), que compreende os vírus da dengue (DENV), da febre amarela (YFV) e vírus Zika (ZIKV) e *Togaviridae* (gênero *Alphavirus*), que compreende os vírus chikungunya (CHIKV) e Mayaro (MAYV) (Cleton et al., 2012; Donalisio; Freitas; Zuben, 2017; Kolawole et al., 2018).

1.2 VÍRUS MAYARO

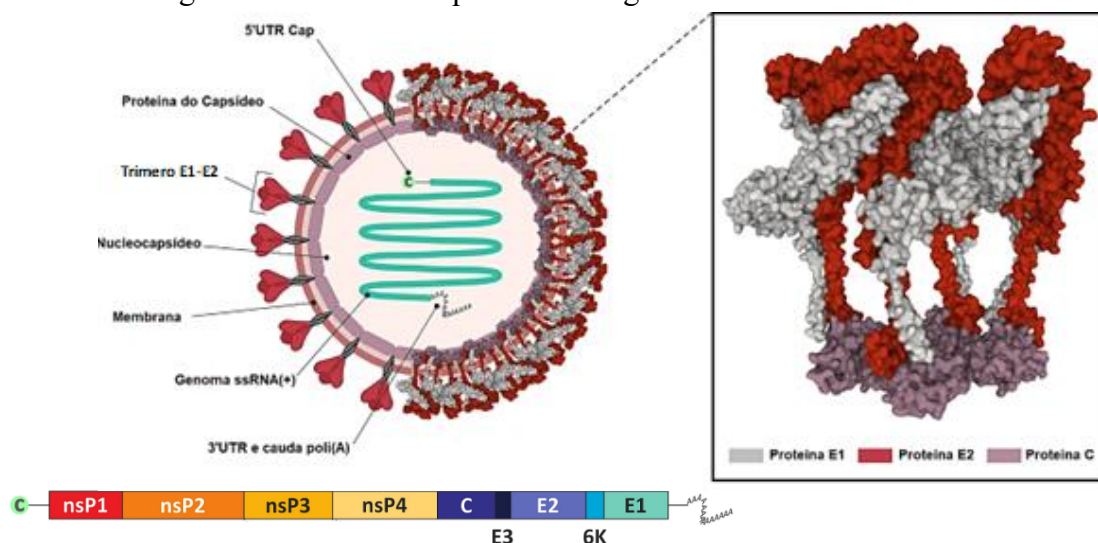
1.2.1 Estrutura e ciclo replicativo

O vírus Mayaro (MAYV), pertencente à família *Togaviridae* (Gênero *Alphavirus*) e ao complexo da floresta Semliki, foi descrito pela primeira vez em Trinidad e Tobago no ano

de 1954, onde causou doença febril leve a moderada em cinco trabalhadores rurais (Anderson et al., 1957). Desde então, tem sido responsável por vários pequenos surtos ou casos esporádicos em áreas rurais ao redor de florestas tropicais e América Central, como Brasil, Bolívia, Equador, Venezuela, Peru, Guiana Francesa, Suriname, México e Haiti (Brunini et al., 2017; Navarrete-Espinosa; Gómez-Dantés, 2006; Paschoalino et al., 2023)

O MAYV é um vírus de, aproximadamente, 70 nanômetros de diâmetro, possui um genoma de RNA de cadeia simples com sentido positivo de 11,5 kb (Ribeiro-Filho et al., 2021). Seu genoma compreende o total de dois quadros de leitura abertos (ORFs) (Figura 1). A primeira ORF codifica quatro proteínas não estruturais (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4), e a outra ORF que se situa após o gene nsP4, codifica as proteínas estruturais C (proteína capsidial), E3 (glicoproteína E3), p62, E2 (glicoproteína E2), E1 (glicoproteína E1) e 6K (Paschoalino et al., 2023; Ribeiro-Filho et al., 2021). Após a clivagem da poliproteína não estrutural, as seguintes proteínas são formadas: nsP1, envolvida no *capping* do RNAm; nsP2 que expressa atividade de protease; nsP3, que possui três domínios reconhecidos (macrodomínio, domínio único de *Alphavirus* e a região hipervariável), que atuam na replicação; e a nsP4, que possui atividade de polimerase (Andreolla et al., 2022). Após, com o processamento da poliproteína estrutural, temos as proteínas que formarão a partícula viral: C, envolvida no encapsulamento do material genético, glicoproteínas, ligadas ao processo de entrada nas células e 6k, proteína que transporta E1 e E2 para a membrana (Andreolla et al., 2022). A parte lipídica do envelope viral está relacionada à estabilidade e à infectividade da partícula viral nas células hospedeiras e sua organização é importante para a atividade biológica dos *Alphavirus* (Sousa et al., 2011).

Figura 1 – Estrutura esquemática do genoma e do vírion MAYV

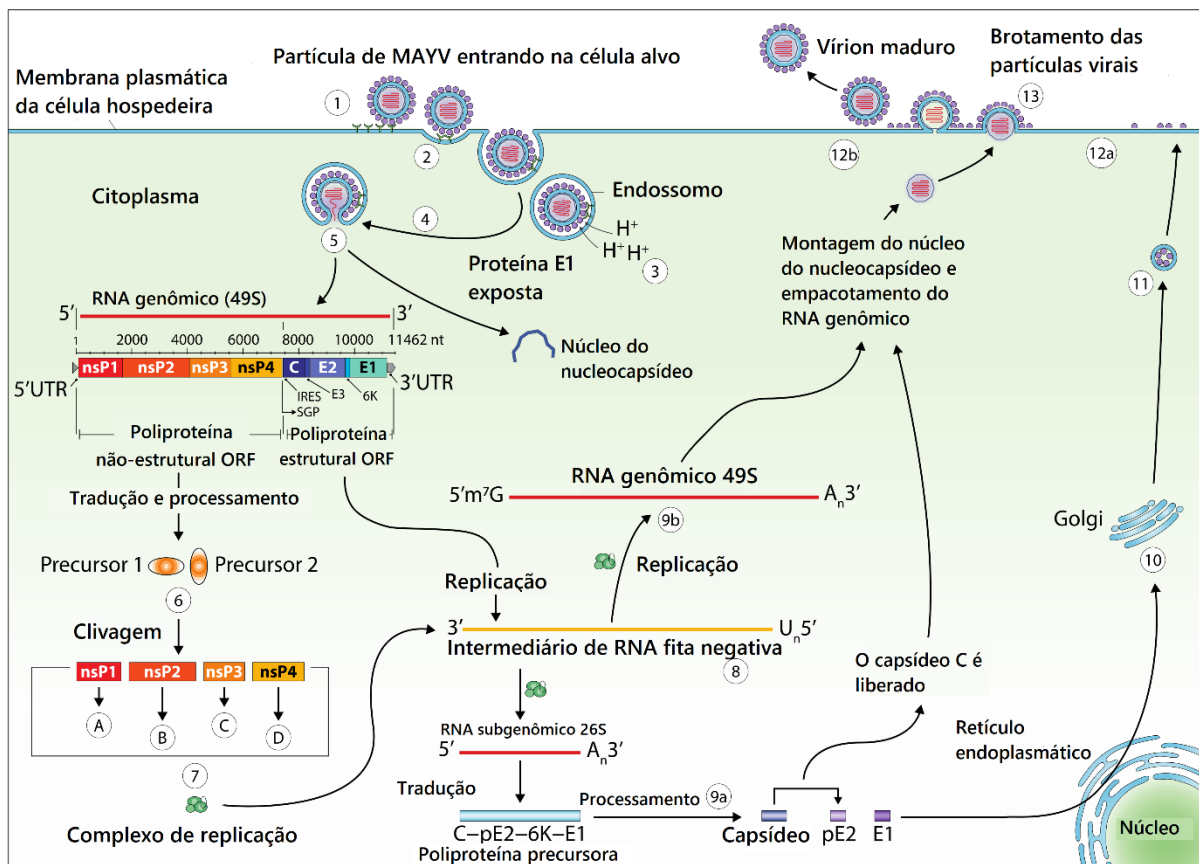


Fonte: Adaptado de PASCHOALINO et.al., 2023.

A entrada do MAYV na célula hospedeira se dá por meio da ligação à receptores específicos. A proteína E2 é uma das principais mediadoras da ligação do vírion com a célula hospedeira. O MXRA8 é uma molécula de adesão expressa em células epiteliais, mielóides e mesenquimais, conhecida por ser alvo da ligação de alfavírus artrítogênicos para entrada nas células (Song et al., 2019).

Após entrada nas células, rapidamente é desencadeada a endocitose da partícula viral mediada por clatrina ou por vesículas derivadas de caveolinas enriquecidas com colesterol, sendo a primeira mais frequente (Andreolla et al., 2022). Com a formação do endossomo, ocorre a mudança de pH no interior dessas vesículas. Tal mudança de pH é importante para a alteração do envelope viral, ocorrendo a dissociação das proteínas E1 e E2. Essas proteínas estão associadas em conformação metaestável na forma de heterodímeros e sua dissociação expõe a proteína E1, promovendo a fusão da membrana celular com o envelope viral, levando à liberação do nucleocapsídeo e do genoma viral no citoplasma celular (Figura 2) (Andreolla et al., 2022; Paschoalino et al., 2023).

Figura 2 – Esquema do ciclo de replicação do MAYV



Fonte: Adaptado de DIAGNE et.al., 2020.

