# RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 06/08/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

IBILCE

Jefferson de Souza Busso

# Estudo do efeito dos derivados de chalcona no ciclo replicativo do Vírus Sincicial Respiratório humano em cultura celular

São José do Rio Preto/SP
2024

Jefferson de Souza Busso

**Estudo do efeito dos derivados de chalcona no ciclo replicativo do Vírus Sincicial Respiratório humano em cultura celular**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

**Financiadora:** FAPESP – Proc. nº 2022/01492-3
FAPESP – Proc. nº 2021/14349-1

**Orientadora:** Profª. Drª. Fátima Pereira de Souza

**Coorientador:** Prof. Dr. Ícaro Putinhon Caruso

São José do Rio Preto/SP
2024

B981e

Busso, Jefferson De Souza

Estudo do efeito dos derivados de chalcona do ciclo replicativo do Vírus Sincicial Respiratório humano em cultura celular / Jefferson De Souza Busso. -- São José do Rio Preto, 2024

79 p. : il., tabs.

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

Orientadora: Fátima Pereira de Souza

Coorientador: Ícaro Putinhon Caruso

1. Antivirais. 2. RSV. 3. Vírus respiratório. 4. Chalcona. 5. HEp-2. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Jefferson de Souza Busso

**Estudo do efeito dos derivados de chalcona no ciclo replicativo do Vírus Sincicial Respiratório humano em cultura celular**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biofísica Molecular, junto ao programa de Pós-Graduação em Biofísica Molecular, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

**Financiadora:** FAPESP – Proc. nº 2022/01492-3
FAPESP – Proc. nº 2021/14349-1

**Comissão Examinadora**

Profa. Dra. Fátima Pereira de Souza
Universidade Estadual Paulista (UNESP) – Campus de São José do Rio Preto
*Orientadora*

Prof. Dr. José Luiz Proença Modena
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
*2º Examinador*

Prof. Dr. Alexandre Tanimoto
Universidade Nove de Julho (UNINOVE)
*3º Examinador*

São José do Rio Preto/SP
6 de agosto de 2024

À minha mãe,
por todo incentivo, por acreditar em mim,
por ser a luz que guia meu caminho.

**AGRADECIMENTOS**

À prof. Fátima, que sempre esteve presente em todas as fases do desenvolvimento deste trabalho, por me oferecer apoio, soluções para contornar problemas e por me guiar nesta jornada. Obrigado professora, pela confiança em mim, que sempre me motiva a seguir a carreira de cientista.

À Jéssica, minha parceira de experimentos, que me ensinou desde a iniciação científica e ensina até hoje, pelo que aprendemos juntos, e por ser um exemplo de dedicação e parceria.

À Thainá, por todos os desabafos, discussões, risadas, companheirismo e pelo apoio que demos um ao outro. Obrigado por ser uma amiga tão incrível.

Ao Igor, por ser meu companheiro em boa parte deste processo, me ajudar em tudo que precisava e ser um amigo fiel.

À Carol, por ser uma inspiração, pelas risadas e elogios.

Aos professores Ícaro e Marcelo, pelos debates, discussões sobre física e pela cooperação entre os grupos que nos faz evoluir tanto.

Ao prof. Luis Octávio, pela colaboração com a parte química deste trabalho.

À equipe do Laboratório de Biologia Molecular e do Centro Multiusuário de Inovações em Biologia (CMIB), pela constante troca de conhecimentos e dedicação de todos que me auxiliaram durante o desenvolvimento do projeto.

Agradeço à FAPESP pela concessão da bolsa de pesquisa, sob o processo nº 2022/01492-3, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP)

Ao Programa de Inclusão Social de Jovens Talentos Pós-graduandos na Pós-graduação na UNESP, pelo financiamento por parte do período do mestrado.

À STAEPE, pela ajuda com todos os processos burocráticos.

À equipe de RMN do Laboratório Nacional de Biociências no CNPEM, Mauricio, Silvana, Irene e Gustavo, pelo treinamento em coleta e análise de metabolômica.

Aos integrantes da comissão examinadora, pela contribuição a este trabalho.

Aos meus alunos de Iniciação Científica, Julia, Laura, Beatriz, Caroline e Alexandre, por me instigarem a passar meus conhecimentos, por tudo que aprendi ao ensinar vocês.

Aos meus professores de graduação e pós-graduação, pela minha formação, por todo aprendizado, e por toda dedicação em transmitir conhecimento.

Ao Departamento de Física, por disponibilizar um ambiente de aprendizado e discussões, em especial o Barbosa, que sempre foi prestativo em tudo o que pode nos ajudar.

Ao prof. Marinônio, por disponibilizar equipamentos do laboratório de espectroscopia do Departamento de Física essenciais para este trabalho.

Ao prof. Márcio e os alunos André e Gabriel do Laboratório de Nanotecnologia, por disponibilizarem equipamentos essenciais ao estudo.

À prof. Flávia e as alunas Juliana, Stefanie, Ingrid e Julia do Laboratório de Morfologia, por todas as colaborações e trocas de conhecimento.

À prof. Karina e ao Ronaldo, pela ajuda inicial no cultivo de células e busca por novos fármacos.

Ao IBILCE, por ser um lugar único e especial, que tenho muito orgulho em fazer parte.

Aos funcionários do IBILCE, por proverem um ambiente confortável e seguro.

Ao Victor, por todos momentos bons, por ser meu alivio, por tantas reflexões, desabafos, aprendizados e abraços.

Ao Leonardo, que desde sempre é meu maior aliado, amigo e orgulho.

À minha vó, Lurdes, por sempre se preocupar com meu bem estar.

Ao meu pai, Vanderlei, por acreditar em mim e prover todo o suporte para que eu pudesse me dedicar ao que eu amo.

Á minha mãe, Rose, por dedicar sua vida a minha formação, me dar apoio, carinho, cuidados, por ser uma mãe incrível e que sempre estará presente.

“Estudar não é um ato de consumir ideias, mas de criá-las e recriá-las.”

Paulo Freire.

(FREIRE, 2011).

**RESUMO**

O Vírus Sincicial Respiratório Humano (hRSV) é o principal causador de bronquiolite e pneumonia em recém-nascidos e crianças menores de cinco anos, podendo afetar idosos e imunocomprometidos. Atualmente, a ribavirina é o único antiviral licenciado, sendo utilizada exclusivamente em casos graves devido à sua inespecificidade e aos efeitos colaterais associados. As vacinas recentemente desenvolvidas ainda são pouco distribuídas, e os anticorpos profiláticos, como Palivizumabe e Nirsevimabe, representam alternativas de alto custo. A chalcona e seus derivados possuem diversas atividades farmacológicas, com potencial ação antiviral contra várias infecções virais. Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antiviral potencial de diferentes grupos de derivados de chalcona contra a infecção por hRSV em cultura celular e elucidar seu mecanismo de ação. Trinta e uma moléculas de chalcona foram testadas em células HEp-2 em concentrações não citotóxicas antes e depois da infecção por hRSV, e sua atividade virucida foi avaliada por meio do ensaio MTT. Os derivados que apresentaram inibição viral foram investigados utilizando ensaios de redução de placas para identificar estágios específicos do ciclo viral. A avaliação das alterações metabólicas dos derivados com efeito inibitório mais promissor foi realizada por RMN $^{1}$H. Os resultados mostraram que os derivados G1543 e G1544 possuem potencial inibitório no reconhecimento de receptores celulares pela proteína de ligação G do vírus, com $EC_{50}$ estimados em 5 μM para ambos. Os derivados S1218 e V1438 apresentaram efeito inibitório na etapa de fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira, possivelmente agindo na proteína F, com $EC_{50}$ estimados em 5 e 27 μM, respectivamente. Os derivados G1541, L1323 e S1215 atuaram pós-entrada, com $EC_{50}$ estimados em 28, 10 e 12 μM, respectivamente. A análise das alterações metabólicas revelou que o derivado L1323 estimula vias do metabolismo celular durante a infecção, impedindo o brotamento de novas partículas infecciosas, enquanto o derivado G1541 pode ter como mecanismo a apoptose celular de em células infectadas por hRSV, ao desacelerar o metabolismo energético e lipídico. Conclui-se que os derivados de chalcona podem impedir a infecção por hRSV por diferentes mecanismos durante o ciclo replicativo, sendo compostos promissores no tratamento das infecções por hRSV.

**Palavras-chave:** Antivirais. RSV. Vírus Respiratório. Chalcona. HEp-2.

**ABSTRACT**

The Human Respiratory Syncytial Virus (hRSV) is the main cause of bronchiolitis and pneumonia in newborns and children under five years old, and it can also affect the elderly and immunocompromised individuals. Currently, ribavirin is the only licensed antiviral, used exclusively in severe cases due to its non-specificity and associated side effects. The recently developed vaccines are still poorly distributed, and prophylactic antibodies, such as Palivizumab and Nirsevimab, represent high-cost alternatives. Chalcone and its derivatives possess various pharmacological activities, with potential antiviral action against several viral infections. This study aimed to evaluate the potential antiviral effect of different groups of chalcone derivatives against hRSV infection in cell culture and elucidate their mechanism of action. Thirty-one chalcone molecules were tested in HEp-2 cells at non-cytotoxic concentrations before and after hRSV infection, and their virucidal activity was assessed by MTT assay. The derivatives that showed viral inhibition were investigated using plaque reduction assays to identify specific stages of the viral cycle. The evaluation of metabolic alterations of the most promising inhibitory derivatives was carried out by $^{1}H$ NMR. The results showed that the derivatives G1543 and G1544 showed inhibitory potential in the recognition of cellular receptors by the virus binding G protein, with estimated $EC_{50}$ of 5 μM for both. Derivatives S1218 and V1438 presented inhibitory effects at the stage of fusion of the viral envelope with the host cell plasma membrane, possibly acting on the F protein, with estimated $EC_{50}$ of 5 and 27 μM, respectively. The derivatives G1541, L1323, and S1215 acted post-entry, with estimated $EC_{50}$ of 28, 10, and 12 μM, respectively. The analysis of metabolic alterations revealed that the L1323 derivative stimulates cellular metabolism pathways during infection, preventing the budding of new infectious particles, while the G1541 derivative may act through the mechanism of inducing apoptosis in hRSV-infected cells by slowing down energy and lipid metabolism. It is concluded that chalcone derivatives can prevent hRSV infection through different mechanisms during the replication cycle, making them promising compounds for the treatment of hRSV infections.

**Keywords:** Antivirals. RSV. Respiratory viruses. Chalcone. HEp-2.

## LISTA DE FÍGURAS

**Fig. 1.** Organização genômica do hRSV. A sequência gênica inicia-se com as proteínas não-estruturais (NS1 e NS2), seguido pelas proteínas do nucleocapsídeo (N e P), de matriz (M), do envelope lipídico (SH, G e F) e de transcrição/replicação (M2-1/2 e L). Para cada gene, são conhecidas as sequências de nucleotídeos (nt) e aminoácidos (aa) decodificados após a tradução. A polimerase (L; do inglês "*Large protein*") é a proteína com maior número de nucleotídeos e aminoácidos, enquanto a proteína de canal iônico (SH; do inglês "*Small hydrophobic*") é a com menor número. **18**

**Figura. 2.** Organização estrutural do hRSV. A fita simples de RNA é envolvida pela nucleoproteína N, que por sua vez une-se as proteínas M2-1, P e L, constituindo o nucleocapsídeo helicoidal. No envelope lipídico, derivado da célula hospedeira, estão inseridas as proteínas F, G e SH, formando o envelope viral. A proteína M une o nucleocapsídeo ao envelope viral formando por uma matriz cilíndrica. **19**

**Figura 3.** Ciclo replicativo do Vírus Sincicial Respiratório humano. **(A)** Ancoragem e fusão com a célula hospedeira. **(B)** Replicação do material genético. **(C)** Síntese de novas proteínas virais e atuação das proteínas não-estruturais pela mitocôndria. **(D)** Processamento das proteínas de superfície pela Via de Secretora do Retículo Endoplasmático e Aparato de Golgi e acúmulo na membrana apical. **(E)** A proteína M age no núcleo para atrasar a resposta transcricional. **(F)** Montagem do vírus pela união do nucleocapsídeo ao complexo de glicoproteínas e brotamento do vírus maduro. **(G)** Propagação do vírus entre células adjacentes. **22**

**Figura 4.** Análise epidemiológica de cepas do hRSV de 2012 à 2022 na Áustria. A linha azul representa o número de casos positivos semanais. A barras indicam a porcentagem dos subgrupos A (verde) e B (azul) diagnosticados anualmente. É possível observar a alternância na prevalência dos subtipos ao longo dos anos, e o adiantamento da sazonalidade do hRSV após a pandemia em 2021. **25**

**Figura 5.** Estrutura química da molécula de chalcona. **29**

**Figura 6.** Sítios alvos e mecanismos de ação de derivados da chalcona contra vírus humanos. **30**

**Figura 7.** Estrutura química dos derivados de chalcona sintetizados. **39**

**Figura 8.** Inibição viral média dos derivados de chalcona em ensaios de **(1)** pós-infecção, **(2)** atividade virucida e **(3)** pré-infecção por 72 horas em células HEp-2. **45**