Na membrana endossomal temos a presença de um complexo proteico denominado ATPase vacuolar, que atua acidificando o lúmen dos endossomos e lisossomos, sendo importante no tráfego receptor-ligante. Conforme ocorre o transporte através da via endossomal, dos endossomos iniciais para os tardios e mais tarde para os lisossomos, gradativamente eles vão sendo expostos a um pH cada vez mais baixo. Endossomos iniciais apresentam pH em torno de 6,0-6,5, endossomos tardios em torno de 5,0-6,0 e lisossomos por volta de 4,6-5,0 (Kielian; Chanel-Vos; Liao, 2010). É visto que a reação fusogênica de cepas de MAYV ocorre dentro dos compartimentos endossomais iniciais, levando em torno de 3 minutos para completar o processo de ligação e fusão (Carvalho et al., 2017).

No citoplasma celular, com o auxílio de ribossomos livres, o nucleocapsídeo é desmontado para liberação do RNA genômico. Os ribossomos reconhecem a região CAP e o códon iniciador 5'AUG do RNA viral, que leva diretamente à tradução do RNA genômico, produzindo a poliproteína precursora não estrutural P123 (precursora de nsP1, nsP2 e nsP3) e a P1234 (P123 e nsP4) (Andreolla et al., 2022; Diagne et al., 2020). Esse processo ocorre no interior de estruturas chamadas esférulas, que são estruturas vesiculares que se formam na membrana plasmática e são usadas como locais de montagem do complexo de replicação do RNA genômico. Com o decorrer da infecção, as esférulas são internalizadas dentro de grandes vacúolos, formando o chamado vacúolo citopático tipo I (CPV-I) (Andreolla et al., 2022; Diagne et al., 2020).

A poliproteína (P123), após processamento, dá origem às proteínas não estruturais individuais maduras. A proteína nsP2, que possui função proteolítica, atua catalisando a clivagem do P1234, liberando a enzima nsP4, que é uma enzima RNA polimerase dependente de RNA, formando assim o complexo de replicação P123 + nsP4, envolvido na síntese de RNA de cadeia negativa, que servirá de molde para a síntese de RNA genômico (49S) e RNA subgenômico (26S). Estudos sugerem que a nsP2 também é responsável pelo desligamento da transcrição celular. A liberação da enzima nsP1 também é relatada como importante para a montagem do complexo de replicação, quando associada à nsP4 (Andreolla et al., 2022; Paschoalino et al., 2023).

Através da síntese do RNA subgenômico são codificadas as poliproteínas estruturais (capsídeo, E3, E2, 6K e E1). Após clivagem pela ação da enzima serina protease autoproteolítica, é gerada a proteína C do capsídeo, que tem como função o encapsulamento das novas moléculas de RNA, formando o nucleocapsídeo. O processo continua com o encaminhamento das poliproteínas restantes (E3-E2-6K-E1) para o retículo endoplasmático (RE), por meio da interação entre peptídeos sinais das porções C e N terminais de E3 com a

membrana do RE, onde ocorre clivagem pelas proteases do hospedeiro produzindo E3E2, 6K e E1. Logo após, ocorre o ancoramento das proteínas produzidas na membrana do RE e em seguida E2E3 e E1 se associam formando dímeros, que são transportados, com auxílio da proteína 6k, para a membrana citoplasmática, com posterior clivagem por furinas celulares em um compartimento pós-Golgi, originando as glicoproteínas E2 e E3 (Andreolla et al., 2022; Paschoalino et al., 2023).

Por fim, os vírions são liberados por brotamento através da membrana celular, adquirindo um envelope viral, formado de bicamada lipídica e glicoproteínas E1 e E2, organizadas em trímeros de heterodímeros E1-E2. O nucleocapsídeo interage com a proteína E2 em um bolso (hidrofóbico na parte inferior e hidrofílico na superior) no domínio C terminal da proteína C, ao qual a proteína E2 está ligada, dando início ao processo de montagem e brotamento das partículas virais. Estudos mostram provável papel das proteínas 6K e TF nesse processo, porém todo esse mecanismo ainda é pouco esclarecido no vírus MAYV (Andreolla et al., 2022; Ribeiro-Filho et al., 2021).

1.2.2 Ciclo de transmissão

O MAYV possui um ciclo de transmissão silvestre, ocorrendo entre primatas não humanos, raramente pequenos mamíferos ou aves, e mosquitos silvestres, sendo os principais o *Haemagogus janthinomys*, *Mansonia* sp. e *Psorophora* sp. (Esposito; Fonseca, 2017; GROOT; MORALES; VIDALES, 1961; Hoch et al., 1981). O vírus também já foi isolado de mosquitos do gênero *Culex*, *Aedes* e *Sabethes*, que podem ter um envolvimento ocasional nesse ciclo de transmissão (Celone et al., 2021; Galindo; Srihongse, 1967; Wiggins; Eastmond; Alto, 2018).

Pelo fato dos mosquitos do gênero *Haemagogus* circularem em áreas rurais, próximas de mata, a ocorrência de infecção em humanos ocorre de forma acidental e esporádica, quando esses indivíduos residem ou adentram nessas regiões de mata. No entanto, o risco de urbanização do MAYV não pode ser descartado, visto que estudos encontraram pools de *Aedes aegypti* positivos para MAYV (Maia et al., 2019; Pereira Serra et al., 2016). Tais achados mostram a possibilidade de circulação do vírus no meio urbano. Além disso, um experimento mostrou que espécies de *Anopheles* (*A. freeborni*, *A. gambiae*, *A. quadrimaculatus* e *A. stephensi*) também são capazes de serem infectados e transmitir MAYV, sendo eles potentes vetores distribuídos por todo o mundo (Brustolin et al., 2018).

1.2.3 Filogenia

Estudos filogenéticos usando sequenciamento do genoma completo classificaram as cepas de MAYV em três genótipos: (1) genótipo D, amplamente distribuído na América do Sul e região caribenha; (2) genótipo L, limitado ao centro-norte região do Brasil, e (3) genótipo N, um genótipo recém descrito encontrado apenas em uma região localizada no Peru (Auguste et al., 2015; Powers et al., 2006). Análises filogenéticas mostram que o MAYV pertence ao complexo da floresta de Semliki, pois compartilha características genéticas e biológicas com o vírus da floresta Semliki, que foi isolado pela primeira vez nessa região, levando esse nome. Além disso, análises da região E1 mostrou que este possui relação com o Una vírus, o único vírus na América do Sul relacionado às viroses do velho mundo (Lavergne et al., 2006). O genótipo L parece estar restrito a alguns países, tal como o Brasil, sugerindo possível restrição geográfica na dispersão de MAYV ou viés na colheita de dados ao invés de uma subdivisão de cepa (Auguste et al., 2015; Lednicky et al., 2016).

1.2.4 Epidemiologia

O MAYV é endêmico de florestas tropicais da América Central e do Sul e estudos mostram que o vírus tem circulado há mais de 90 anos na bacia amazônica. Embora haja estudos alertando sobre o potencial epidêmico do MAYV, pouco se sabe sobre sua epidemiologia nas diferentes regiões em que circula. Sabe-se que o MAYV circula em mais de 14 países latino-americanos, dos quais 9 possuem casos de transmissão em humanos (Wei; Tom; Kim, 2024). Também são documentadas evidências de sete surtos de MAYV no Brasil, na Bolívia e na Venezuela (Caicedo et al., 2021; Ganjian; Riviere-Cinnamond, 2020; Wei; Tom; Kim, 2024). Fora das Américas foram notificados 8 casos de MAYV em viajantes dos Estados Unidos, França, Holanda, Alemanha e Suíça, todos saídos da floresta amazônica (Caicedo et al., 2021).

Muitos casos de MAYV foram relatados no Brasil, com a maioria na região amazônica e no estado do Mato Grosso. No ano de 1977 houve casos de MAYV em Belterra e em 2008 em Pau D'arco, ambos no Pará. O MAYV também foi identificado em outras regiões do país, em Sinop, Mato Grosso foram identificados 6 casos soropositivos para MAYV durante um surto de DENV (Wei; Tom; Kim, 2024). Em Roraima também foi detectado o vírus em 28 pacientes febris entre 2018 e 2021 (Forato et al., 2024).

Um estudo estimou o tempo de geração do MAYV, que é o tempo entre a infecção de um caso humano e a infecção dos casos humanos secundários causados pelo caso primário, que resultou em 15,2 dias, muito próximo ao do CHIKV (14 dias) (Caicedo et al., 2021). Além disso, os autores também estimaram a transmissibilidade e a força de infecção, que são dados

importantes para o planejamento na saúde pública. Os autores sugerem que mutações adaptativas do MAYV e crescimento desordenado das cidades em regiões de mata podem desencadear a disseminação do vírus (Caicedo et al., 2021).

1.2.5 Manifestações clínicas e patogênese

Em relação à doença, 64-80% dos indivíduos infectados por MAYV desenvolvem sinais clínicos (Diagne et al., 2020; Hoch et al., 1981; Tesh et al., 1999). Dentre os sinais clínicos, os mais comuns são artralgia, febre, astenia, mialgia, dor de cabeça, dor pós-orbital e artrite persistente, a qual pode durar meses ou até anos causando uma deficiência incapacitante (Acosta-Ampudia et al., 2018; Paschoalino et al., 2023). Além destes, também já foram reportados prurido, anorexia, inchaço nas articulações, erupção cutânea, náusea, vômito, linfadenopatia, diarreia e dor abdominal (Azevedo et al., 2009; CAUSEY; MAROJA, 1957; Da Costa et al., 2017; Da Silva Pessoa Vieira et al., 2015; Diagne et al., 2020; Halsey et al., 2013; Mourão et al., 2012; Muñoz; Navarro, 2012; Pinheiro et al., 1981; Tesh et al., 1999). A fase aguda da doença geralmente dura de 2 a 6 dias (Diagne et al., 2020; Tesh et al., 1999). Poucos estudos reportaram sinais hemorrágicos (sangramento nas gengivas, epistaxe, petéquias). Em alguns casos o paciente pode desenvolver a doença grave, podendo causar distúrbios neurológicos, miocardite e até mesmo levar à morte (Acosta-Ampudia et al., 2018; Mourão et al., 2012; Tesh et al., 1999).