**Figura 9.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com os derivados **(A)** G1541 e **(B)** G1543 em ensaio pós-infecção, e os derivados **(C)** G1543 e **(D)** G1544 ensaio virucida, em diferentes concentrações. **48**

**Figura 10.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com os derivados **(A)** G1543 e **(B)** G1544 em ensaio adsorção, e os derivados **(C)** G1543 e **(D)** G1544 ensaio de internalização, em diferentes concentrações. **49**

**Figura 11.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com os derivados **(A)** G1541 e **(B)** G1543 em ensaio de brotamento, em diferentes concentrações. **50**

**Figura 12.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com os derivados **(A)** L1321, **(B)** L1327 e **(C)** L1323 em ensaio de pós-infecção, e o derivado **(D)** L1323 em ensaio de brotamento, em diferentes concentrações. **51**

**Figura 13.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com os derivados **(A)** S1211, **(B)** S1212, **(C)** S1215 e **(D)** S1216 no ensaio virucida, em diferentes concentrações. **52**

**Figura 14.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com os derivados **(A)** S1212 e **(B)** S1215 no ensaio de pós-infecção, em diferentes concentrações. **53**

**Figura 15.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com o derivado S1215 no ensaio de brotamento de partículas virais, em diferentes concentrações. **53**

**Figura 16.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com o derivado S1218 em ensaios **(A)** virucida, **(B)** adsorção e **(C)** internalização, em diferentes concentrações. **54**

**Figura 17.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com o derivado **(A)** V1432 em ensaio de pós tratamento, e **(B)** V1435 em ensaio virucida, em diferentes concentrações. **55**

**Figura 18.** Inibição da infecção por hRSV em células HEp-2 tratadas com o derivado V1438 em ensaios **(A)** virucida, **(B)** adsorção e **(C)** internalização, em diferentes concentrações. **56**

**Figura 19.** Metabólitos significativamente alterados em culturas de células HEp-2 durante a infecção por hRSV. O gráfico de Volcano Plot combina os resultados da Análise de Mudança de Dobras (Fold Change, FC) e do Teste t de *Student* em um único gráfico, permitindo a seleção de características significativas com base na relevância biológica e significância estatística. **58**

**Figura 20.** *Heatmap* comparativo dos perfis metabólicos de amostras de células HEp-2 sem infecção e infectadas por hRSV. As cores variam de azul (níveis mais baixos) a vermelho (níveis mais altos), indicando as concentrações relativas dos metabólitos. **60**

**Figura 21.** Análise Discriminante de Projeções Latentes (PLS-DA) do perfil metabólico durante o tratamento com L1323, utilizando os componentes principais (PC1 e PC2) para permitir a visualização das diferenças metabólicas entre os grupos. Cada ponto no gráfico representa uma amostra individual, diferenciada por cores correspondentes a cada grupo. **61**

**Figura 22.** *Heatmap* comparativo dos perfis metabólicos de amostras de células HEp-2 sem infecção e infectadas por hRSV durante o tratamento com L1323. **63**

**Figura 23.** Análise Discriminante de Projeções Latentes (PLS-DA) do perfil metabólico durante o tratamento com G1541, utilizando os componentes principais (PC1 e PC2) para permitir a visualização das diferenças metabólicas entre os grupos. Cada ponto no gráfico representa uma amostra individual, diferenciada por cores correspondentes a cada grupo. **65**

**Figura 24.** *Heatmap* comparativo dos perfis metabólicos de amostras de células HEp-2 sem infecção e infectadas por hRSV durante o tratamento com G1541. **67**

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Valores de $CC_{50}$ dos derivados de chalcona em células HEp-2 por 24, 48 e 72 h. **40**

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| **hRSV** | Vírus Sincicial Respiratório humano |
| **URTI** | Infecção no trato respiratório superior |
| **LRTI** | Infecção no trato respiratório inferior |
| **IRA** | Infecção Respiratória Aguda |
| **OMS** | Organização Mundial da Saúde |
| **HEp-2** | Célula epitelial de carcinoma de laringe humano |
| **MTT** | Thiazolyl blue tetrazolium bromide |
| **DMF** | Dimetilformamina |
| **DCM** | Diclorometano |
| **CCD** | Cromatografia de Camada Delgada |
| **DMSO** | Dimetilsulfóxido |
| **DMSO-d6** | Dimetilsulfóxido deuterado |
| **TMS** | Tetrametilsilano |
| **$CDCl_3$** | Clorofórmio deuterado |
| **HPLC-PAD** | Cromatógrafo Liquido de Alto Desempenho |
| **MeOH** | Metanol |
| **BCRJ** | Banco de células do Rio de Janeiro |
| **$CO_2$** | Gás carbônico |
| **DMEM-F12** | Dulbecco's Modified Eagle's Medium/Nutrient Mixture F-12 Ham |
| **SFB** | Soro Fetal Bovino |
| **UV-Vis** | Ultravioleta visível |
| **$CC_{50}$** | Concentração capaz de reduzir 50% das células |
| **$EC_{50}$** | Concentração capaz de inibir 50% da infecção |
| **SI** | Índice de Seletividade |
| **CMC** | Carboximetilcelulose |

## LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---|---|
| **H** | Horas |
| **Min** | Minutos |
| **°C** | Graus Celsius |
| **Nm** | Nanômetros |
| **µL** | Microlitros |
| **mL** | Mililitros |
| **Mg** | Miligramas |
| **µM** | Micromolar |
| **Pfu** | Unidades formadoras de placa |
| **MOI** | Multiplicidade de infecção |
| **G** | RCF - Aceleração da gravidade em relação a Terra |

## SUMÁRIO


**1. INTRODUÇÃO ..... 18**

**1.1. Vírus Sincicial Respiratório humano: ciclo replicativo e epidemiologia ..... 18**

**1.2. Vacinas, anticorpos monoclonais e agentes terapêuticos ..... 25**

**1.3. Potencial farmacológico dos derivados de chalcona ..... 28**

**2. OBJETIVOS ..... 32**

**2.1. Objetivo geral ..... 32**

**2.2. Objetivos específicos ..... 32**

**3. MATERIAIS E MÉTODOS ..... 33**

**3.1. Síntese dos derivados de chalcona ..... 33**

**3.2. Cultura celular e estoque viral ..... 33**

**3.3. Determinação da concentração citotóxica ($CC_{50}$) dos derivados de chalcona por ensaio colorimétrico com MTT nos períodos de 24, 48 e 72 horas ..... 34**

**3.4. Triagem do potencial anti-RSV dos derivados de chalcona em ensaios pré infecção, pós infecção e ação virucida pelo método com MTT por 72 horas ..... 35**

**3.5. Avaliação do mecanismo de ação antiviral *in vitro* dos derivados de chalcona por ensaio de placas de lise ..... 35**

3.5.1. Ensaio de adsorção de partículas virais ..... 36

3.5.2. Ensaio de internalização de partículas virais ..... 36

3.5.3. Ensaio de brotamento de partículas virais ..... 37

**3.6. Análise metabolômica por Ressonância Magnética Nuclear de prótons (RMN $^{1}H$) ..... 37**

3.6.1. Extração de metabólitos de cultura celular ..... 37

3.6.2. Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Protóns (RMN $^{1}H$) ..... 38

**4. RESULTADOS E DISCUSSÕES ..... 39**

**4.1. Derivados de chalcona ..... 39**

**4.2. Determinação do $CC_{50}$ dos derivados de chalcona em células HEp-2 ..... 39**

**4.3. Triagem do mecanismo de ação antiviral dos derivados de chalcona contra infecção por hRSV 41**

**4.4. Determinação do $EC_{50}$, IS e mecanismo de ação dos derivados de chalcona contra a infecção por hRSV ..... 44**

4.4.1. Grupo G ..... 45

4.4.2. Grupo L ..... 49

4.4.3. Grupo S ..... 50

4.4.4. Grupo V ..... 53

**4.5. Alterações metabólicas observadas em células HEp-2 infectadas por hRSV ..... 54**

4.5.1. Alterações metabólicas durante o tratamento com L1323 ..... 59

4.5.2. Alterações metabólicas durante o tratamento com G1541 ..... 62
**5. Conclusões ..... 66**
**6. ATIVIDADES ACADÊMICAS DESENVOLVIDAS DURANTE O MESTRADO ..... 67**
**7. REFERÊNCIAS ..... 69**

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Vírus Sincicial Respiratório humano: ciclo replicativo e epidemiologia

O hRSV (do inglês, "*human Respiratory Syncytial Virus*") pertencente à ordem Mononegavirales, família Pneumoviridae, gênero *Orthopneumovirus*, caracterizado por ser um vírus respiratório, envelopado, não-segmentado e com material genético constituído por uma fita simples de RNA de polaridade negativa ((-) ssRNA) (MENG *et al.,* 2014; RIMA *et al.*, 2017). Os subtipos A (hRSV-A) e B (hRSV-B) originam-se pela variabilidade antigênica na glicoproteína de superfície viral G, conservando seu genoma e estrutura viral (SATO *et al.*, 2005; TIAN *et al.,* 2017). O genoma é composto por aproximadamente 15.000 nucleotídeos, organizados em 10 genes, os quais codificam 11 proteínas que desempenham funções específicas durante o ciclo replicativo (Figura 1) (CROWE & WILLIAMS, 2014).

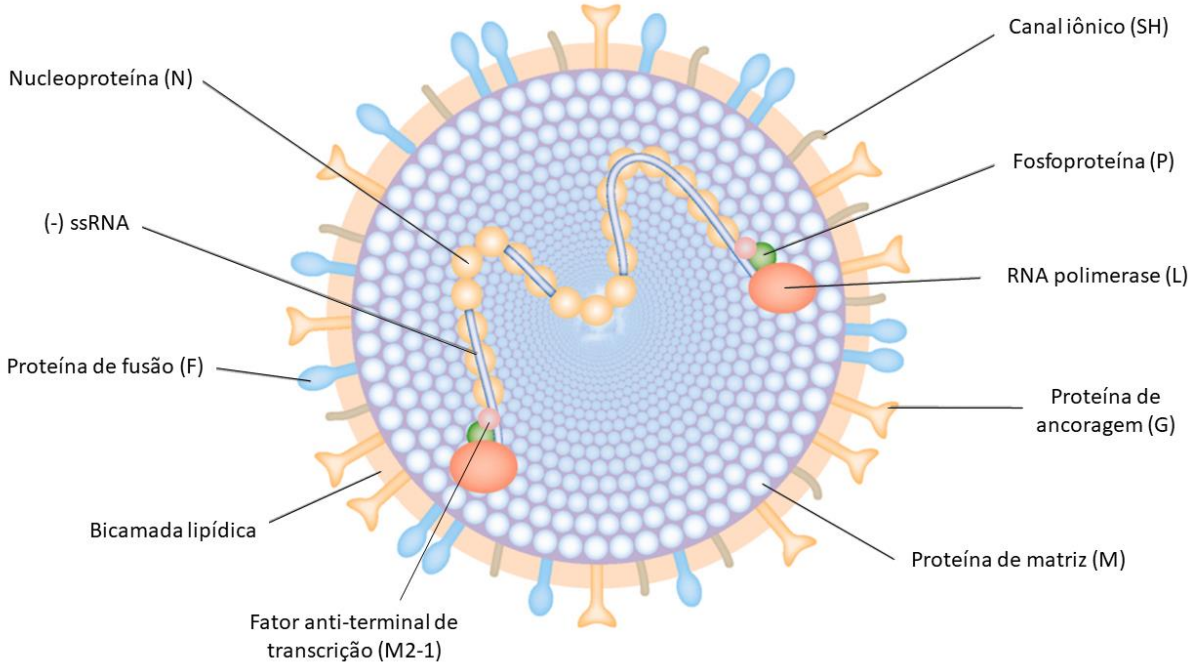
**Fig. 1.** Organização genômica do hRSV. A sequência gênica inicia-se com as proteínas não-estruturais 1 e 2 (NS1 e NS2), seguido pelas proteínas do nucleocapsídeo (N e P), de matriz (M), do envelope lipídico (SH, G e F) e de transcrição/replicação (M2-1/2 e L). Para cada gene, são conhecidas as sequências de nucleotídeos (nt) e aminoácidos (aa) decodificados após a tradução. A polimerase (L; do inglês "*Large protein*") é a proteína com maior número de nucleotídeos e aminoácidos, enquanto a proteína de canal iônico (SH; do inglês "*Small hydrophobic*") é a com menor número.

**Fonte:** LEADGENEBIO, 2023

Sua estrutura consiste em um nucleocapsídeo helicoidal envolvido por um envelope lipídico derivado da membrana plasmática da célula hospedeira, unidos por uma matriz cilíndrica ou alongada (Figura 2) (COLLINS, 1991). O material genético é protegido pelo nucleocapsídeo formado pela nucleoproteína N, envolvendo o RNA e moldando a replicação (TAWAR *et al.*, 2009). O complexo transcricional é formado pela interação entre a nucleoproteína N, a fosfoproteína P, e a polimerase L, além do fator anti-terminal de transcrição M2-1. Este fator liga a fita de RNA à proteína P, que atua como cofator transcricional, unindo-se às proteínas N e L para formar o complexo da polimerase (SELVARAG *et al.,* 2018; HU *et al.*, 2020; DECOOL *et*

*al.,* 2021; SÁ *et al.*, 2022). A replicação do material genético pelo complexo da polimerase necessita da síntese de um genoma intermediário, uma fita simples de (+) RNA (antigenoma), mediada pela proteína M2-2, que impede o reconhecimento dos códons de início e fim em cada gene (CHENG *et al.*, 2005).

**Figura. 2.** Organização estrutural do Vírus Sincicial Respiratório humano. A fita simples de RNA é envolvida pela nucleoproteína N, que por sua vez une-se as proteínas M2-1, P e L, constituindo o nucleocapsídeo helicoidal. No envelope lipídico, derivado da célula hospedeira, estão inseridas as proteínas F, G e SH, formando o envelope viral. A proteína M une o nucleocapsídeo ao envelope viral formando por uma matriz cilíndrica.




**Fonte:** Adaptado de QIU *et al.,* 2022.

No envelope lipídico, há três proteínas de superfície: as proteínas G, F e SH. A proteína G é responsável por reconhecer a célula hospedeira, a proteína F por liberar o nucleocapsídeo no citoplasma, e a proteína SH pela formação de canais iônicos (MCLELLAN *et al.,* 2013; ARAUJO *et al.,* 2016). A glicoproteína G tem a função de reconhecer os receptores celulares e ancorar a partícula infecciosa. Em seguida, a proteína de fusão F, após a clivagem da sua forma pré-fusão por enzimas proteolíticas celulares, promove a fusão do envelope com a membrana, liberando o nucleocapsídeo no citoplasma (CHANG *et al.*, 2012; McLELLAN *et al.,* 2013). As glicoproteínas de superfície passam por processamento pós-traducional, no qual utilizam-se da via secretora do retículo endoplasmático e complexo de golgi para atingir seu estado nativo (COLLINS & MOTTET, 1992). Após a secreção, as glicoproteínas acumulam-se em regiões ricas

em colesterol na membrana apical, iniciando a exocitose da membrana plasmática, formando o complexo de glicoproteínas (MCCURDY & GRAHAM, 2003; LILJEROOS *et al.*, 2013).

Casos de reinfecções por hRSV são recorrentes devido a variação antigênica na proteína G, com variabilidade de 53% dentre os subtipos A e B, e de até 20% dentre as cepas do mesmo subgrupo (SALTER *et al.*, 2011; HU *et al.,* 2020; LEE *et al.,* 2022). Diversos receptores são descritos na literatura por possibilitar sua adsorção do hRSV, como anexina II, receptor 1 de quimiocina CX3 (CX3CR1), receptor do fator de crescimento epidérmico (EGF), lectinas dependentes de cálcio, Toll-like receptor 4 (TLR4), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM-1), nucleolina e proteoglicanos de sulfato de heparan (HSPGs), sendo alguns específicos de determinadas cepas (GRIFFITHS *et al.,* 2017).

A proteína de fusão F é a proteína mais estudada do hRSV, devido ao seu potencial como alvo de vacinas, anticorpos profiláticos e agentes terapêuticos. *In vivo,* a proteína F induz anticorpos neutralizadores, além de possuir sítios-alvos para o desenvolvimento de antivirais, devido suas mudanças conformacionais durante o processo de infecção (COSTELLO *et al.,* 2012; PEEPLES, 2022). Sua estrutura funcional organiza-se em trímeros, embebida no envelope lipídico do vírus maduro em sua forma pré-fusão (F1), sendo bem conservada entre os subtipos. Na extremidade N terminal, cada subunidade F1 apresenta uma sequência peptídica hidrofóbica que se insere na membrana alvo, permitindo a fusão. Após a montagem de novas partículas virais, a proteína F promove a propagação de vírus para células vizinhas, através da fusão das membranas plasmáticas, formando células multinucleadas (SEEMUNGAL & WEDZICHA, 2003).

A proteína de matriz M é responsável por unir o envelope viral ao complexo ribonucleoproteíco no vírus maduro (COLLINS, 1991). Em sua forma oligomérica, a proteína M desempenha funções que coordenam todo o processo de montagem e brotamento de novas partículas virais, além de atrasar a resposta transcricional no núcleo da célula na fase inicial da infecção (GHILDYAL *et al.,* 2003). A proteína de matriz forma corpúsculos de inclusão para transportar o material genético e as proteínas estruturais recém-sintetizadas até a região apical da membrana onde formou-se o complexo de glicoproteínas. A proteína M agrupa-se na região do exossomo iniciado pela proteína F, unido o nucleocapsídeo para formar o vírus maduro, que brota

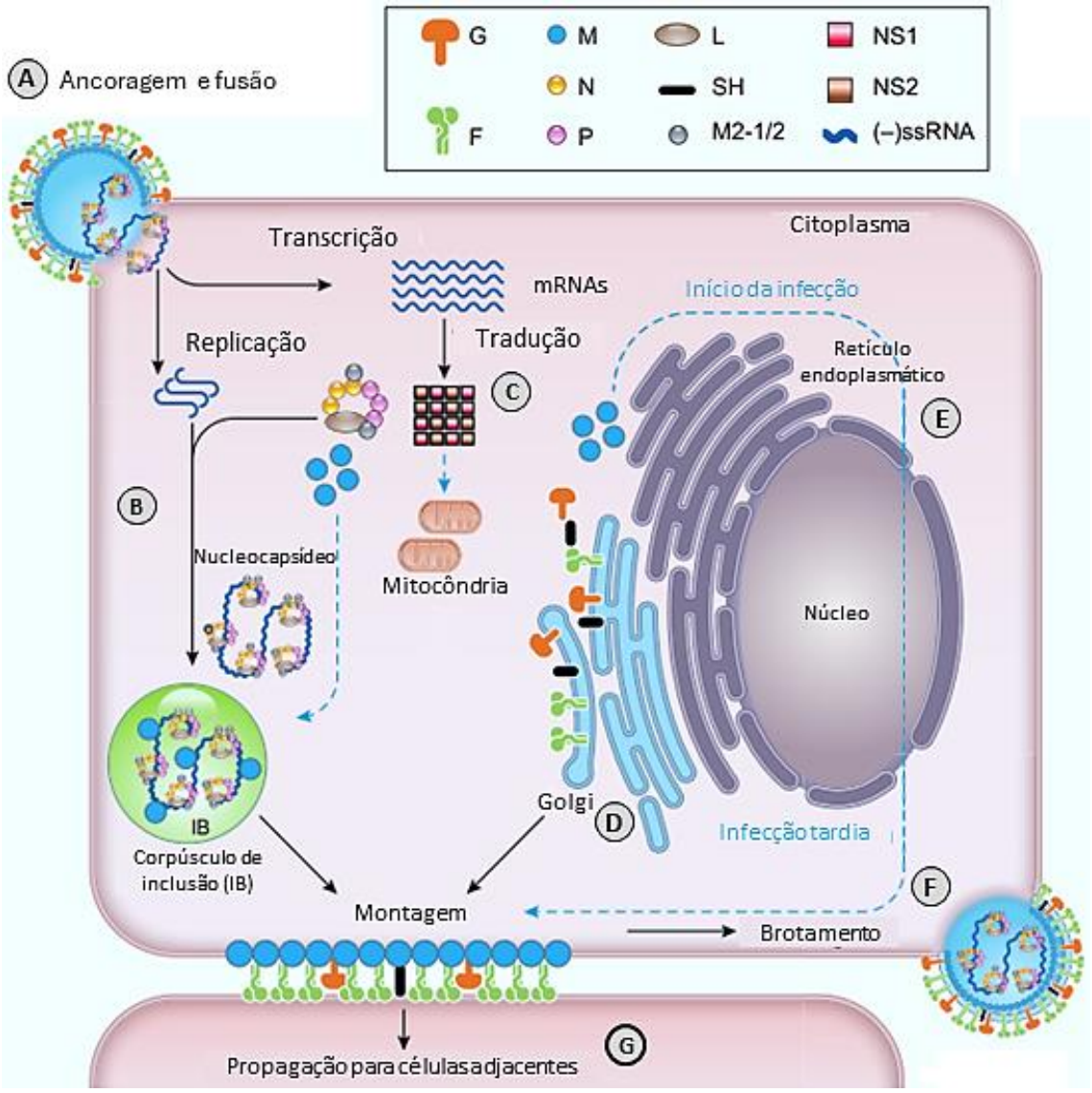
da célula hospedeira e se espalha pelo sistema respiratório (GHILDUAL *et al.,* 2002; HU *et al.,* 2020).

As proteínas não-estruturais (NS1 e NS2) são responsáveis por bloquear a resposta imunológica do organismo. Diferente das demais proteínas, as proteínas NS1 e NS2 não estão presentes no vírus maduro, sendo expressas em grande quantidade na célula hospedeira no início da infecção, atuando em suas formas monoméricas, diméricas e oligoméricas (PRETEL *et al.*, 2013). A resposta imune inata é rapidamente ativada contra a infecção, porém, a proteína NS1 interfere na via de sinalização dos interferons (INF 1), através da ligação desta proteína viral à proteína de sinalização antiviral mitocondrial (MAVS), interrompendo a interação com o gene I induzido pelo ácido retinóico (RIG-I) e o IFN à jusante e a resposta inflamatória, enquanto a NS2 é capaz de se ligar diretamente ao RIG-I para evitar sua interação com MAVS e inibir a sinalização de IFN à jusante. Adicionalmente, a proteína NS1 impede a maturação de células dendríticas e atrasa a apoptose celular, o que leva a uma resposta imunológica desregulada, causando infiltração massiva de neutrófilos e eosinófilos e a resposta imune mediada por células $T_h2$, tornando a infecção mais grave. Estes fatores impedem o estabelecimento de uma memória adequada de células T, tornando as reinfecções por hRSV possíveis ao longo da vida (BOYAPALLE *et al.,* 2012; CHATTERJEE *et al.,* 2017).

Em suma, o ciclo replicativo inicia-se quando o vírus atinge o epitélio respiratório e ancora à célula hospedeira, possibilitando a fusão do envelope viral com a membrana plasmática. A liberação do nucleocapsídeo no citoplasma inicia a replicação do material genético a partir de uma RNA intermediário (antigenoma), juntamente com a transcrição para síntese das proteínas virais, com as proteínas NS1 e NS2 senso sintetizadas abundantemente nas primeiras horas de infecção, atuando através da via de sinalização MAVS, na mitocôndria. As proteínas do envelope viral (G, F e SH) necessitam de processamento pós-traducional, utilizando a via secretora do Retículo Endoplasmático e Aparato de Golgi, e acumulando na membrana apical em regiões ricas em colesterol. O nucleocapsídeo recém-sintetizado envolvido por um corpúsculo de inclusão formando pela proteína M e transportado até a região da membrana onde formou-se o complexo de glicoproteínas, fazendo a montagem do vírus maduro. A proteína M age no núcleo celular para atrasar a resposta transcricional da células hospedeira, impedindo vias sinalizadoras no início da infecção. A propagação da infecção pode ocorrer pelo brotamento

das partículas no epitélio respiratório ou pela fusão das membranas de células adjacentes (Figura 3.) (HU *et a.l.,* 2020).

**Figura 3.** Ciclo replicativo do Vírus Sincicial Respiratório humano. **(A)** Ancoragem e fusão com a célula hospedeira. **(B)** Replicação do material genético. **(C)** Síntese de novas proteínas virais e atuação das proteínas não-estruturais pela mitocôndria. **(D)** Processamento das proteínas de superfície pela Via de Secretora do Retículo Endoplasmático e Aparato de Golgi e acúmulo na membrana apical. **(E)** A proteína M age no núcleo para atrasar a resposta transcricional. **(F)** Montagem do vírus pela união do nucleocapsídeo ao complexo de glicoproteínas e brotamento do vírus maduro. **(G)** Propagação do vírus entre células adjacentes.




**Fonte:** Adaptado de HU *et al.,* 2020.

O vírus afeta principalmente recém-nascidos, crianças (< 5 anos), idosos (> 65 anos) e imunocomprometidos. Dados epidemiológicos (2019) estimam 33 milhões de casos de infecção por hRSV anualmente em todo o mundo, com 3,6 milhões de admissões em hospital,

sendo 64% destas crianças menores de 5 anos (HALL *et al.,* 2010; LI *et al.,* 2022). Estima-se que nos primeiros meses de vida todas as crianças sejam expostas, com aproximadamente 130 mil mortes, que, em 70% dos casos, são crianças de até 5 anos. A mortalidade correlaciona-se à imaturidade pulmonar e imunológica, além de fatores externos, como aspectos climáticos e socioeconômicos, sendo prevalentes em países emergentes e em estações frias (CARROLL *et al.*, 2009; NAIR *et al.,* 2010; LI *et al.,* 2022).