Após a picada do mosquito, o MAYV atinge a corrente sanguínea, infectando células brancas, como por exemplo macrófagos e monócitos, e se espalhando pelos ossos, articulações e músculos, através do baço e do fígado, que são órgãos com sítios de replicação. A patogênese viral é estudada através de linhagens celulares e modelos animais, tais como os camundongos e os primatas não humanos (Diagne et al., 2020). Um estudo avaliou o tropismo tecidual do MAYV em diversos locais anatômicos através da quantificação do RNA viral e identificação de inflamação através de histopatologia (Weber et al., 2023). Os dados obtidos mostraram que o MAYV se disseminou de forma eficiente por diversos órgãos, tais como músculos, articulações, nervos, lobos do cérebro, compartimentos do coração, tecidos linfoides e outros órgãos primários. Dentre todos os tecidos amostrados, os dedos dos pés e das mãos, pulsos e tornozelos foram os locais com maior inflamação, infiltração linfocítica perivascular e hiperplasia de células sinoviais e endoteliais (Weber et al., 2023). Além disso, os autores também demonstraram através da análise longitudinal de amostras de sangue periférico uma ativação da resposta imune inata e adaptativa, com presença de anticorpos neutralizantes anti-MAYV, citocinas inflamatórias e ativação de monócitos (Weber et al., 2023). Bengue e

colaboradores avaliaram a permissividade de condrócitos humanos e sinoviócitos, que são células envolvidas no processo de osteoartrite na infecção por MAYV. Além disso, obtiveram como resultado uma indução da expressão de enzimas metaloproteínases da matriz, que podem estar envolvidas no processo de destruição da cartilagem articular e aumento da expressão de genes, como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-6 (IL-6) (Bengue et al., 2019). Estudos adicionais ainda precisam ser desenvolvidos para elucidar o processo que leva à artrite grave e o que leva ao seu desenvolvimento em alguns indivíduos e em outros não (Diagne et al., 2020).

Outro fator que demonstra ser importante na patogênese do MAYV é o estresse oxidativo. Um estudo mostrou, através do monitoramento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e marcadores de estresse oxidativo, que a infecção pelo MAYV induziu estresse oxidativo em células HepG2 (Camini et al., 2017). Outro estudo, demonstrou que o MAYV induziu o estresse oxidativo no fígado de camundongos infectados, bem como desregulação de componentes antioxidantes enzimáticos (Da Silva Caetano et al., 2019). Não há muitos estudos demonstrando o papel desse processo na patogênese do MAYV, porém através de estudos envolvendo outros arbovírus, sabe-se do seu papel na produção de EROs e seu envolvimento na inflamação e apoptose (Diagne et al., 2020).

1.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial das arboviroses consiste principalmente na detecção direta do material genético do vírus por PCR em tempo real (RT-qPCR), no período virêmico inicial, que varia de 2 a 6 dias após início dos sintomas. A análise por RT-qPCR é conhecida por sua alta sensibilidade e especificidade, tornando-a uma excelente ferramenta no diagnóstico e identificação de arbovírus (Acosta-Ampudia et al., 2018; Levi; Vignuzzi, 2019).

Os métodos sorológicos também são amplamente utilizados no diagnóstico dessas doenças, detectando a resposta imunológica decorrente da infecção, podendo ser feitos muito tempo após o início dos sintomas. Os testes mais conhecidos são o teste imunoenzimático com captura de IgM, o teste de inibição de hemaglutinação, o teste de neutralização e o imunoensaio enzimático usando células infectadas com o antígeno. A desvantagem da utilização, no caso dos testes rápidos, é a reatividade cruzada, pois o MAYV e o CHIKV apresentam antígenos comuns (ubiquitários) a outros vírus do gênero *Alphavirus*, causando reações cruzadas e com resultados falso-positivos (Acosta-Ampudia et al., 2018; Bozza et al., 2019; Levi; Vignuzzi, 2019).

Na prática clínica um teste muito utilizado é o teste de inibição da hemaglutinação, por ser de baixo custo e fácil manipulação. Em laboratórios de pesquisa é muito comum o uso do teste de neutralização por redução de placas (PRNT). O PRNT é o teste de maior especificidade e sensibilidade na detecção de anticorpos neutralizantes. Contudo é um teste laborioso e que necessita de profissionais altamente capacitados, pois envolve riscos ao manusear a cepa viral, sendo um teste inviável na prática clínica (Acosta-Ampudia et al., 2018).

1.4 BUSCA POR COMPOSTOS NATURAIS E SINTÉTICOS COMO ANTIVIRAIS

Não existe, até o momento, um tratamento específico contra a doença causada pelo MAYV, sendo assim a prevenção se torna crucial para evitar ou limitar epidemias da doença. Tais medidas incluem evitar picadas dos mosquitos vetores, concentrando-se na eliminação de criadouros, que se torna possível através do engajamento dos serviços de saúde e da comunidade (Diagne et al., 2020; Levi; Vignuzzi, 2019). Outros métodos de controle incluem o uso de predadores, larvicidas e pulverização dos ambientes, principalmente em momentos de surtos e epidemias (Diagne et al., 2020).

Algumas vacinas candidatas foram testadas para o MAYV. A primeira foi uma vacina inativada com formalina. Esta apresentou eficiência moderada em camundongos (Robinson et al., 1976). Mais recentemente, vacinas de vírus atenuado, usando vetores de adenovírus de chimpanzé, combinação de vetores e adenovírus e uma vacina baseada em DNA mostraram boa imunogenicidade e proteção em modelo animal (Choi et al., 2019; Mota et al., 2020; Powers et al., 2021; Weise et al., 2014).

A pesquisa por novas substâncias antivirais intensificou-se na última década, devido ao número limitado de fármacos em paralelo com a alta taxa de resistência antiviral e o aumento do número de casos de infecções causadas por vírus emergentes e reemergentes. Além disso, o interesse pela medicina tradicional e complementar tem aumentado nos últimos anos. A medicina tradicional descreve a tradição de povos antigos. Por outro lado, a medicina complementar é caracterizada pela associação da medicina convencional e da não convencional, fazendo uso de suplementos e produtos naturais, por exemplo. De maneira geral, o uso de determinados tipos de tratamentos, baseados em evidências científicas, tem o potencial de trabalhar em sinergia com a medicina convencional, melhorando o tratamento de várias doenças (Bodeker; Kronenberg, 2002; National Center for Complementary and Integrative Health., 2021).

As primeiras moléculas naturais testadas contra o MAYV foram a prostaglandina A1 e a prostaglandina B2, que inibiram o MAYV significativamente, mostrando efeito em várias

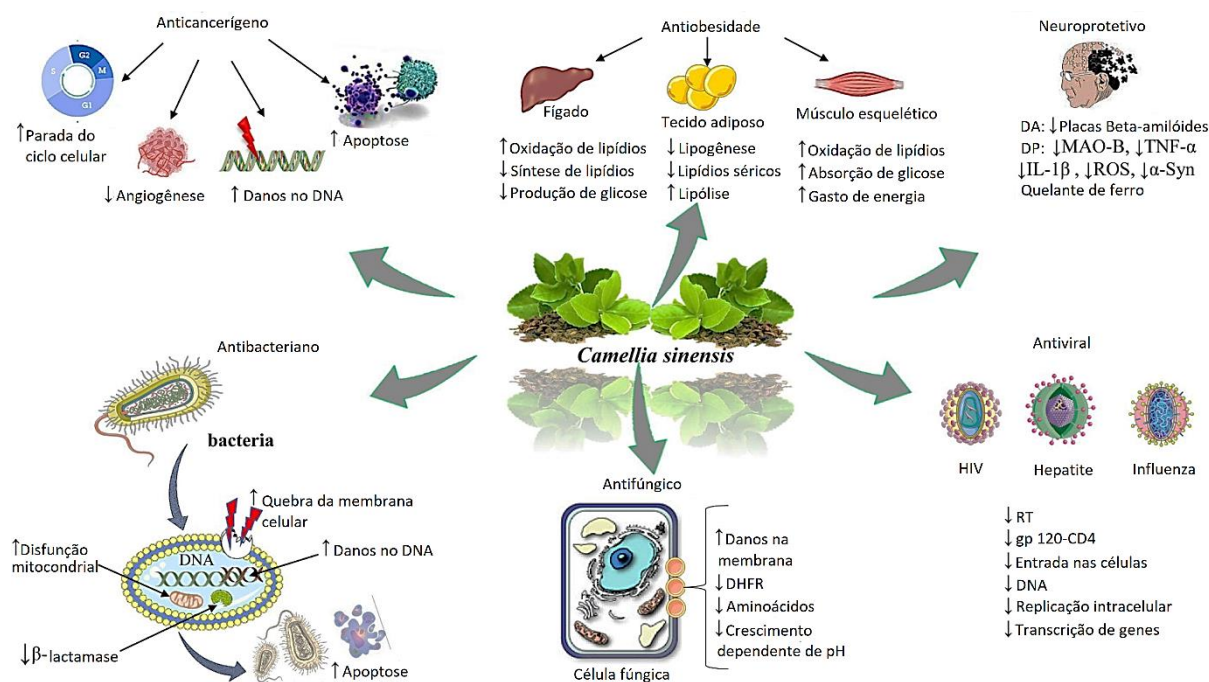
etapas do seu ciclo replicativo, tal como causando efeito inibitório na síntese de E1, E2 e C e nos precursores das proteínas virais (Ishimaru; Marcicano; Rebello, 1998). Outro composto natural testado *in vitro* contra o MAYV foi a macromolécula lactoferrina, uma glicoproteína globular produzida por glândulas exócrinas. Usada na forma de apolactoferrina, essa molécula mostrou atuar na entrada do vírus, impedindo sua adesão (Carvalho et al., 2014). Além disso, outros compostos que vem sendo explorados como candidatos a antiviral contra MAYV são os flavonóides. Esses compostos têm mostrado diversos mecanismos de ação contra o MAYV, tais como diminuição da infectividade das partículas virais, além de atuar nas proteínas não estruturais do vírus (Paschoalino et al., 2023; Vázquez-Calvo et al., 2017).