Em recém-nascidos e crianças, a infecção pode acometer todo o trato respiratório, sendo sua etiologia no trato superior caracterizada por tosse, dificuldade respiratória, coriza, dispneia e febre (KIM *et al.,* 2007). A forma grave da doença ocorre quando o trato inferior é acometido, causando infecções respiratórias agudas (IRAs), sendo a bronquiolite e pneumonia as doenças mais comumente associadas (WU *et al.,* 2007). A bronquiolite pode levar à obstrução dos lúmens brônquicos, restringindo o fluxo de ar e, consequentemente, levando ao aprisionamento de gases pulmonares, taquipneia grave, expansão torácica, aumento da frequência respiratória e insuficiência pulmonar. A pneumonia ocorre pela inflamação do epitélio alveolar, dificultando as trocas gasosas e danificando o tecido pulmonar, o que pode levar a morte (SEEMUNGAL *et al.*, 2003; PICKLES & DEVICENZO, 2015; HEWITT *et al.*, 2016; HU *et al.,* 2020).

O diagnóstico clínico da infecção por hRSV é feito pela observação dos sintomas característicos, sendo o método RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) o mais adequado para confirmação da infecção, e, em casos graves, são necessários exames de imagem para avaliação do pulmão (BORCHERS *et al.,* 2013; GRIFFITHS *et al.,* 2017). Comorbidades contribuem significativamente para o desenvolvimento de IRAs, como prematuridade, baixo peso ao nascer, deficiências imunológicas, anormalidades genéticas e cromossômicas, neoplasias e má formação cardíaca ou pulmonar (GRIFFITHS *et al.,* 2017).

A exposição ao vírus na infância não garante imunização na vida adulta, sendo comuns reinfecções, frequentemente diagnosticados como resfriado comum em adultos saudáveis por acometer apenas o trato superior, causando febre leve, coriza, congestão nasal, tosse e chiado no peito, sem complicações graves, por até duas semanas (WALSH *et al.*, 2004; HABIBI *et al.*, 2015; HU *et al.*, 2020). Em idosos, a infecção é variável e inespecífica, comumente associada a doenças cardiovasculares e respiratórios preexistentes. Assim como em adultos, os sintomas são gerais para infecções respiratórias, com a possibilidade de coinfecções por outros

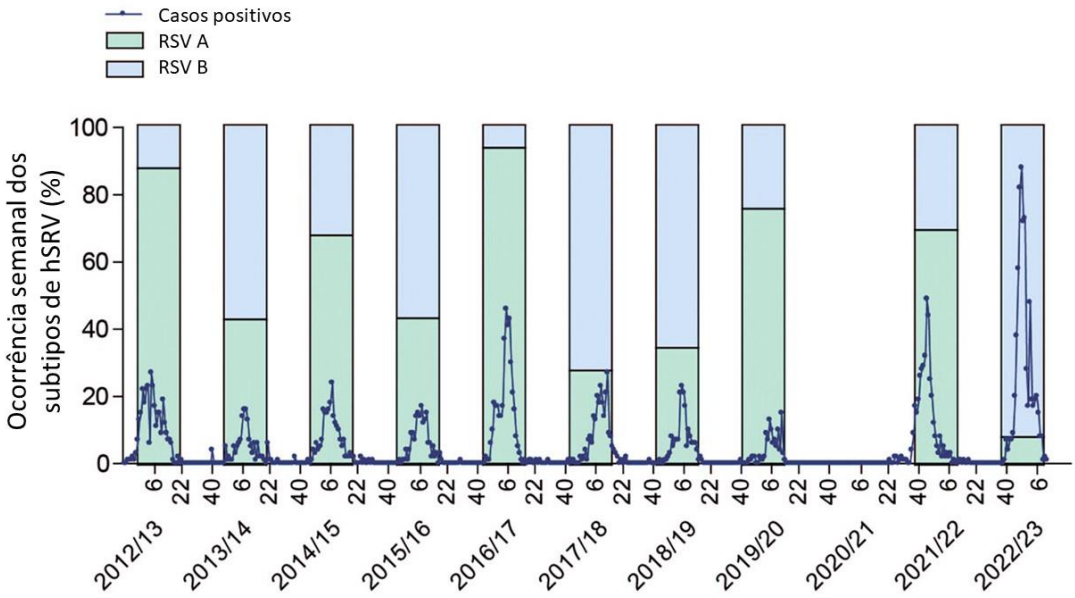
patógenos pulmonares (FALSEY & WALSH, 2012). Estima-se cerca de 16 mil mortes de idosos e imunocomprometidos anualmente em decorrência da infecção por hRSV, com maior prevalência que o vírus influenza em alguns países (THOMPSON *et al.*, 2003; VAN ASTEN *et al.,* 2012; SUNDARAM *et al.,* 2014).

A progressão para casos severos da doença pode ter efeitos a longo prazo, existindo indícios de uma correlação direta entre indivíduos que desenvolveram a IRA precocemente e o surgimento de casos de chiados ao respirar e asma na vida adulta, devido ao desenvolvimento de anormalidades funcionais nos pulmões durante o curso da infecção. Manifestações extrapulmonares, como convulsões, apnéia central, letargia, dificuldades de alimentação ou deglutição, estrabismo e encefalopatia, também estão associadas a formas graves da doença (SIGURS *et al.*, 2010; BOHMWALD *et al.,* 2016).

A transmissão ocorre através do contato com gotículas nos olhos, nariz ou boca, exigindo contato próximo com um indivíduo infectado pelo RSV ou autoinoculação pela face ou pele, através de fômites contaminados. A transmissão de gotículas pode ocorrer pelo nariz e boca de um indivíduo infectado ao tossir ou espirrar, infectando diretamente outro indivíduo ou contaminando superfícies que podem manter o vírus viável por curtos períodos (HABER, 2018; KALER *et al.*, 2023). Os subtipos A e B circulam simultaneamente, com períodos de maior prevalência para um dos subtipos, independente da região (IMAZ *et al.*, 2000). Após a pandemia de SARS-CoV-2, devido as intervenções não farmacêuticas, como uso de máscaras e isolamento social, a sazonalidade dos casos de hRSV mudou, o que resultou em epidemias “fora de época”, com alteração do subtipo predominante em alguns locais, como observado em um estudo feito na Áustria, que sofreu com epidemias de hRSV pós-pandemia (Figura 4) (REDLBERGER-FRITZ *et al.,* 2023; VIRANT *et al.,* 2023).

No Brasil, os boletins epidemiológicos nacionais de 2023 registraram 24 mil casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) em crianças de até quatro anos causadas por hRSV, resultando em 270 óbitos. Na população idosa, com idade superior a 60 anos, o vírus apresentou maior taxa de mortalidade, com 614 casos de SRAG e 129 óbitos registrados (Ministério da Saúde, 2023). Estes dados ressaltam a gravidade e o impacto do vírus nas faixas etárias mais vulneráveis, ocasionando lotações e situações de emergência em hospitais infantis durante os meses com maior incidência (FIOCRUZ, 2023; FIOCRUZ, 2024).

**Figura 4.** Análise epidemiológica de cepas do hRSV de 2012 à 2022 na Áustria. A linha azul representa o número de casos positivos semanais. A barras indicam a porcentagem dos subgrupos A (verde) e B (azul) diagnosticados anualmente. É possível observar a alternância na prevalência dos subtipos ao longo dos anos, e o adiantamento da sazonalidade do hRSV após a pandemia em 2021.




**Fonte:** Adaptado de REDLBERGER-FRITZ *et al.,* 2023

## 1.2. Vacinas, anticorpos monoclonais e agentes terapêuticos

O hRSV foi descoberto em 1956, quando duas crianças foram hospitalizadas com Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) nos Estados Unidos. Inicialmente, foram diagnosticadas com o vírus CCA (do inglês, "*Chimpazee Coriza Agent*"), identificado em populações de chimpanzés com sintomas gripais no mesmo ano. Posteriormente, devido à capacidade de formar sincícios em células epiteliais respiratórias, o vírus foi renomeado para Vírus Sincicial Respiratório (BLOUNT *et al.,* 1956; CHANOCK & FINBERG, 1957). Desde sua descoberta, o vírus apresenta desafios para desenvolvimento de vacinas, relacionado à imunização incompleta e não duradoura. A primeira tentativa ocorreu logo após sua descoberta, na década de 70, utilizando o vírus inativo com formalina para administrações de três doses em crianças pequenas, o que desencadeou manifestações mais severas da doença (KIM *et al.,* 1969). Diversos estudos concentraram-se no desenvolvimento de vacinas seguras e eficazes, com dezenove vacinas e dois candidatos a anticorpos monoclonais de nova geração em fase de teste clínico. Os alvos principais no desenvolvimento de vacinas são as glicoproteínas G e F, sendo que a F é a mais

promissora por ser mais conservada e apresentar múltiplos epítopos neutralizantes em relação à G (TALEB *et al.*, 2018; HIRVE *et al.,* 2020; PEEPLES, 2022).

Após 60 anos sem vacinas efetivas, em 2023 a FDA (Food and Drug Administration) aprovou as vacinas Abrysvo e Arenxy nos Estados Unidos. A Abrysvo, da empresa Pfizer, é uma vacina bivalente, administrada em dose única em mulheres gravidas durante a 32ª e 36º semana de gestação por via intramuscular, garantindo 69% de eficácia para o recém-nascido nos primeiros 6 meses de vida. A Arenxy, da empresa GSK (GlacoSmithKline), é voltada para imunização de idosos (> 65 anos) com 82% de eficácia na prevenção da infecção no trato respiratório inferior (TOPALIDOU *et al.,* 2023). Ambas geram poucos efeitos adversos, sendo comum fadiga, mialgia, cefaleia e artralgia, por poucos dias após a aplicação. Similarmente, a ativação da imunidade ocorre a partir da apresentação de um antígeno recombinante baseado na proteína de fusão F em sua forma de pré-fusão (RSVpreF). Para a Arenxy, administrada em dose única, é necessária a reconstrução do antígeno liofilizado por um adjuvante (AS01E) no momento da aplicação (KAMPMANN *et al.*, 2023; PAPI, 2023).

Na ausência de vacinas distribuídas globalmente, os tratamentos para as formas graves da infecção ficam restritos à anticorpos monoclonais e antivirais de amplo espectro (GRIFFITHS *et al.,* 2017). Atualmente, há dois anticorpos monoclonais humanizados disponíveis no mercado para prevenção da infecção por hRSV, o Palivizumabe (Synagis®) e Nirsevimabe (Beyfortus®), que compartilham semelhanças quanto a sua aplicação, por via intravenosa, e com poucos efeitos adversos. O antígeno para ambos anticorpos é a glicoproteína F, neutralizando e impedindo a fusão do vírus com a membrana da célula hospedeira (SUN *et al.,* 2023). A eficácia comprovada dos anticorpos monoclonais, principalmente do Palivizumabe, amplamente distribuído, torna seu uso necessário para prevenção da infecção em bebês e crianças. O desafio para o uso frequente do Palivizumabe está do seu alto custo, variando entre US$ 1.661 à US$ 2.584 por dose de acordo com o peso (15mg/Kg), por períodos mensais. Diante desse cenário, o uso de Palivizumabe fica restrito às crianças prematuras ou de até dois anos com doenças cardíacas congênitas ou pulmonares crônicas (HAMPP *et al.,* 2011; McLAURIN *et al.,* 2016; XIE *et al.,* 2019).

O Nirsevimabe, desenvolvido pela AstraZeneca, é uma variante do Palivizumabe, recentemente licenciado pela FDA nos Estados Unidos e União Europeia e pela Anvisa (Agência

Nacional de Vigilância Sanitária) no Brasil (ANVISA, 2023). Sua eficácia mostra-se significativamente maior que do Palivizumabe em testes pré-clínicos e clínicos, a partir da neutralização do sítio pré-fusão da proteína F. Seu custo é menor comparado ao Palivizumabe, em média US$ 495 por dose, administrada em dose única de 50mg (< 5 Kg) ou 100mg (> 5 Kg), nas estações em que o hRSV prevalece, com durabilidade de até 5 meses, protegendo recém-nascidos no primeiro contato com o hRSV (GRIFFIN *et al.,* 2020; ESPOSITO *et al.,* 2022; VOIRIN *et al.,* 2022). Outros dois anticorpos monoclonais, o Motavizumabe e o Suptavumabe, foram desenvolvidos a partir de variações no Palivizumabe. Entretanto, não foram licenciados no mercado devido aos efeitos adversos graves e pouca eficiência quando comparado ao Palivizumabe (CINGOZ, 2009; SIMÕES *et al.,* 2021).