Além dos compostos naturais, os compostos sintéticos também são de grande interesse para uso como antivirais. Fernandes e colaboradores mostraram em seu estudo, que as cetonas cíclicas são capazes de atuar inibindo a replicação do MAYV (Fernandes et al., 2021). Estudos envolvendo compostos derivados tienopiridínicos contra o MAYV mostraram efeito virucida e diminuição da síntese de proteínas virais (Amorim et al., 2017). Além disso também são encontrados estudos que fazem uso de compostos que atuam em fatores do hospedeiro, tal como os inibidores de proteassoma MG132 e Lactacistina e os inibidores da enzima tirosina quinase, que é uma enzima que pode interagir com o vírus durante a infecção favorecendo-o (Paschoalino et al., 2023).

1.4.1 (-)-epigallocatequina-galato (EGCG)

Muitos compostos naturais têm sido explorados em diversos estudos, buscando por propriedades terapêuticas. Os chás (chá verde, chá preto, chá oolong, chá branco, chá amarelo e chá escuro) feitos a partir das folhas da planta *Camellia sinensis* são de grande interesse, pois há anos eles vêm sendo produzidos e utilizados, trazendo diversos benefícios à saúde. Na medicina tradicional, eles são considerados como benéficos para a saúde humana, apresentando efeitos antioxidante, neuroprotetor, cardioprotetor, anticancerígeno, antiobesidade, anti-inflamatório e antimicrobiano (Figura 3) (Chaudhary et al., 2023; Mahmood; Akhtar; Khan, 2010; Steinmann et al., 2013).

Figura 3 – Representação dos principais efeitos farmacológicos dos componentes bioativos da *Camellia sinensis*.

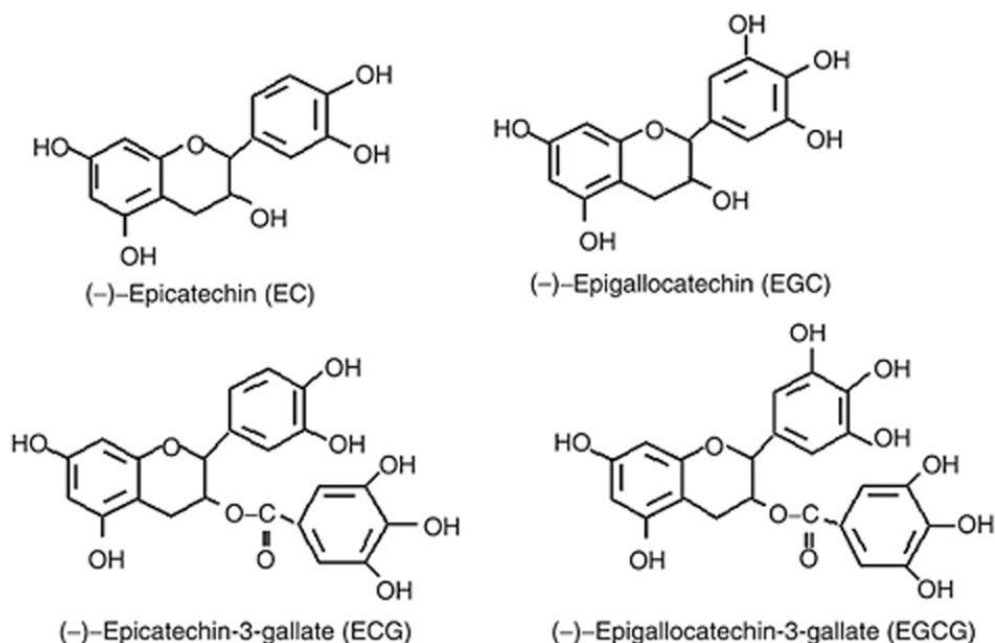


Abreviações e símbolos: ↑aumentado, ↓diminuído, MAO-B (monoamina oxidase B), TNF- α (fator de necrose tumoral alfa), IL-1 β (interleucina 1beta), ROS (espécies reativas de oxigênio), α -Syn (alfa sinucleína), DHFR, (dihidrofolato redutase), RT (transcriptase reversa), DA (doença de Alzheimer), DP (doença de Parkinson).

Fonte: Adaptado de CHAUDHARY et al., 2023.

O chá verde é rico em compostos bioativos, possuindo aproximadamente 4000 desses compostos. É visto que 1/3 deles são polifenóis, que são anéis de benzeno ligados com múltiplos grupos hidroxila, possuindo diversas classes (Mahmood; Akhtar; Khan, 2010; Steinmann et al., 2013). O composto (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG), objeto de estudo deste trabalho, é uma das principais catequinas polifenólicas do chá verde, representando 59% do total de catequinas presentes nas folhas. Outras catequinas são descritas em menor quantidade, tais como a (-)-epigallocatequina (EGC) (19%), a (-)-epicatequina galato (ECG) (13,6%) e a (-)-epicatequina (EC) (6,4%). As diferenças entre elas, tanto estruturais quanto funcionais, se dão pelo número de grupos hidroxila no anel benzênico e pela presença ou ausência do grupo galoil (Figura 4) (Mahmood; Akhtar; Khan, 2010; Steinmann et al., 2013).

Figura 4 – Estrutura química das quatro principais catequinas do chá verde.



Fonte: STEINMANN et.al, 2012.

Os estudos envolvendo o EGCG são vastos, pois ele não atua somente como antiviral, mas em diversos tipos de doenças. Estudos recentes demonstraram atividade antiviral do EGCG contra diversos grupos de vírus (Chaudhary et al., 2023).

Um estudo revelou atividade do EGCG contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV), pois ele demonstrou afinidade com a molécula CD4, que é um antígeno expresso na superfície celular dos linfócitos TCD4⁺, que servem como receptor para a ligação da proteína gp120 da superfície do envelope viral, fazendo com que o HIV entre nas células (Chaudhary et al., 2023; Williamson et al., 2006). Nance e colaboradores demonstraram que o EGCG inibe a ligação do HIV-1-gp120 ao CD4, sendo responsável por limitar a replicação do HIV-1 e a infecciosidade em condições fisiológicas. Além do mais, a inibição do EGCG se mostrou eficaz contra diversos subtipos de HIV-1, sem comprometimento dos linfócitos (Nance; Siwak; Shearer, 2009).

Outro grupo de vírus que ganhou destaque nos últimos anos por conta da pandemia envolvendo o novo coronavírus, foram os vírus que causam doença respiratória aguda. A infecção pelo vírus *Influenza* (A e B), vírus da família *Orthomyxoviridae*, é uma das principais doenças respiratórias agudas, causando epidemias mundiais todos os anos. Além das extensas campanhas de medidas de prevenção e vacinação, vários medicamentos são eficazes para tratar a doença, tais como a amantadina e a rimantadina (Chaudhary et al., 2023). Ao longo do tempo, com a ocorrência de resistência aos medicamentos existentes, alternativas vão sendo estudadas

para tratar determinadas doenças. O EGCG tem sido empregado no tratamento da doença causada pelo vírus Influenza. Um estudo experimental envolvendo seres humanos, demonstrou que as catequinas do chá verde e teaninas previnem a infecção por influenza e podem servir como uma profilaxia eficaz, pois a ocorrência da doença diminuiu no grupo de indivíduos tratados, quando comparado com o placebo (Matsumoto et al., 2011). Outro estudo demonstrou que o EGCG foi capaz de inibir a entrada do vírus na célula e causar danos diretamente na partícula viral, pois ele alterou a integridade da membrana viral, tornando-as permeáveis, resultando no encolhimento da partícula (Kim et al., 2013).

Os efeitos de inibição do EGCG sobre o SARS-CoV-2, que foi o causador da pandemia de COVID-19, são vistos por meio de sua interação com o receptor ACE2. Esse receptor da célula hospedeira foi descrito como sendo o receptor de ligação da proteína *spike* do SARS-CoV-2, formando o complexo RDB-ACE2, no qual o vírus é ativado e entra na célula, iniciando o processo de replicação (Wang et al., 2021). Estudos demonstraram que o EGCG foi capaz de reduzir os níveis citoplasmáticos da proteína box-1 do grupo de alta mobilidade (HMGB1) em macrófagos. A proteína HMGB1 é uma proteína que promove a síntese de citocinas inflamatórias ativa em macrófagos estimulados por endotoxinas, estando intimamente relacionado com a progressão da insuficiência respiratória aguda para sepse (Wang et al., 2021). O EGCG também mostrou atividade inibitória *in vitro* contra NsP5 do SARS-CoV-2, que é responsável pela proteólise desse vírus na fase madura (Bhardwaj et al., 2020).

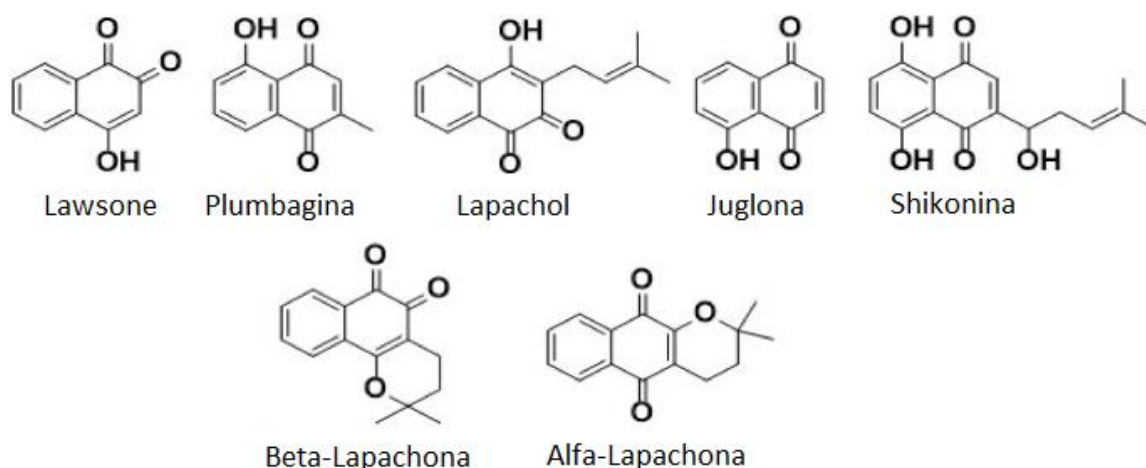
O EGCG também mostrou efeito contra diversos arbovírus, incluindo o CHIKV, que é membro da família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus*, assim como o MAYV. Lu e colaboradores em seu trabalho, mostraram que o EGCG diminuiu significativamente o RNA de CHIKV, durante a entrada, replicação e liberação viral, além de atuar de forma sinérgica em conjunto com o composto suramina (Lu et al., 2017). Os Orthoflavivírus também foram alvo de estudos envolvendo o EGCG. O ZIKV foi inibido de forma eficaz pelo EGCG, pois sua entrada em células VERO E6 foi inibida em 90% em concentrações não citotóxicas, além de apresentar efeito diretamente sobre as partículas virais (Carneiro et al., 2016). O EGCG também inibiu de forma eficaz a produção do vírus do Nilo Ocidental (WNV), apresentando um efeito virucida e atuando nas etapas de fixação e entrada viral. Nesse mesmo estudo o EGCG foi capaz de diminuir a infectividade do ZIKV e do DENV (Vázquez-Calvo et al., 2017). Neste contexto, dadas as atuais condições de tratamento contra o MAYV, e suas possíveis complicações, e o notável potencial terapêutico do EGCG contra os mais variados tipos virais, seria importante explorar esse composto como um potencial antiviral contra MAYV.

1.4.2 Naftoquinonas

As naftoquinonas fazem parte de um importante grupo de compostos naturais, as chamadas quinonas. Elas ocorrem de forma natural em plantas superiores das famílias *Bignoniaceae*, *Droseraceae*, *Boraginaceae*, entre outras. Essas plantas são usadas desde a antiguidade para tratamento de diversas doenças. Países em que ocorrem esses tipos de planta, tais como Brasil, Japão e China vêm sendo destaque nos estudos farmacológicos incluindo essas famílias (Angulo-Elizari et al., 2024; Mone et al., 2021; Silva et al., 2012).

As naftoquinonas podem ser divididas em 1,2 e 1,4-naftoquinonas e dependendo da presença do anel heterocíclico oxigenado podem ser classificadas como prenilnaftoquinonas, furanonaftoquinonas, difuranonaftoquinonas e piranonaftoquinonas (Rahman et al., 2022; Silva et al., 2012). Dentre as principais naftoquinonas naturais, o lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona) é um dos principais dentro do grupo das tabebuias (Figura 5). Ele ocorre principalmente nas famílias *Bignoniaceae*, em particular no gênero *Tabebuia*, que são popularmente conhecidos como ipê e são encontrados em todo o Brasil (Mone et al., 2021; Rahman et al., 2022). Outros exemplos de substâncias pertencentes a essa classe muito estudada são a lausona (lawsone), plumbagina, juglona, shikonina, α -lapachona e β -lapachona (Rahman et al., 2022).

Figura 5 – Estruturas de naftoquinonas abundantemente presentes na natureza.



Fonte: RAHMAN et al., 2022.

O interesse pelo lapachol e seus derivados vem aumentando devido seu vasto potencial biológico, como antitumoral, antimicrobiano e anti-inflamatório (Angulo-Elizari et al., 2024;

Hussain; Green, 2017; Mone et al., 2021). As naftoquinonas são exploradas por sua capacidade de induzir o estresse oxidativo, através da formação de espécies reativas de oxigênio (EROs), sendo consideradas altamente tóxicas, causando danos a alguns componentes celulares, tanto em células saudáveis como em células malignas, levando à apoptose (Sata et al., 1997). Estudos *in vivo* mostram que elas causaram anemia hemolítica e necrose tubular renal em roedores e primatas não humanos (Munday; Smith; Munday, 1995). A biotransformação hepática desses compostos leva à lesão celular por outros fatores ainda desconhecidos. Como alternativa, derivados sintéticos, com modificações na estrutura química desses compostos são necessários para melhorar a biodisponibilidade e diminuir a citotoxicidade (De Sena Pereira et al., 2016). Um estudo *in vitro* e *in vivo*, envolvendo modificações nas estruturas desses compostos, demonstrou baixa toxicidade para dois tipos celulares testados, que também não apresentaram atividade hemolítica e nenhum sinal clínico grave foi observado, quando comparado com os compostos descritos na literatura (De Sena Pereira et al., 2016).

Estudos tem demonstrado a atividade antiviral das quinonas e outros derivados com estruturas relacionadas. Esses compostos foram capazes de afetar vírus de RNA e DNA, em várias etapas dos seus ciclos de replicação (Tandon et al., 2005; Xiong et al., 2011). Diversos derivados de 1,4 naftoquinonas foram sintetizados e alguns demonstraram atividade antiviral significativa contra células HeLa infectadas com poliovírus tipo 2 (Tandon et al., 2005). Costa e colaboradores rastrearam naftoquinonas sintéticas quanto sua atividade anti-DENV. Esses compostos foram testados quanto à capacidade de inibir a atividade de ATPase da enzima viral NS3 em ensaios *in vitro*, e a replicação do vírus da dengue em células cultivadas. Eles identificaram duas naftoquinonas, que inibiram a replicação do vírus da dengue em células de mamíferos em 99,0% e outras três que reduziram a atividade de ATPase da NS3 (Da Costa et al., 2013). Outro estudo avaliou a atividade antiviral *in vitro* e *in vivo* da emodina, uma 9,10-antraquinona isolada das raízes de *Rheum tanguticum*, contra o vírus da herpes, afetando sua replicação (Xiong et al., 2011).

Em resumo, derivados sintéticos de naftoquinonas demonstram grande potencial de atuação como agentes antivirais. Nesse contexto, fez-se uso de diferentes naftoquinonas derivadas do lapachol (QHM0001), sendo elas: 2-((2-clorofenil)amino)-3-hidroxi-naftaleno-1,4-diona (QHM0011), 2-hidroxi-3-isopentilnaftaleno-1,4-diona (QHM0020), e 2-hidroxi-3-((3-(trifluorometil)fenil)amino)naftaleno-1,4-diona (QHM0110). Compostos similares foram usados em outro estudo demonstrando atividade antiparasitária contra *Schistosoma mansoni* (Calil et.al., 2019).

A obtenção desses análogos é importante na síntese de compostos bioativos, que são de grande interesse para a indústria farmacêutica. Considera-se que os conhecimentos desse trabalho possam contribuir para o desenvolvimento de novos compostos que possam atuar contra diversas doenças.

5 CONCLUSÃO

Os compostos galato de (-)-epigallocatequina (EGCG) e as naftoquinonas naturais (QHM-001 – lapachol) e sintéticas (QHM-0011, QHM0020, QHM-0110) mostraram ser antivirais promissores contra o vírus Mayaro. Todos os compostos apresentaram algum tipo de inibição em todas as linhagens testadas.

Os resultados obtidos mostraram que o EGCG apresentou efeito protetor para as células BHK-21 contra a infecção. Esse composto também mostrou forte efeito inibitório contra o MAYV, pois ele mostrou ser capaz de agir nas etapas de pós-entrada nas células hospedeiras, tais como replicação do RNA viral, montagem e liberação das partículas do vírus. O EGCG, por meio da ferramenta de *docking molecular*, demonstrou ação contra o MAYV, pela interação com as proteínas estruturais C e E1. Também mostrou uma diminuição na expressão das proteínas E1 e nsP1 através do ensaio de Western blotting.

No caso das naftoquinonas, nos ensaios iniciais todas apresentaram efeito inibitório, quando testadas sobre o ciclo de replicação completo do MAYV. Elas também agiram sobre as diferentes etapas do ciclo replicativo do MAYV, tais como entrada, replicação, montagem e liberação. Esses dados foram respaldados pela análise de Western blotting, que mostrou diminuição na expressão das proteínas E1 e nsP1 na presença dos compostos. Além disso, o ensaio de tempo de adição também foi feito para o CHIKV, mostrando bons resultados para vírus do gênero *Alphavirus*.

Por fim, estudos como este são importantes, pois determinam a toxicidade desses compostos em diferentes linhagens celulares, assim como também determinam seus perfis de segurança. Futuramente, estudos desse cunho podem trazer mais conhecimento sobre os possíveis antivirais contra o MAYV, assim como o entendimento do mecanismo de ação desses compostos, podendo ser útil e eficaz contra outros tipos de vírus e, em alguns casos, extrapolar seu uso para outras doenças.