A Ribavirina, um análogo de nucleotídeo (guanosina), é o único antiviral de amplo espectro licenciado para tratamento da infecção por hRSV, prescrita apenas em casos graves devido ao alto custo (US$ 169/mês) e efeitos colaterais. Seu mecanismo de ação consiste em impedir a replicação do vírus, a partir da intercalação de mRNA virais recém-sintetizados na célula hospedeira, além de atividades imunomoduladoras, como observado no tratamento da infecção por HCV (Vírus da Hepatite C), pela via de sinalização IFN-*α* (PATTERSON, 1990; STEVENSON *et al,* 2011; DOMACHOWSKE *et al.,* 2021). A administração pode ser por via oral, inalação ou intravenosa, por períodos que variam de acordo com a gravidade da infecção. Comumente, o uso de Ribavirina pode incluir outros medicamentos para amenizar os sintomas da infecção por hRSV, como broncodilatadores, corticoides, antibióticos e suporte respiratório. Dentre os efeitos colaterais, os mais comuns incluem anemia, distúrbios gastrointestinais (náusea, diarreia e dores abdominais), fadiga, anomalias hepáticas e agravamento de sintomas respiratórios, como tosse, falta de ar e chiado ao respirar, principalmente quando administrada via inalação (DOMACHOWSKE *et al.,* 2021; TEJEDA *et al.,* 2022).

Diante do uso controverso e inespecífico da Ribavirina, o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos mostra-se necessário para o tratamento de infecções por hRSV de forma segura. Com os avanços no conhecimento do ciclo replicativo e estrutura do hRSV nos últimos anos, a pesquisa de novos fármacos antivirais passou por avanços, com a descoberta de novos alvos moleculares e com o desenvolvimento da síntese orgânica, o que tem resultado em substâncias bioativas mais eficazes e/ou menos tóxicas, que podem ser utilizadas como modelos de novos fármacos (ANAND *et. al.*, 2019). Antivirais podem dirigir-se à alvos moleculares do

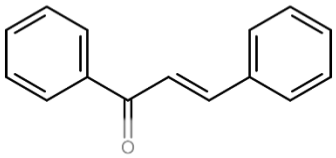
vírus ou da célula hospedeira. Quando dirigido a alvos virais, como proteínas e ácidos nucleicos, podem interferir em etapas essenciais para o sucesso da propagação da infecção no hospedeiro, como na adsorção, replicação/transcrição, maturação e brotamento de novas partículas. A ação de antivirais na célula hospedeira pode bloquear a entrada ou modular as vias metabólicas envolvidas em respostas antivirais e inflamatórias (IANEVSKI *et al.,* 2022).

Os agentes antivirais são apresentados por diversas formas moleculares, incluindo pequenas moléculas, peptídeos, anticorpos neutralizantes, interferons (IFNs), sistemas CRISPR-Cas, si/shRNA e outros polímeros de ácidos nucleicos (NAPs) (IANEVSKI *et al.,* 2022). Dentre as alternativas mais exploradas atualmente, o uso de pequenas moléculas de origem natural como agentes terapêuticos tem demonstrado resultados promissores, e serão avaliadas neste estudo.

### 1.3. Potencial farmacológico dos derivados de chalcona

Chalconas são pequenas moléculas presentes na natureza a partir do metabolismo secundário de plantas, onde desempenhando funções na pigmentação nas pétalas das flores e frutos ao expressar a cor amarela-alaranjada, e defesa contra patógenos (DIXON & PAIVA, 1995; RUDRAPAL *et al.*, 2021). Sua estrutura química consiste em dois anéis aromáticos (A e B) conectados por uma cadeia alifática de três carbonos (i.e. 1,3-difenilprop-2-en-1-ona) Figura 5, que possibilita a adição de radicais, sendo a molécula percursora da família dos flavonoides, um extenso grupo de moléculas com atividade farmacológica (LEE *et al.*, 2015; RAJENDRAN *et al.,* 2022). Sua estrutura química permite explorar modificações para o desenho de fármacos com atividades bioativas, podendo ocorrer de forma natural ou sintética (GOMES *et al.,* 2017; ZHUANG *et al.,* 2017).

**Figura 5.** Estrutura química da molécula de chalcona.




**Fonte:** Elaborado pelo autor (via SwissADME®).

As aplicações terapêuticas dos derivados de chalcona na medicina humana e animal mostraram potencial promissor para uma ampla gama de doenças, relacionadas as

propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias, antioxidantes, hepatoprotetoras, cardioprotetoras, neuroprotetoras, antidiabéticas, antiparasitárias, antimicróbicas e antivirais dessas moléculas, pela modulação de múltiplas vias de sinalização celular e processamento celular essencial (WANG *et al.,* 2020; ELKHALIFA *et al.*, 2021; SINHA *et al.,* 2022; BURGAOGLU *et al*, 2022; SANTIAGO-SILVA *et al.,* 2023).

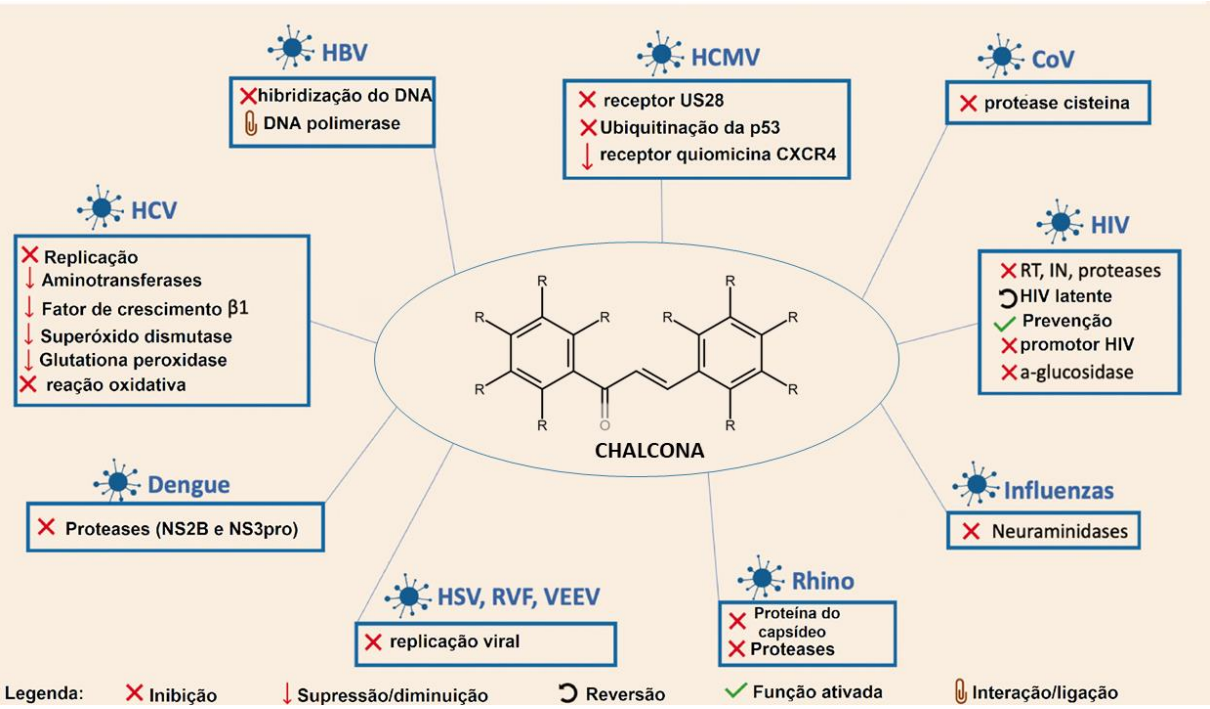
Diversos estudos evidenciam a eficiência da ação antiviral das chalconas frente a infecções virais humanas, como SARS-CoV, HIV, vírus influenza, rinovírus humano (HRV), vírus herpes simplex (HSV), vírus da dengue (DEN), citomegalovírus humano (HCMV), vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), febre do Vale do Rift (RVF) e vírus da encefalite equina venezuelana (VEEV). A Figura 6 esquematiza os alvos e mecanismos de ação antiviral de derivados de chalcona para os agentes virais mencionados (AL- NAKIB *et. al.*, 1987; LIN *et. al.*, 2005; KIAT *et. al.*, 2006; ALI *et. al.*, 2007; DAO *et. al.*, 2011; MONSERAT *et. al.*, 2011; KRALJ *et. al.*, 2013; ADIANTI *et. al.*, 2014; HAMEED *et. al.*, 2016; MATHAIYAN *et. al.*, 2018; JO *et. al.*, 2019; MATHAYAN *et. al.*, 2019; PATIL *et. al.*, 2019; ELKHALIFA *et. al.*, 2020).

Ensaios antivirais realizados com derivados de chalcona em cultura celular resultaram em diferentes mecanismos de ação a partir da inibição, supressão ou interação com diferentes alvos proteicos ou vias metabólicas celulares (ELKHALIFA *et al.*, 2021). Xanthohumol, um derivado de chalcona, teve efeito inibitório para família de Coronavírus em testes *in sílico* com células VERO-E6 (rim de macaco verde africano) infectadas com as cepas betacoronavirus (SARS-CoV-2) e alphacoronavirus (PEDV), inibindo a principal proteína ($M^{PRO}$) em ambas as cepas, que desempenha papel fundamental na replicação e transcrição viral (LIN *et al*, 2021). Em outro estudo com SARS-CoV-2, foram sintetizados e testadas a atividade antiviral de nove derivados de chalcona isolados da planta *Angelica keiskei*, conhecida como “folha do amanhã”. As atividades inibitórias substanciais de uma chalcona alquilada contra as proteases PLpro e 3CLpro possibilitou o desenvolvimento de drogas anti-SARS (PARK *et al*., 2015).

Em um estudo realizado por Dao e colaboradores, os derivados de chalcona mostraram fortes efeitos inibitórios em neuraminidases de cepas virais de influenza (H1N1, H9N2, H1N1-WT e H274Y) expressas em células 293T, isoladas de epitélio renal (DAO *et. al.*, 2011). Em outro estudo, realizado em células de carcinoma hepatocelular humano (Huh-7.5) para a busca de antivirais contra HCV (Vírus da Hepatite C), evidenciou a Licochalcona-A e Isoliquiritigenina, derivados de chalcona, como potenciais inibidores pós-infecção (ADIANTI *et. al.*, 2014). O

extrato de sementes de *Pongamia pinnata*, uma árvore comum de manguezais, inibiu a replicação do vírus da hepatite B (HBV) em células Hep-G2 (câncer de fígado humano) *in sílico*. Duas moléculas (glabaarachalcona e isopongachromene), isolados deste extrato, ligaram-se à DNA polimerase do HBV através em triagem virtual (MATHAYAN *et al.*, 2019).

**Figura 6.** Sítios alvos e mecanismos de ação de derivados da chalcona contra agentes virais.




**Fonte:** Adaptado de ELKHALIFA *et al.,* 2020.

As atividades imunorreguladoras e moduladoras de vias inflamatórias dos derivados de chalcona podem ser a chave para amenizar os sintomas causados pela infecção por hRSV, uma vez a virulência do hRSV é menor quando comparado a outros vírus respiratórios, mas o aumento da carga viral leva à uma resposta imunológica desregulada, em resposta a ação das proteínas não-estruturais (JOHNSON E GRAHAM, 1999; MCNAMARA *et al.*, 2003; DEVINCENZO *et al.*, 2010). Dentre as vias descritas, a ação de chalconas em receptores Toll-like 4 (TLR4), induzida por lipopolissacarídeo (LPS), bloqueou a fosforilação de p65/RelA NF-κB, resultando na inibição da translocação nuclear e atividade de ação de NF-κB em células microgliais BV2 (LEE *et al.,* 2012).

Pequenas moléculas de origem natural, como flavonoides, sucessores das chalconas, foram descritas como anti-RSV por modular fatores imunológicos. No estudo feito com

Baicalina em células HEp-2 (carcinoma de laringe humano), houve inibição da replicação do RSV a partir da regulação translacional positiva de interferons tipo I (IFNs), IFN-α e IFN-β, além de inibir a transcrição das proteínas não-estruturais (NS1 e Ns2) (QIN *et al.*, 2022). Em outro estudo com células HEp-2, a Luteolina inibiu a replicação do RSV, a partir da fosforilação aumentada de STAT1, resultando no aumento da produção de ISGs (genes estimuladores de interferons). Adicionalmente, a regulação negativa de SOCS1 (supressor de sinalização de citocinas), através da indução da expressão de microRNAs, aumentou seu efeito inibitório, impedindo uma resposta inflamatória desregulada (WANG *et al.,* 2020).

Diante das evidências do potencial antiviral e imunomodulador dos derivados de chalcona, e a necessidade de novos agentes terapêuticos antivirais para o tratamento seguro e eficaz contra o Vírus Sincicial Respiratório humano, este estudo buscou triar diferentes grupos de derivados de chalcona em cultura celular, a partir de testes *in vitro* e investigação dos mediadores metabólicos e proteicos, a fim de propor novos antivirais com potencial para desenvolvimento de fármacos.