REFERÊNCIAS

- ABDELNABI, Rana *et al.* **Antiviral drug discovery against arthritogenic alphaviruses: Tools and molecular targets.** *Biochemical Pharmacology*, 2020.
- ACOSTA-AMPUDIA, Yeny *et al.* **Mayaro: an emerging viral threat?** *Emerging Microbes and Infections*, 2018.
- AMORIM, Raquel *et al.* Thieno[2,3-b]pyridine derivatives: a new class of antiviral drugs against Mayaro virus. *Archives of Virology*, v. 162, n. 6, 2017.
- ANDERSON, Charles R. *et al.* Mayaro Virus: A New Human Disease Agent. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 6, n. 6, 1957.
- ANDREOLLA, Ana Paula *et al.* **Mayaro Virus: The State-of-the-Art for Antiviral Drug Development.** *Viruses*, 2022.
- ANGULO-ELIZARI, Eduardo *et al.* **Unlocking the potential of 1,4-naphthoquinones: A comprehensive review of their anticancer properties.** *European Journal of Medicinal Chemistry*. Elsevier Masson s.r.l., 15 mar. 2024.
- AUGUSTE, Albert J. *et al.* Evolutionary and ecological characterization of mayaro virus strains isolated during an outbreak, Venezuela, 2010. *Emerging Infectious Diseases*, v. 21, n. 10, 2015.
- AYUSSO, Gabriela Miranda *et al.* The Synthetic Peptide GA-Hecate and Its Analogs Inhibit Multiple Steps of the Chikungunya Virus Infection Cycle In Vitro. *Pharmaceuticals*, v. 16, n. 10, 2023a.
- AYUSSO, Gabriela Miranda *et al.* The Dimeric Peptide (KKYRYHLKPF)2K Shows Broad-Spectrum Antiviral Activity by Inhibiting Different Steps of Chikungunya and Zika Virus Infection. *Viruses*, v. 15, n. 5, 2023b.

AZEVEDO, Raimunda S. S. *et al.* Mayaro fever virus, Brazilian amazon. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 11, 2009.

BAKER, Nathan A. *et al.* Electrostatics of nanosystems: Application to microtubules and the ribosome. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 98, n. 18, 2001.

BASSETTO, Marcella *et al.* Computer-aided identification, design and synthesis of a novel series of compounds with selective antiviral activity against chikungunya virus. **Antiviral Research**, v. 98, n. 1, 2013.

BATTISTI, Verena; URBAN, Ernst; LANGER, Thierry. **Antivirals against the chikungunya virus. Viruses**, 2021.

BENGUE, Michèle *et al.* Mayaro Virus Infects Human Chondrocytes and Induces the Expression of Arthritis-Related Genes Associated with Joint Degradation. **Viruses**, v. 11, n. 9, 2019.

BHARDWAJ, Vijay Kumar *et al.* Identification of bioactive molecules from tea plant as SARS-CoV-2 main protease inhibitors. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, 2020.

BODEKER, Gerard; KRONENBERG, Fredi. **A public health agenda for traditional, complementary, and alternative medicine. American Journal of Public Health**, 2002.

BOZZA, Fernando A. *et al.* Differential shedding and antibody kinetics of zika and Chikungunya viruses, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 2, 2019.

BRUNINI, Sandra *et al.* **High frequency of mayaro virus IgM among febrile patients, central Brazil. Emerging Infectious Diseases**, 2017.

BRUSTOLIN, Marco *et al.* Anopheles mosquitoes may drive invasion and transmission of Mayaro virus across geographically diverse regions. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 11, 2018.

CAICEDO, Edgar Yaset *et al.* The epidemiology of mayaro virus in the americas: A systematic review and key parameter estimates for outbreak modelling. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 6, 2021.

CALIL, Felipe A. *et al.* Ligand-based design, synthesis and biochemical evaluation of potent and selective inhibitors of *Schistosoma mansoni* dihydroorotate dehydrogenase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 167, 2019.

CALLAND, Noémie *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate is a new inhibitor of hepatitis C virus entry. **Hepatology**, v. 55, n. 3, 2012.

CAMINI, Fernanda Caetano *et al.* Oxidative stress in Mayaro virus infection. **Virus Research**, v. 236, 2017.

CAMPOS, Dalkiria *et al.* Broad antiviral activity of ginkgolic acid against chikungunya, Mayaro, una, and Zika viruses. **Viruses**, v. 12, n. 4, 2020.

CARNEIRO, Bruno M. *et al.* The green tea molecule EGCG inhibits Zika virus entry. **Virology**, v. 496, 2016.

CARVALHO, Carlos A. M. *et al.* Inhibition of Mayaro virus infection by bovine lactoferrin. **Virology**, v. 452–453, 2014.

CARVALHO, Carlos A. M. *et al.* On the entry of an emerging arbovirus into host cells: Mayaro virus takes the highway to the cytoplasm through fusion with early endosomes and caveolae- derived vesicles. **PeerJ**, v. 2017, n. 4, 2017.

CAUSEY, O. R.; MAROJA, O. M. Mayaro virus: a new human disease agent. III. Investigation of an epidemic of acute febrile illness on the river Guama in Pará, Brazil, and isolation of Mayaro virus as causative agent. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 6, n. 6, 1957.

CELONE, Michael *et al.* A systematic review and meta-analysis of the potential non-human animal reservoirs and arthropod vectors of the Mayaro virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 12, 2021.

CHAUDHARY, Priya *et al.* Camellia sinensis: Insights on its molecular mechanisms of action towards nutraceutical, anticancer potential and other therapeutic applications. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 16, n. 5, p. 104680, 1 maio 2023.

CHEN, Chao *et al.* (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits the replication cycle of hepatitis C virus. **Archives of Virology**, v. 157, n. 7, 2012.

CHOI, Hyeree *et al.* Protective immunity by an engineered DNA vaccine for mayaro virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 2, 2019.

CIESEK, Sandra *et al.* The green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate, inhibits hepatitis C virus entry. **Hepatology**, v. 54, n. 6, 2011.

CLETON, Natalie *et al.* **Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers.** **Journal of Clinical Virology**, 2012.

COLÓN-GONZÁLEZ, Felipe J. *et al.* Projecting the risk of mosquito-borne diseases in a warmer and more populated world: a multi-model, multi-scenario intercomparison modelling study. **The Lancet Planetary Health**, v. 5, n. 7, 2021.

COLPITTS, Che C.; SCHANG, Luis M. A Small Molecule Inhibits Virion Attachment to Heparan Sulfate- or Sialic Acid-Containing Glycans. **Journal of Virology**, v. 88, n. 14, 2014.

CUI, Jiahua; JIA, Jinping. Discovery of juglone and its derivatives as potent SARS-CoV-2 main proteinase inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 225, 2021.

DA CONCEIÇÃO, Pâmela Jôyce Previdelli *et al.* In Vitro Evaluation of the Antiviral Activity of Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Against Mayaro Virus. **Viruses**, v. 17, n. 2, 1 fev. 2025.

DA COSTA, Emmerson C. B. *et al.* Synthetic 1,4-Pyran Naphthoquinones Are Potent Inhibitors of Dengue Virus Replication. **PLOS ONE**, v. 8, n. 12, p. e82504-, 20 dez. 2013.

DA COSTA, Vivaldo Gomes *et al.* **Silent emergence of Mayaro and Oropouche viruses in humans in Central Brazil. International Journal of Infectious Diseases**, 2017.

DA SILVA CAETANO, Camila Carla *et al.* Mayaro Virus Induction of Oxidative Stress is Associated With Liver Pathology in a Non-Lethal Mouse Model. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, 2019.

DA SILVA, Mariana Oliveira Lopes *et al.* Chikungunya and Mayaro Viruses Induce Chronic Skeletal Muscle Atrophy Triggered by Pro-Inflammatory and Oxidative Response. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 16, 1 ago. 2024.

DA SILVA PESSOA VIEIRA, Carla Julia *et al.* Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, Brazil. **Acta Tropica**, v. 147, 2015.

DA SILVA RODRIGUES, Érica Erlanny *et al.* The role of natural and nature-based compounds against Chikungunya and Mayaro alphaviruses and their vectors. *In: Studies in Natural Products Chemistry. [S.l.: S.n.]*. v. 68.

DE FIGUEIREDO, Mario Luis Garcia; FIGUEIREDO, Luiz Tadeu Moraes. Emerging alphaviruses in the americas: Chikungunya and mayaro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, 2014.

DE MARGARETTE OLIVEIRA DE ANDRADE, Maria *et al.* Chikungunya in Brazil: An epidemic of high cost for private healthcare, 2017. **Tropical Medicine and International Health**, v. 27, n. 10, 2022.

DE OLIVEIRA MOTA, Mânlio Tasso *et al.* **Mayaro virus: A neglected arbovirus of the Americas. Future Virology**, 2015.

DE SENA PEREIRA, Valeska S. *et al.* In vitro antiplasmodial activity, pharmacokinetic profiles and interference in isoprenoid pathway of 2-aniline-3-hydroxy-1.4-naphthoquinone derivatives. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, 2018.

DE SENA PEREIRA, Valeska Santana *et al.* Cytotoxicity, hemolysis and in vivo acute toxicity of 2-hydroxy-3-anilino-1,4-naphthoquinone derivatives. **Toxicology Reports**, v. 3, 2016.

DELANG, Leen *et al.* Mutations in the chikungunya virus non-structural proteins cause resistance to favipiravir (T-705), a broad-spectrum antiviral. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 10, 2014.

DHIMAN, Radha K. **The Green Tea Polyphenol, Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG)-One Step Forward in Antiviral Therapy Against Hepatitis C Virus.** **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, 2011.

DIAGNE, Cheikh Tidiane *et al.* **Mayaro virus pathogenesis and transmission mechanisms.** **Pathogens**, 2020.

DONALISIO, Maria Rita; FREITAS, André Ricardo Ribas; ZUBEN, Andrea Paula Bruno Von. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saude Publica**, v. 51, 2017.