## 5. CONCLUSÕES

Derivados de chalcona apresentam diferentes mecanismos antivirais contra a infecção por hRSV em células HEp-2, interferindo em várias etapas do ciclo replicativo. Os derivados G1543 e G1544 impedem o reconhecimento de receptores celulares pela proteína de superfície G do vírus, enquanto os derivados S1218 e V1438 bloqueiam a fusão do envelope viral com a membrana plasmática da célula hospedeira, impedindo a entrada do vírus. Os derivados G1541, L1323 e S1215 atuam pós-entrada. As alterações metabólicas indicam que o derivado L1323 estimula vias do metabolismo celular durante a infecção, impedindo o brotamento de novas partículas infecciosas, enquanto o derivado G1541 pode ter como mecanismo a apoptose celular de em células infectadas por hRSV, ao desacelerar o metabolismo energético e lipídico. Os derivados de chalcona apresentam efeito inibitório considerável contra a infecção por hRSV. Outras investigações poderão elucidar plenamente seus mecanismos de ação e promover o desenvolvimento de novos antivirais contra hRSV baseados nesses compostos.

# 7. REFERÊNCIAS


Agência Nacional de Vigilância Sanitária [ANVISA]. (2023). ANVISA aprova medicamento para prevenção do vírus sincicial respiratório (VSR). Recuperado de https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2023/anvisa-aprova-medicamento-para-prevencao-do-virus-sincicial-respiratorio-vsr#:~:text=O%20medicamento%20%C3%A9%20indicado%20para,A%20e%20B%20do%20VSR.

ARAUJO, G. C., SILVA, R. H., SCOTT, L. P., ARAUJO, A. S., SOUZA, F. P., & DE OLIVEIRA, R. J. (2016). Structure and functional dynamics characterization of the ion channel of the human respiratory syncytial virus (hRSV) small hydrophobic protein.

BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L., GATTO, G. J., & STRYER, L. (2019). Biochemistry (9th ed.). W. H. Freeman and Company.

BLOUNT, R. E., Jr, MORRIS, J. A., & SAVAGE, R. E. (1956). Recovery of cytopathogenic agent from chimpanzees with coryza. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, *92*(3), 544–549. https://doi.org/10.3181/00379727-92-22538

BOHMWALD, K., ESPINOZA, J. A., REY-JURADO, E., GÓMEZ, R. S., GONZÁLEZ, P. A., BUENO, S. M., RIEDEL, C. A., & KALERGIS, A. M. (2016). Human Respiratory Syncytial Virus: Infection and Pathology. *Seminars in respiratory and critical care medicine*, *37*(4), 522–537. https://doi.org/10.1055/s-0036-1584799

BOYAPALLE, S., WONG, T., GARAY, J., TENG, M., SAN JUAN-VERGARA, H., MOHAPATRA, S., & MOHAPATRA, S. (2012). Respiratory syncytial virus NS1 protein colocalizes with mitochondrial antiviral signaling protein MAVS following infection. *PloS one*, *7*(2), e29386. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029386

BOYOGLU-BARNUM, S., TODD, S. O., CHIRKOVA, T., BARNUM, T. R., GASTON, K. A., HAYNES, L. M., TRIPP, R. A., MOORE, M. L., & ANDERSON, L. J. (2015). An anti-G protein monoclonal antibody treats RSV disease more effectively than an anti-F monoclonal antibody in BALB/c mice. *Virology*, *483*, 117–125. https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.02.035

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. (2023). *Boletim Epidemiológico nº 158 - Boletim COE Coronavírus*. Brasília: Ministério da Saúde.

BURMAOGLU, S., AKTAS ANIL, D., GOBEK, A., KILIC, D., YETKIN, D., DURAN, N., & ALGUL, O. (2022). Design, synthesis and antiproliferative activity evaluation of fluorine-containing chalcone derivatives. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, *40*(8), 3525–3550. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1848627

CARROLL, K. N., WU, P., GEBRETSADIK, T., GRIFFIN, M. R., DUPONT, W. D., MITCHEL, E. F., & HARTERT, T. V. (2009). Season of infant bronchiolitis and estimates of subsequent risk and burden of early childhood asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*, *123*(4), 964–966. https://doi.org/10.1016/j.jaci.2008.12.011

CHANG, A., & DUTCH, R. E. (2012). Paramyxovirus fusion and entry: multiple paths to a common end. *Viruses*, *4*(4), 613–636. https://doi.org/10.3390/v4040613 (SH) transmembrane domain by combining molecular dynamics with excited normal modes. *Journal of molecular modeling*, *22*(12), 286. https://doi.org/10.1007/s00894-016-3150-6

CHANOCK, R., & FINBERG, L. (1957). Recovery from infants with respiratory illness of a virus related to chimpanzee coryza agent (CCA). II. Epidemiologic aspects of infection in infants and young children. *American journal of hygiene*, *66*(3), 291–300. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119902

CHATTERJEE, S., LUTHRA, P., ESAULOVA, E., AGAPOV, E., YEN, B. C., BOREK, D. M., EDWARDS, M. R., MITTAL, A., JORDAN, D. S., RAMANAN, P., MOORE, M. L., PAPPU, R. V., HOLTZMAN, M. J., ARTYOMOV, M. N., BASLER, C. F., AMARASINGHE, G. K., & LEUNG, D. W. (2017). Structural basis for human respiratory syncytial virus NS1-

mediated modulation of host responses. *Nature microbiology*, *2*, 17101. https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2017.101

CHENG, X., PARK, H., ZHOU, H., & JIN, H. (2005). Overexpression of the M2-2 protein of respiratory syncytial virus inhibits viral replication. *Journal of virology*, 79(22), 13943–13952. https://doi.org/10.1128/JVI.79.22.13943-13952.2005

CINGOZ O. (2009). Motavizumab. *mAbs*, *1*(5), 439–442. https://doi.org/10.4161/mabs.1.5.9496

COLLINS, P. L., & MOTTET, G. (1992). Oligomerization and post-translational processing of glycoprotein G of human respiratory syncytial virus: altered O-glycosylation in the presence of brefeldin A. *The Journal of general virology*, *73 ( Pt 4)*, 849–863. https://doi.org/10.1099/0022-1317-73-4-849

COLLINS, P., L. (1991). The molecular biology of human respiratory syncytial virus (RSV) of the genus Pneumovirus. In: The Paramyxoviruses, edited by Kingsbury DW. Boston, MA: Springer, p. 103–162. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7448-8_26

CONNELLY, A.R.; JEONG, B.M.; CODEN, M.E.; CAO, J.Y.; CHIRKOVA, T.; ROSAS-SALAZAR, C.; CEPHUS, J.-Y.; ANDERSON, L.J.; NEWCOMB, D.C.; HARTERT, T.V.; ET AL. Metabolic Reprogramming of Nasal Airway Epithelial Cells Following Infant Respiratory Syncytial Virus Infection. *Viruses* **2021**, *13*, 2055. https://doi.org/10.3390/v13102055

CROWE, J. E., JR., & WILLIAMS, J. V. (2014). Paramyxoviruses: Respiratory Syncytial Virus and Human Metapneumovirus. Viral Infections of Humans: Epidemiology and Control, 601–627. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7448-8_26

CUPERLOVIĆ-CULF, M., BARNETT, D. A., CULF, A. S., & CHUTE, I. (2010). Cell culture metabolomics: applications and future directions. *Drug discovery today*, *15*(15-16), 610–621. https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.06.012

CURT, M. J. C., VOICU, P. M., FONTAINE, M., DESSEIN, A. F., PORCHET, N., MENTION-MULLIEZ, K., DOBBELAERE, D., SOTO-ARES, G., CHEILLAN, D., & VAMECQ, J. (2015). Creatine biosynthesis and transport in health and disease. *Biochimie*, *119*, 146–165. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2015.10.022

DAI, P., RUAN, P., MAO, Y., TANG, Z., BAJINKA, O., WU, G., & TAN, Y. (2022). The antiviral efficacies of small-molecule inhibitors against respiratory syncytial virus based on the F protein. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, *78*(1), 169–179. https://doi.org/10.1093/jac/dkac370

DE MORAES PONTES, J. G., DOS SANTOS, R. V., & TASIC, L. (2023). NMR-Metabolomics in COVID-19 Research. *Advances in experimental medicine and biology*, *1412*, 197–209. https://doi.org/10.1007/978-3-031-28012-2_10

DE OLIVEIRA, J. R., ANTUNES, B. S., DO NASCIMENTO, G. O., KAWALL, J. C. S., OLIVEIRA, J. V. B., SILVA, K. G. D. S., COSTA, M. A. T., & OLIVEIRA, C. R. (2022). Antiviral activity of medicinal plant-derived products against SARS-CoV-2. *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, *247*(20), 1797–1809. https://doi.org/10.1177/15353702221108915

DE OLIVEIRA, L. G., DE SOUZA ANGELO, Y., YAMAMOTO, P., CARREGARI, V. C., CRUNFLI, F., REIS-DE-OLIVEIRA, G., COSTA, L., VENDRAMINI, P. H., DUQUE, É. A., DOS SANTOS, N. B., FIRMINO, E. M., PAIVA, I. M., ALMEIDA, G. M., SEBOLLELA, A., POLONIO, C. M., ZANLUQUI, N. G., DE OLIVEIRA, M. G., DA SILVA, P., DAVANZO, G. G., AYUPE, M. C., … PERON, J. P. S. (2022). SARS-CoV-2 infection impacts carbon metabolism and depends on glutamine for replication in Syrian hamster astrocytes. *Journal of neurochemistry*, *163*(2), 113–132. https://doi.org/10.1111/jnc.15679

DECOOL, H., GONNIN, L., GUTSCHE, I., SIZUN, C., ELÉOUËT, J. F., & GALLOUX, M. (2021). Interactions between the Nucleoprotein and the Phosphoprotein of Pneumoviruses: Structural Insight for Rational Design of Antivirals. Viruses, 13(12), 2449. https://doi.org/10.3390/v13122449

DEVINCENZO, J. P., WILKINSON, T., VAISHNAW, A., CEHELSKY, J., MEYERS, R., NOCHUR, S., HARRISON, L., MEEKING, P., MANN, A., MOANE, E., OXFORD, J., PAREEK, R., MOORE, R., WALSH, E., STUDHOLME, R., DORSETT, P., ALVAREZ, R., & LAMBKIN-WILLIAMS, R. (2010). Viral load drives disease in humans experimentally infected with respiratory syncytial virus. *American journal of respiratory and critical care medicine*, *182*(10), 1305–1314. https://doi.org/10.1164/rccm.201002-0221OC

DIXON, R. A., & PAIVA, N. L. (1995). Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism. The Plant cell, 7(7), 1085–1097. https://doi.org/10.1105/tpc.7.7.1085

DOMACHOWSKE, J. B., ANDERSON, E. J., & GOLDSTEIN, M. (2021). The Future of Respiratory Syncytial Virus Disease Prevention and Treatment. *Infectious diseases and therapy*, *10*(Suppl 1), 47–60. https://doi.org/10.1007/s40121-020-00383-6

ELKHALIFA, D., AL-HASHIMI, I., AL MOUSTAFA, A. E., & KHALIL, A. (2021). A comprehensive review on the antiviral activities of chalcones. *Journal of drug targeting*, *29*(4), 403–419. https://doi.org/10.1080/1061186X.2020.1853759

ESPOSITO, S., ABU RAYA, B., BARALDI, E., FLANAGAN, K., MARTINON TORRES, F., TSOLIA, M., & ZIELEN, S. (2022). RSV Prevention in All Infants: Which Is the Most Preferable Strategy? *Frontiers in immunology*, *13*, 880368. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.880368

EVERARD, M. L., SWARBRICK, A., WRIGHTHAM, M., MCINTYRE, J., DUNKLEY, C., JAMES, P. D., SEWELL, H. F., & MILNER, A. D. (1994). Analysis of cells obtained by bronchial lavage of infants with respiratory syncytial virus infection. *Archives of disease in childhood*, *71*(5), 428–432. https://doi.org/10.1136/adc.71.5.428

FALSEY, A. R., & WALSH, E. E. (2005). Respiratory syncytial virus infection in elderly adults. *Drugs & aging*, *22*(7), 577–587. https://doi.org/10.2165/00002512-200522070-00004

FIOCRUZ. (2023, abril). *InfoGripe: VSR continua sendo a maior causa de internação de crianças de até 4 anos*. Recuperado de https://portal.fiocruz.br/noticia/infogripe-vsr-continua-sendo-maior-causa-de-internacao-de-criancas-de-ate-4-anos.

FIOCRUZ. (2024, julho). *Internações de bebês no SUS por problemas respiratórios bateram recorde em 2023*. Recuperado de https://portal.fiocruz.br/noticia/2024/07/internacoes-de-bebes-no-sus-por-problemas-respiratorios-bateram-recorde-em-2023.

FÖRSTER, A., MAERTENS, G. N., FARRELL, P. J., & BAJOREK, M. (2015). Dimerization of matrix protein is required for budding of respiratory syncytial virus. *Journal of virology*, *89*(8), 4624–4635. https://doi.org/10.1128/JVI.03500-14

FREIRE, P. (2011). *Pedagogia do oprimido* (50ª ed.). Paz e Terra.