EBERHARDT, Jerome *et al.* AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 61, n. 8, 2021.

ESPOSITO, Danillo Lucas Alves; FONSECA, Benedito Antonio Lopes da. **Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil?** **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 2017.

FAN, Hao *et al.* Statistical potential for modeling and ranking of protein-ligand interactions. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 12, 2011.

FERNANDES, Luciana S. *et al.* Evaluation of antiviral activity of cyclic ketones against mayaro virus. **Viruses**, v. 13, n. 11, 2021.

FERRAZ, Ariane Coelho *et al.* Virucidal activity of proanthocyanidin against Mayaro virus. **Antiviral Research**, v. 168, p. 76–81, 2019.

FIGUEIREDO, Luiz Tadeu Moraes. **Emergent arboviruses in Brazil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 2007.

FORATO, Julia *et al.* Molecular Epidemiology of Mayaro Virus among Febrile Patients, Roraima State, Brazil, 2018-2021. **Emerging Infectious Diseases**, v. 30, n. 5, p. 1013–1016, 1 maio 2024.

GALINDO, P.; SRIHONGSE, S. Transmission of arboviruses to hamsters by the bite of naturally infected Culex (Melanoconion) mosquitoes. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 16, n. 4, 1967.

GANJIAN, Niloofar; RIVIERE-CINNAMOND, Ana. Mayaro virus in Latin America and the Caribbean. **Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health**, v. 44, 2020.

GIONGO, Viveca *et al.* Antiviral potential of naphthoquinones derivatives encapsulated within liposomes. **Molecules**, v. 26, n. 21, 2021.

GIOVANNI DE-SIMONE, Salvatore. Mayaro Virus Disease. **Journal of Human Virology & Retrovirology**, v. 1, n. 3, 2 set. 2014.

GLASNER, Dustin R. *et al.* The good, the bad, and the shocking: The multiple roles of dengue virus nonstructural protein 1 in protection and pathogenesis. **Annual Review of Virology**, v. 5, 2018.

GOH, Vanessa Shi Li; MOK, Chee Keng; CHU, Justin Jang Hann. **Antiviral natural products for arbovirus infections. Molecules**, 2020.

GROOT, H.; MORALES, A.; VIDALES, H. Virus isolations from forest mosquitoes in San Vicente de Chucuri, Colombia. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 10, 1961.

GURIB-FAKIM, Ameenah. **Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular Aspects of Medicine**, 2006.

HALSEY, Eric S. *et al.* Mayaro virus infection, Amazon Basin region, Peru, 2010-2013. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 11, 2013.

HOCH, A. L. *et al.* An outbreak of Mayaro virus disease in Belterra, Brazil. III. Entomological and ecological studies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n. 3, 1981.

HUANG, Yan Jang S.; HIGGS, Stephen; VANLANDINGHAM, Dana L. **Emergence and re-emergence of mosquito-borne arboviruses. Current Opinion in Virology**, 2019.

HUSSAIN, Hidayat; GREEN, Ivan R. **Lapachol and lapachone analogs: a journey of two decades of patent research(1997-2016). Expert Opinion on Therapeutic Patents**, 2017.

IANEVSKI, Aleksandr *et al.* Novel activities of safe-in-human broad-spectrum antiviral agents. **Antiviral Research**, v. 154, 2018.

IMANISHI, Nobuko *et al.* Additional inhibitory effect of tea extract on the growth of influenza A and B viruses in MDCK cells. **Microbiology and Immunology**, v. 46, n. 7, 2002.

ISHIMARU, D.; MARCICANO, F. G. P.; REBELLO, M. A. Inhibition of Mayaro virus replication by prostaglandin A1 and B2 in Vero cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, n. 9, 1998.

JANG, Minsu *et al.* Tea Polyphenols EGCG and Theaflavin Inhibit the Activity of SARS-CoV-2 3CL-Protease in Vitro. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, 2020.

KIELIAN, Margaret; CHANEL-VOS, Chantal; LIAO, Maofu. **Alphavirus entry and membrane fusion. Viruses**, 2010.

KIM, Meehyein *et al.* Inhibition of influenza virus internalization by (-)-epigallocatechin-3-gallate. **Antiviral Research**, v. 100, n. 2, 2013.

KOLAWOLE, Olatunji *et al.* The Neglect and Fast Spread of Some Arboviruses: A Note for Healthcare Providers in Nigeria. **Diseases**, v. 6, n. 4, 2018.

KORTEMME, Tanja; BAKER, David. A simple physical model for binding energy hot spots in protein-protein complexes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 22, 2002.

LASKOWSKI, Roman A.; SWINDELLS, Mark B. LigPlot+: Multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 51, n. 10, 2011.

LAVERGNE, Anne *et al.* Mayaro virus: Complete nucleotide sequence and phylogenetic relationships with other alphaviruses. **Virus Research**, v. 117, n. 2, 2006.

LEDNICKY, John *et al.* Mayaro virus in child with acute febrile illness, Haiti, 2015. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 11, 2016.

LEVI, Laura I.; VIGNUZZI, Marco. **Arthritogenic alphaviruses: A worldwide emerging threat? Microorganisms**, 2019.

LIMA, William Gustavo *et al.* **Rate of exposure to Mayaro virus (MAYV) in Brazil between 1955 and 2018: a systematic review and meta-analysis. Archives of Virology**, 2021.

LLAMAS-GONZÁLEZ, Yessica Y. *et al.* A functional ubiquitin-proteasome system is required for efficient replication of new world mayaro and una alphaviruses. **Viruses**, v. 11, n. 4, 2019.

LONG, Kanya C. *et al.* Experimental transmission of Mayaro virus by *Aedes aegypti*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 4, 2011.

LU, Jeng Wei *et al.* Synergistic effects of combination treatment using EGCG and suramin against the chikungunya virus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 491, n. 3, 2017.

LUMSDEN, W. H. R. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953 II. General description and epidemiology. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 1, 1955.

LY, Hinh. **Ixchiq (VLA1553): The first FDA-approved vaccine to prevent disease caused by Chikungunya virus infection**. **Virulence**, 2024.

MACARIO, Anastasia *et al.* Study of lipase immobilization on zeolitic support and transesterification reaction in a solvent free-system. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 25, n. 2–4, 2007.

MACKAY, Ian M.; ARDEN, Katherine E. **Mayaro virus: a forest virus primed for a trip to the city?** **Microbes and Infection**, 2016.

MAHMOOD, Tariq; AKHTAR, Naveed; KHAN, Barkat Ali. The morphology, characteristics, and medicinal properties of *Camellia sinensis*' tea. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, n. 19, 2010.

MAIA, L. M. S. *et al.* Natural vertical infection by dengue virus serotype 4, Zika virus and Mayaro virus in *Aedes (Stegomyia) aegypti* and *Aedes (Stegomyia) albopictus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 33, n. 3, 2019.

MARINHO, Mikaela dos Santos *et al.* Development and validation of Mayaro virus with luciferase reporter genes as a tool for antiviral assays. **Heliyon**, v. 10, n. 13, p. e33885, jul. 2024.

MARQUES, Rafael Elias *et al.* **Current challenges in the discovery of treatments against Mayaro fever. Expert Opinion on Therapeutic Targets** Taylor and Francis Ltd., , 2024.

MATSUMOTO, Keiji *et al.* Effects of Green Tea Catechins and Theanine on Preventing Influenza Infection among Healthcare Workers: A Randomized Controlled Trial. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, 2011.

MATUSALI, Giulia *et al.* Tropism of the chikungunya virus. **Viruses**, v. 11, n. 2, 2019.

MENDONÇA, Diogo C. *et al.* A study of the MAYV replication cycle: Correlation between the kinetics of viral multiplication and viral morphogenesis. **Virus Research**, v. 323, 2023.

MONE, Nishigandha S. *et al.* Naphthoquinones and their derivatives: Emerging trends in combating microbial pathogens. **Coatings**, v. 11, n. 4, 2021.

MOTA, Mânlio Tasso de Oliveira *et al.* In-depth characterization of a novel live-attenuated Mayaro virus vaccine candidate using an immunocompetent mouse model of Mayaro disease. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

MOURÃO, Maria Paula Gomes *et al.* Mayaro fever in the city of manaus, Brazil, 2007-2008. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, 2012.

MUNDAY, Rex; SMITH, Barry L.; MUNDAY, Christine M. Comparative toxicity of 2-hydroxy-3-alkyl-1,4-naphthoquinones in rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 98, n. 2, p. 185–192, 1995.

MUÑOZ, Manuel; NAVARRO, Juan Carlos. Virus Mayaro: Un arbovirus reemergente en Venezuela y Latinoamérica. **Biomedica**, v. 32, n. 2, 2012.

MURAIL, Samuel *et al.* SeamDock: An Interactive and Collaborative Online Docking Resource to Assist Small Compound Molecular Docking. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, 2021.

MUSARRA-PIZZO, Maria *et al.* **Antiviral activity exerted by natural products against human viruses.** *Viruses*, 2021.

MUTRICY, Rémi *et al.* Mayaro virus infection in French Guiana, a cross sectional study 2003–2019. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 99, 2022.

NANCE, Christina L.; SIWAK, Edward B.; SHEARER, William T. Preclinical development of the green tea catechin, epigallocatechin gallate, as an HIV-1 therapy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 123, n. 2, 2009.

NATIONAL CENTER FOR COMPLEMENTARY AND INTEGRATIVE HEALTH. **Complementary, Alternative, or Integrative Health: What's In a Name?** Disponível em: <https://www.nccih.nih.gov/health/complementary-alternative-or-integrative-health-whats-in-a-name>. Acesso em: 17 maio. 2023.

NAVARRETE-ESPINOSA, Joel; GÓMEZ-DANTÉS, Héctor. Arbovirus causing hemorrhagic fever at IMSS. **Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, v. 44, n. 4, 2006.

OGUNTADE, Sofiat; RAMHARACK, Pritika; SOLIMAN, Mahmoud Es. Characterizing the ligand-binding landscape of Zika NS3 helicase-promising lead compounds as potential inhibitors. **Future Virology**, v. 12, n. 6, 2017.

PACHE, Paulo A. F. *et al.* Synthesis and Anti-Chikungunya Virus (CHIKV) Activity of Novel 1,4-Naphthoquinone Sulfonamide and Sulfonate Ester Derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 33, n. 6, p. 556–569, 1 jun. 2022.

PASCHOALINO, Marina *et al.* **An update on the development of antiviral against Mayaro virus: from molecules to potential viral targets.** *Archives of Microbiology*, 2023.

PEREIRA SERRA, Otacília *et al.* Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 1, 2016.

PIMENTEL, Edilene Pereira *et al.* Identification of Mayaro Virus Genotype D in Rondônia, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 110, n. 3, 2024.

PINHEIRO, F. P. *et al.* An outbreak of Mayaro virus disease in Belterra, Brazil. I. Clinical and virological findings. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n. 3, 1981.

POWERS, Ann M. *et al.* Genetic relationships among Mayaro and Una viruses suggest distinct patterns of transmission. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, 2006.

POWERS, John M. *et al.* Non-replicating adenovirus based mayaro virus vaccine elicits protective immune responses and cross protects against other alphaviruses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 4, 2021.

PRIYA, Telukuntla Sai *et al.* Novel α -mangostin derivatives as promising antiviral agents: Isolation, synthesis, and evaluation against chikungunya virus. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 284, p. 117227, 15 fev. 2025.

PURIFICAÇÃO, Aline D. *et al.* Unveiling the Antiviral Capabilities of Targeting Human Dihydroorotate Dehydrogenase against SARS-CoV-2. **ACS Omega**, v. 9, n. 10, 2024.

RAEKIANSYAH, Muhareva *et al.* Inhibitory effect of the green tea molecule EGCG against dengue virus infection. **Archives of Virology**, v. 163, n. 6, 2018.

RAHMAN, Md Mominur *et al.* **Naphthoquinones and derivatives as potential anticancer agents: An updated review. Chemico-Biological Interactions**, 2022.

RIBEIRO-FILHO, Helder V. *et al.* Cryo-EM structure of the mature and infective Mayaro virus at 4.4 Å resolution reveals features of arthritogenic alphaviruses. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, 2021.

ROA-LINARES, Vicky C. *et al.* Anti-herpetic, anti-dengue and antineoplastic activities of simple and heterocycle-fused derivatives of terpenyl-1,4-naphthoquinone and 1,4-anthraquinone. **Molecules**, v. 24, n. 7, 2019.

ROBINSON, D. M. *et al.* Inactivated Mayaro vaccine produced in human diploid cell cultures. **Military Medicine**, v. 141, n. 3, 1976.

ROCCHIA, W.; NESHICH, G. Electrostatic potential calculation for biomolecules - Creating a database of pre-calculated values reported on a per residue basis for all PDB protein structures. *In*: 2007.

ROH, Changhyun; JO, Sung Kee. (-)-Epigallocatechin gallate inhibits hepatitis C virus (HCV) viral protein NS5B. **Talanta**, v. 85, n. 5, 2011.

SANTIAGO, Felix W. *et al.* Long-Term Arthralgia after Mayaro Virus Infection Correlates with Sustained Pro-inflammatory Cytokine Response. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 10, 2015.

SANTOS, Leticia L. M. *et al.* Dengue, chikungunya, and Zika virus infections in Latin America and the Caribbean: a systematic review. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 47, 2023.

SATA, Naohiro *et al.* Menadione induces both necrosis and apoptosis in rat pancreatic acinar AR4-2J cells. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 23, n. 6, 1997.

SCHNEIDER, Martina *et al.* Safety and immunogenicity of a single-shot live-attenuated chikungunya vaccine: a double-blind, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. **The Lancet**, v. 401, n. 10394, 2023.

SILVA, Ana Maria Pereira da *et al.* Atividade Biológica de Naftoquinonas de Espécies de Bignoniaceae. **Revista Fitos**, 2012.

SNOUSSI, Mejdí *et al.* Lapachol and (α / β)-lapachone as inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (Mpro) and hACE-2: ADME properties, docking and dynamic simulation approaches . **Pharmacognosy Magazine**, v. 0, n. 0, 2022.

SONG, Hao *et al.* Molecular Basis of Arthritogenic Alphavirus Receptor MXRA8 Binding to Chikungunya Virus Envelope Protein. **Cell**, v. 177, n. 7, 2019.

SOUSA, Ivanildo P. *et al.* Envelope lipid-packing as a critical factor for the biological activity and stability of alphavirus particles isolated from mammalian and mosquito cells. **Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 3, 2011.

SPINDOLA, Kassia C. W. *et al.* Anti-Mayaro virus activity of Cassia australis extracts (Fabaceae, Leguminosae). **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 1, 2014.

STEINMANN, J. *et al.* **Anti-infective properties of epigallocatechin-3-gallate (EGCG), a component of green tea. British Journal of Pharmacology**, 2013.

SUBUDHI, Bharat Bhusan *et al.* **Current strategies for inhibition of Chikungunya infection. Viruses**, 2018.

TANDON, Vishnu K. *et al.* Synthesis and biological evaluation of novel 1,4-naphthoquinone derivatives as antibacterial and antiviral agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 14, 2005.

TESH, Robert B. *et al.* Mayaro Virus Disease: An Emerging Mosquito-Borne Zoonosis in Tropical South America. **Clinical Infectious Diseases**, v. 28, n. 1, p. 67–73, 1 jan. 1999.

THOMAS, Eyana *et al.* **Plant-based natural products and extracts: Potential source to develop new antiviral drug candidates. Molecules**, 2021.

VÁZQUEZ-CALVO, ángela *et al.* Antiviral properties of the natural polyphenols delphinidin and epigallocatechin gallate against the flaviviruses West Nile Virus, Zika Virus, and Dengue Virus. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JUL, 2017.

VELANKAR, Sameer *et al.* The Protein Data Bank Archive. *In: Methods in Molecular Biology*. [S.l.: S.n.]. v. 2305.

WAHID, Braira *et al.* **Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history**. *International Journal of Infectious Diseases*, 2017.

WANG, Junmei *et al.* Development and testing of a general Amber force field. *Journal of Computational Chemistry*, v. 25, n. 9, 2004.

WANG, Ying Qi *et al.* **Antiviral effects of green tea EGCG and its potential application against COVID-19**. *Molecules*, 2021.

WEAVER, Scott C. *et al.* Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. *Annual Review of Medicine*, v. 69, 2018.

WEAVER, Scott C.; REISEN, William K. Present and future arboviral threats. *Antiviral research*, v. 85, n. 2, p. 328–345, fev. 2010.

WEBER, Christopher *et al.* The green tea catechin, epigallocatechin gallate inhibits chikungunya virus infection. *Antiviral Research*, v. 113, 2015.

WEBER, Whitney C. *et al.* Mayaro virus pathogenesis and immunity in rhesus macaques. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 17, n. 11, 2023.

WEI, Lily Li Lin; TOM, Rufaro; KIM, Young Chan. **Mayaro Virus: An Emerging Alphavirus in the Americas**. *Viruses* Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 ago. 2024.

WEISBURG, Jeffrey H. *et al.* In vitro cytotoxicity of epigallocatechin gallate and tea extracts to cancerous and normal cells from the human oral cavity. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, v. 95, n. 4, 2004.

WEISE, William J. *et al.* A Novel Live-Attenuated Vaccine Candidate for Mayaro Fever. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 8, 2014.

WIGGINS, K.; EASTMOND, B.; ALTO, B. W. Transmission potential of Mayaro virus in Florida *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* mosquitoes. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 32, n. 4, 2018.

WILLIAMSON, Mike P. *et al.* Epigallocatechin gallate, the main polyphenol in green tea, binds to the T-cell receptor, CD4: Potential for HIV-1 therapy. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 118, n. 6, 2006.

WU, Ching Yi *et al.* Effects of epigallocatechin-3-gallate and acyclovir on herpes simplex virus type 1 infection in oral epithelial cells. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 120, n. 12, 2021.

XIANG, Shouyan *et al.* **Exploiting the Anticancer, Antimicrobial and Antiviral Potential of Naphthoquinone Derivatives: Recent Advances and Future Prospects.** **Pharmaceuticals** Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), , 1 mar. 2025.

XIONG, Hai Rong *et al.* The effect of emodin, an anthraquinone derivative extracted from the roots of *Rheum tanguticum*, against herpes simplex virus in vitro and in vivo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 133, n. 2, 2011.

YAMAUCHI, Rieko; SASAKI, Kaori; YOSHIDA, Kenichi. Identification of epigallocatechin-3-gallate in green tea polyphenols as a potent inducer of p53-dependent apoptosis in the human lung cancer cell line A549. **Toxicology in Vitro**, v. 23, n. 5, 2009.

ZHAO, Chunjian *et al.* In vitro evaluation of the antiviral activity of the synthetic epigallocatechin gallate analog-epigallocatechin gallate (EGCG) palmitate against porcine reproductive and respiratory syndrome virus. **Viruses**, v. 6, n. 2, 2014.

ZHONG, L. *et al.* Epigallocatechin-3-gallate opposes HBV-induced incomplete autophagy by enhancing lysosomal acidification, which is unfavorable for HBV replication. **Cell Death and Disease**, v. 6, n. 5, 2015.