FULD, J. P., KILDUFF, L. P., NEDER, J. A., PITSILADIS, Y., LEAN, M. E., WARD, S. A., & COTTON, M. M. (2005). Creatine supplementation during pulmonary rehabilitation in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*, *60*(7), 531–537. https://doi.org/10.1136/thx.2004.030452

GHILDYAL, R., BAULCH-BROWN, C., MILLS, J., & MEANGER, J. (2003). The matrix protein of Human respiratory syncytial virus localises to the nucleus of infected cells and inhibits transcription. *Archives of virology*, *148*(7), 1419–1429. https://doi.org/10.1007/s00705-003-0112-y

GHILDYAL, R., MILLS, J., MURRAY, M., VARDAXIS, N., & MEANGER, J. (2002). Respiratory syncytial virus matrix protein associates with nucleocapsids in infected cells. *The Journal of general virology*, *83*(Pt 4), 753–757. https://doi.org/10.1099/0022-1317-83-4-753

GOMES, M. N., MURATOV, E. N., PEREIRA, M., PEIXOTO, J. C., ROSSETO, L. P., CRAVO, P. V. L., ANDRADE, C. H., & NEVES, B. J. (2017). Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *22*(8), 1210. https://doi.org/10.3390/molecules22081210

GOODWIN, C. M., XU, S., & MUNGER, J. (2015). Stealing the Keys to the Kitchen: Viral Manipulation of the Host Cell Metabolic Network. *Trends in microbiology*, *23*(12), 789–798. https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.08.007

GRIFFIN, M. P., YUAN, Y., TAKAS, T., DOMACHOWSKE, J. B., MADHI, S. A., MANZONI, P., SIMÕES, E. A. F., ESSER, M. T., KHAN, A. A., DUBOVSKY, F., VILLAFANA, T., DEVINCENZO, J. P., & Nirsevimab Study Group (2020). Single-Dose Nirsevimab for Prevention of RSV in Preterm Infants. *The New England journal of medicine*, *383*(5), 415–425. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1913556

GRIFFITHS, C. D., BILAWCHUK, L. M., MCDONOUGH, J. E., JAMIESON, K. C., ELAWAR, F., CEN, Y., DUAN, W., LIN, C., SONG, H., CASANOVA, J. L., OGG, S., JENSEN, L. D., THIENPONT, B., KUMAR, A., HOBMAN, T. C., PROUD, D., MORAES, T. J., & MARCHANT, D. J. (2020). IGF1R is an entry receptor for respiratory syncytial virus. *Nature*, *583*(7817), 615–619. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2369-7

GRIFFITHS, C., DREWS, S. J., & MARCHANT, D. J. (2017). Respiratory Syncytial Virus: Infection, Detection, and New Options for Prevention and Treatment. *Clinical microbiology reviews*, *30*(1), 277–319. https://doi.org/10.1128/CMR.00010-16

GROSFELD, H., HILL, M. G., & COLLINS, P. L. (1995). RNA replication by respiratory syncytial virus (RSV) is directed by the N, P, and L proteins; transcription also occurs under these conditions but requires RSV superinfection for efficient synthesis of full-length mRNA. *Journal of virology*, *69*(9), 5677–5686. https://doi.org/10.1128/JVI.69.9.5677-5686.1995

HABER N. (2018). Respiratory syncytial virus infection in elderly adults. *Medecine et maladies infectieuses*, *48*(6), 377–382. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.01.008

HABIBI, M. S., JOZWIK, A., MAKRIS, S., DUNNING, J., PARAS, A., DEVINCENZO, J. P., DE HAAN, C. A., WRAMMERT, J., OPENSHAW, P. J., CHIU, C., & MECHANISMS OF SEVERE ACUTE INFLUENZA CONSORTIUM INVESTIGATORS (2015). Impaired Antibody-mediated Protection and Defective IgA B-Cell Memory in Experimental Infection of Adults with Respiratory Syncytial Virus. *American journal of respiratory and critical care medicine*, *191*(9), 1040–1049. https://doi.org/10.1164/rccm.201412-2256OC

HALL C. B. (2001). Respiratory syncytial virus and parainfluenza virus. *The New England journal of medicine*, *344*(25), 1917–1928. https://doi.org/10.1056/NEJM200106213442507

HAMPP C, KAUF TL, SAIDI AS, WINTERSTEIN AG. Cost-effectiveness of Respiratory Syncytial Virus Prophylaxis in Various Indications. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2011;165(6):498–505. doi:10.1001/archpediatrics.2010.298

HAYNES, L. M., CAIDI, H., RADU, G. U., MIAO, C., HARCOURT, J. L., TRIPP, R. A., & ANDERSON, L. J. (2009). Therapeutic monoclonal antibody treatment targeting respiratory syncytial virus (RSV) G protein mediates viral clearance and reduces the pathogenesis of RSV infection in BALB/c mice. *The Journal of infectious diseases*, *200*(3), 439–447. https://doi.org/10.1086/600108

HEWITT, R., FARNE, H., RITCHIE, A., LUKE, E., JOHNSTON, S. L., & MALLIA, P. (2016). The role of viral infections in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Therapeutic advances in respiratory disease*, *10*(2), 158–174. https://doi.org/10.1177/1753465815618113

HIRVE, S., CRAWFORD, N., PALEKAR, R., ZHANG, W., & WHO RSV surveillance Group (2020). Clinical characteristics, predictors, and performance of case definition-Interim results from the WHO global respiratory syncytial virus surveillance pilot. *Influenza and other respiratory viruses*, *14*(6), 647–657. https://doi.org/10.1111/irv.12688

HONG, K. S., PAGAN, K., WHALEN, W., HARRIS, R., YANG, J., STOUT-DELGADO, H., & CHO, S. J. (2022). The Role of Glutathione Reductase in Influenza Infection. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, *67*(4), 438–445. https://doi.org/10.1165/rcmb.2021-0372OC

HSIEH H.-K., TSAO L.-T., WANG J.-P., LIN C.-N. Síntese e Efeito Antiinflamatório de Chalconas. J. Farmacêutica. Farmacol. 2000;52:163–171. doi: 10.1211/0022357001773814.

HU, M., BOGOYEVITCH, M. A., & JANS, D. A. (2020). Impact of Respiratory Syncytial Virus Infection on Host Functions: Implications for Antiviral Strategies. *Physiological reviews*, *100*(4), 1527–1594. https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2019

IANEVSKI, A., AHMAD, S., ANUNNITIPAT, K., OKSENYCH, V., ZUSINAITE, E., TENSON, T., BJØRÅS, M., & KAINOV, D. E. (2022). Seven classes of antiviral agents. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, *79*(12), 605. https://doi.org/10.1007/s00018-022-04635-1

IMAZ, M. S., SEQUEIRA, M. D., VIDELA, C., VERONESSI, I., COCIGLIO, R., ZERBINI, E., & CARBALLAL, G. (2000). Clinical and epidemiologic characteristics of respiratory syncytial virus subgroups A and B infections in Santa Fe, Argentina. *Journal of medical virology*, *61*(1), 76–80. https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9071(200005)61:1<76 aid-jmv12>3.0.co;2-p

JOHNSON, S. M., MCNALLY, B. A., IOANNIDIS, I., FLANO, E., TENG, M. N., OOMENS, A. G., WALSH, E. E., & PEEPLES, M. E. (2015). Respiratory Syncytial Virus Uses CX3CR1 as a Receptor on Primary Human Airway Epithelial Cultures. *PLoS pathogens*, *11*(12), e1005318. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005318

JOHNSON, T. R., & GRAHAM, B. S. (1999). Secreted respiratory syncytial virus G glycoprotein induces interleukin-5 (IL-5), IL-13, and eosinophilia by an IL-4-independent mechanism. *Journal of virology*, *73*(10), 8485–8495. https://doi.org/10.1128/JVI.73.10.8485-8495.1999

JONG, C. J., SANDAL, P., & SCHAFFER, S. W. (2021). The Role of Taurine in Mitochondria Health: More Than Just an Antioxidant. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *26*(16), 4913. https://doi.org/10.3390/molecules26164913

KAKKOLA, L., DENISOVA, O. V., TYNELL, J., VIILIÄINEN, J., YSENBAERT, T., MATOS, R. C., NAGARAJ, A., OHMAN, T., KUIVANEN, S., PAAVILAINEN, H., FENG, L., YADAV, B., JULKUNEN, I., VAPALAHTI, O., HUKKANEN, V., STENMAN, J., AITTOKALLIO, T., VERSCHUREN, E. W., OJALA, P. M., NYMAN, T., ... KAINOV, D. E. (2013). Anticancer compound ABT-263 accelerates apoptosis in virus-infected cells and imbalances cytokine production and lowers survival rates of infected mice. *Cell death & disease*, *4*(7), e742. https://doi.org/10.1038/cddis.2013.267

KALER, J., HUSSAIN, A., PATEL, K., HERNANDEZ, T., & RAY, S. (2023). Respiratory Syncytial Virus: A Comprehensive Review of Transmission, Pathophysiology, and Manifestation. *Cureus*, *15*(3), e36342. https://doi.org/10.7759/cureus.36342

KAMPMANN, B., MADHI, S. A., MUNJAL, I., SIMÕES, E. A. F., PAHUD, B. A., LLAPUR, C., BAKER, J., PÉREZ MARC, G., RADLEY, D., SHITTU, E., GLANTERNIK, J., SNAGGS, H., BABER, J., ZACHARIAH, P., BARNABAS, S. L., FAUSETT, M., ADAM, T., PERRERAS, N., VAN HOUTEN, M. A., KANTELE, A., ... MATISSE Study Group (2023). Bivalent Prefusion F Vaccine in Pregnancy to Prevent RSV Illness in Infants. *The New England journal of medicine*, *388*(16), 1451–1464. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2216480

KHOMENKO, T. M., SHTRO, A. A., GALOCHKINA, A. V., NIKOLAEVA, Y. V., PETUKHOVA, G. D., BORISEVICH, S. S., KORCHAGINA, D. V., VOLCHO, K. P., & SALAKHUTDINOV, N. F. (2021). Monoterpene-Containing Substituted Coumarins as Inhibitors of Respiratory Syncytial Virus (RSV) Replication. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *26*(24), 7493. https://doi.org/10.3390/molecules26247493

KIM, H. W., CANCHOLA, J. G., BRANDT, C. D., PYLES, G., CHANOCK, R. M., JENSEN, K., & PARROTT, R. H. (1969). Respiratory syncytial virus disease in infants despite prior administration of antigenic inactivated vaccine. *American journal of epidemiology*, *89*(4), 422–434. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a120955

KIM, Y. J., BOECKH, M., & ENGLUND, J. A. (2007). Community respiratory virus infections in immunocompromised patients: hematopoietic stem cell and solid organ transplant recipients, and individuals with human immunodeficiency virus infection. *Seminars in respiratory and critical care medicine*, *28*(2), 222–242. https://doi.org/10.1055/s-2007-976494

KIM, Y. J., BOECKH, M., & ENGLUND, J. A. (2007). Community respiratory virus infections in immunocompromised patients: hematopoietic stem cell and solid organ transplant recipients, and individuals with human

immunodeficiency virus infection. *Seminars in respiratory and critical care medicine*, *28*(2), 222–242. https://doi.org/10.1055/s-2007-976494

LEE, J. S., BUKHARI, S. N., & FAUZI, N. M. (2015). Effects of chalcone derivatives on players of the immune system. Drug design, development and therapy, 9, 4761–4778. https://doi.org/10.2147/DDDT.S86242

LEE, M. F., WU, Y. S., & POH, C. L. (2023). Molecular Mechanisms of Antiviral Agents against Dengue Virus. *Viruses*, *15*(3), 705. https://doi.org/10.3390/v15030705

LEE, Y. E., CHOI, O. K., BANG, S. J., CHO, H. G., LEE, H. K., HAN, B. S., LEE, S. H., CHENG, J., CHO, J. H., & SUH, J. W. (2022). Molecular epidemiological study of the G protein of human respiratory syncytial virus detected in patients with acute respiratory infections in Gyeonggi Province, South Korea. *Journal of medical virology*, *94*(2), 549–556. https://doi.org/10.1002/jmv.27431

LEE, Y. H., JEON, S. H., KIM, S. H., KIM, C., LEE, S. J., KOH, D., LIM, Y., HA, K., & SHIN, S. Y. (2012). A new synthetic chalcone derivative, 2-hydroxy-3',5,5'-trimethoxychalcone (DK-139), suppresses the Toll-like receptor 4-mediated inflammatory response through inhibition of the Akt/NF-κB pathway in BV2 microglial cells. *Experimental & molecular medicine*, *44*(6), 369–377. https://doi.org/10.3858/emm.2012.44.6.042

LI, Y., WANG, X., BLAU, D. M., CABALLERO, M. T., FEIKIN, D. R., GILL, C. J., MADHI, S. A., OMER, S. B., SIMÕES, E. A. F., CAMPBELL, H., PARIENTE, A. B., BARDACH, D., BASSAT, Q., CASALEGNO, J. S., CHAKHUNASHVILI, G., CRAWFORD, N., DANILENKO, D., DO, L. A. H., ECHAVARRIA, M., GENTILE, A., ... RESCEU investigators (2022). Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in children younger than 5 years in 2019: a systematic analysis. Lancet (London, England), 399(10340), 2047–2064. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00478-0

LI, Z., LI, B., CHEN, Z., XU, J., EL SABBAGH, A., ZHAO, Y., DU, R., RONG, L., TIAN, J., & CUI, Q. (2023). Licochalcone A plays dual antiviral roles by inhibiting RSV and protecting against host damage. *Journal of medical virology*, *95*(8), e29059. https://doi.org/10.1002/jmv.29059

LIAO, Y., TAN, R. Z., LI, J. C., LIU, T. T., ZHONG, X., YAN, Y., YANG, J. K., LIN, X., FAN, J. M., & WANG, L. (2020). Isoliquiritigenin Attenuates UUO-Induced Renal Inflammation and Fibrosis by Inhibiting Mincle/Syk/NF-Kappa B Signaling Pathway. *Drug design, development and therapy*, *14*, 1455–1468. https://doi.org/10.2147/DDDT.S243420

LILJEROOS, L., KRZYZANIAK, M. A., HELENIUS, A., & BUTCHER, S. J. (2013). Architecture of respiratory syncytial virus revealed by electron cryotomography. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *110*(27), 11133–11138. https://doi.org/10.1073/pnas.1309070110

LIN, Y., ZANG, R., MA, Y., WANG, Z., LI, L., DING, S., ZHANG, R., WEI, Z., YANG, J., & WANG, X. (2021). Xanthohumol Is a Potent Pan-Inhibitor of Coronaviruses Targeting Main Protease. *International journal of molecular sciences*, *22*(22), 12134. https://doi.org/10.3390/ijms222212134

LIU, Y., NICKLIN, P., & HE, Y. (2022). New Targets for Antiviral Therapy: Inhibitory Receptors and Immune Checkpoints on Myeloid Cells. *Viruses*, *14*(6), 1144. https://doi.org/10.3390/v14061144

LU, Y., XU, S., SUN, H., SHAN, J., SHEN, C., JI, J., LIN, L., XU, J., PENG, L., DAI, C., & XIE, T. (2023). Analysis of temporal metabolic rewiring for human respiratory syncytial virus infection by integrating metabolomics and proteomics. *Metabolomics : Official journal of the Metabolomic Society*, *19*(4), 30. https://doi.org/10.1007/s11306-023-01991-2

MAHEEN, G. & PASEK, M. A. (2021). "The Role of Glycerol and Its Derivatives in the Biochemistry of Living Organisms, and Their Prebiotic Origin and Significance in the Evolution of Life" *Catalysts* 11, no. 1: 86. https://doi.org/10.3390/catal11010086

MARTÍN-VICENTE, M., GONZÁLEZ-RIAÑO, C., BARBAS, C., JIMÉNEZ-SOUSA, M. Á., BROCHADO-KITH, O., RESINO, S., & MARTÍNEZ, I. (2020). Metabolic changes during respiratory syncytial virus infection of epithelial cells. *PloS one*, *15*(3), e0230844. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230844

MATHAYAN, M., JAYARAMAN, S., KULANTHAIVEL, L., & SURESH, A. (2019). Inhibition studies of HBV DNA polymerase using seed extracts of Pongamia pinnata. *Bioinformation*, *15*(7), 506–512. https://doi.org/10.6026/97320630015506

McCURDY, L. H., & GRAHAM, B. S. (2003). Role of plasma membrane lipid microdomains in respiratory syncytial virus filament formation. *Journal of virology*, *77*(3), 1747–1756. https://doi.org/10.1128/jvi.77.3.1747-1756.2003

MCLAURIN, K. K., FARR, A. M., WADE, S. W., DIAKUN, D. R., & STEWART, D. L. (2016). Respiratory syncytial virus hospitalization outcomes and costs of full-term and preterm infants. *Journal of perinatology: official journal of the California Perinatal Association*, *36*(11), 990–996. https://doi.org/10.1038/jp.2016.113

MCLELLAN, J. S., RAY, W. C., & PEEPLES, M. E. (2013). Structure and function of respiratory syncytial virus surface glycoproteins. *Current topics in microbiology and immunology*, *372*, 83–104. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38919-1_4

MCNAMARA, P. S., RITSON, P., SELBY, A., HART, C. A., & SMYTH, R. L. (2003). Bronchoalveolar lavage cellularity in infants with severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Archives of disease in childhood*, *88*(10), 922–926. https://doi.org/10.1136/adc.88.10.922

MENG, J., STOBART, C. C., HOTARD, A. L., & MOORE, M. L. (2014). An overview of respiratory syncytial virus. *PLoS pathogens*, *10*(4), e1004016. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004016

MORRIS, D., KHURASANY, M., NGUYEN, T., KIM, J., GUILFORD, F., MEHTA, R., GRAY, D., SAVIOLA, B., & VENKETARAMAN, V. (2013). Glutathione and infection. *Biochimica et biophysica acta*, *1830*(5), 3329–3349. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.10.012

NAGANA GOWDA, G. A., & RAFTERY, D. (2021). NMR-Based Metabolomics. *Advances in experimental medicine and biology*, *1280*, 19–37. https://doi.org/10.1007/978-3-030-51652-9_2

NAIR, H., NOKES, D. J., GESSNER, B. D., DHERANI, M., MADHI, S. A., SINGLETON, R. J., O'BRIEN, K. L., ROCA, A., WRIGHT, P. F., BRUCE, N., CHANDRAN, A., THEODORATOU, E., SUTANTO, A., SEDYANINGSIH, E. R., NGAMA, M., MUNYWOKI, P. K., KARTASASMITA, C., SIMÕES, E. A., RUDAN, I., WEBER, M. W., ... CAMPBELL, H. (2010). Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet (London, England)*, *375*(9725), 1545–1555. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60206-1

NAKHJAVANI, M., ZARGHI, A., & H SHIRAZI, F. (2014). Cytotoxicity of selected novel chalcone derivatives on human breast, lung and hepatic carcinoma cell lines. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, *13*(3), 953–958.

NELSON, D. L., & COX, M. M. (2017). Princípios de Bioquímica de Lehninger (7ª ed.). Artmed Editora.

PADUCH, R., KANDEFER-SZERSZEŃ, M., TRYTEK, M., & FIEDUREK, J. (2007). Terpenes: substances useful in human healthcare. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, *55*(5), 315–327. https://doi.org/10.1007/s00005-007-0039-1

PAPI, A., ISON, M. G., LANGLEY, J. M., LEE, D. G., LEROUX-ROELS, I., MARTINON-TORRES, F., SCHWARZ, T. F., VAN ZYL-SMIT, R. N., CAMPORA, L., DEZUTTER, N., DE SCHREVEL, N., FISSETTE, L., DAVID, M. P., VAN DER WIELEN, M., KOSTANYAN, L., HULSTRØM, V., & AReSVi-006 Study Group (2023). Respiratory Syncytial Virus Prefusion F Protein Vaccine in Older Adults. *The New England journal of medicine*, *388*(7), 595–608. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2209604

PARK, J. Y., KO, J. A., KIM, D. W., KIM, Y. M., KWON, H. J., JEONG, H. J., KIM, C. Y., PARK, K. H., LEE, W. S., & RYU, Y. B. (2016). Chalcones isolated from Angelica keiskei inhibit cysteine proteases of SARS-CoV. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, *31*(1), 23–30. https://doi.org/10.3109/14756366.2014.1003215

PATTERSON, J. L., & FERNANDEZ-LARSSON, R. (1990). Molecular mechanisms of action of ribavirin. *Reviews of infectious diseases*, *12*(6), 1139–1146. https://doi.org/10.1093/clinids/12.6.1139

PECINOVÁ, A., ALÁN, L., BRÁZDOVÁ, A., VRBACKÝ, M., PECINA, P., DRAHOTA, Z., HOUŠTĚK, J., & MRÁČEK, T. (2020). Role of Mitochondrial Glycerol-3-Phosphate Dehydrogenase in Metabolic Adaptations of Prostate Cancer. *Cells*, *9*(8), 1764. https://doi.org/10.3390/cells9081764

PEEPLES M. E. (2022). Next-generation RSV vaccines avoid flipping out. *Science translational medicine*, *14*(676), eade9984. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.ade9984

PEEPLES M. E. (2022). Next-generation RSV vaccines avoid flipping out. *Science translational medicine*, *14*(676), eade9984. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.ade9984

PICKLES, R. J., & DEVINCENZO, J. P. (2015). Respiratory syncytial virus (RSV) and its propensity for causing bronchiolitis. *The Journal of pathology*, *235*(2), 266–276. https://doi.org/10.1002/path.4462

PRETEL, E., CAMPOREALE, G., & DE PRAT-GAY, G. (2013). The non-structural NS1 protein unique to respiratory syncytial virus: a two-state folding monomer in quasi-equilibrium with a stable spherical oligomer. *PloS one*, *8*(9), e74338. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074338

QIN, S., HUANG, X., & QU, S. (2022). Baicalin Induces a Potent Innate Immune Response to Inhibit Respiratory Syncytial Virus Replication *via* Regulating Viral Non-Structural 1 and Matrix RNA. *Frontiers in immunology*, *13*, 907047. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.907047

RAJENDRAN, G., BHANU, D., ARUCHAMY, B., RAMANI, P., PANDURANGAN, N., BOBBA, K. N., OH, E. J., CHUNG, H. Y., GANGADARAN, P., & AHN, B. C. (2022). Chalcone: A Promising Bioactive Scaffold in Medicinal Chemistry. Pharmaceuticals (Basel, Switzerland), 15(10), 1250. https://doi.org/10.3390/ph15101250

REDLBERGER-FRITZ, M., SPRINGER, D. N., ABERLE, S. W., CAMP, J. V., & ABERLE, J. H. (2023). Respiratory syncytial virus surge in 2022 caused by lineages already present before the COVID-19 pandemic. *Journal of medical virology*, *95*(6), e28830. https://doi.org/10.1002/jmv.28830

RIMA, B., COLLINS, P., EASTON, A., FOUCHIER, R., KURATH, G., LAMB, R. A., LEE, B., MAISNER, A., ROTA, P., WANG, L., & ICTV REPORT CONSORTIUM (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Pneumoviridae. *The Journal of general virology*, 98(12), 2912–2913. https://doi.org/10.1099/jgv.0.000959

RUDRAPAL, M., KHAN, J., DUKHYIL, A. A. B., ALAROUSY, R. M. I. I., ATTAH, E. I., SHARMA, T., KHAIRNAR, S. J., & BENDALE, A. R. (2021). Chalcone Scaffolds, Bioprecursors of Flavonoids: Chemistry, Bioactivities, and Pharmacokinetics. Molecules (Basel, Switzerland), 26(23), 7177. https://doi.org/10.3390/molecules26237177.

SÁ, J. M., PILOTO, J. V., CILLI, E. M., TASIC, L., FOSSEY, M. A., ALMEIDA, F. C. L., SOUZA, F. P., & CARUSO, Í. P. (2022). Hesperetin targets the hydrophobic pocket of the nucleoprotein/phosphoprotein binding site of human respiratory syncytial virus. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, *40*(5), 2156–2168. https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1835717

SALTER, A., LAOI, B. N., & CROWLEY, B. (2011). Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus subgroups A and B identified in adults with hematological malignancy attending an Irish hospital between 2004 and 2009. *Journal of medical virology*, *83*(2), 337–347. https://doi.org/10.1002/jmv.21957

SANTIAGO-SILVA, K. M., DA SILVA GOMES, G. F., PEREZ, C. C., DA SILVA LIMA, C. H., & DE LIMA FERREIRA BISPO, M. (2023). Molecular Targets for Chalcones in Antileishmanial Drug Discovery. *Mini reviews in medicinal chemistry*, *23*(14), 1414–1434. https://doi.org/10.2174/1389557523666230127125058

SATO, M., SAITO, R., SAKAI, T., SANO, Y., NISHIKAWA, M., SASAKI, A., SHOBUGAWA, Y., GEJYO, F., & SUZUKI, H. (2005). Molecular epidemiology of respiratory syncytial virus infections among children with acute respiratory symptoms in a community over three seasons. *Journal of clinical microbiology*, *43*(1), 36–40. https://doi.org/10.1128/JCM.43.1.36-40.2005

SCHAFFER, S. W., AZUMA, J., & MADURA, J. D. (1995). Mechanisms underlying taurine-mediated alterations in membrane function. *Amino acids*, *8*(3), 231–246. https://doi.org/10.1007/BF00806821

SCHLATTNER, M. T., EPAND, R. F., MEILER, F., ZANDOMENEGHI, G., NEUMANN, D., WIDMER, H. R., MEIER, B. H., EPAND, R. M., SAKS, V., WALLIMANN, T., & SCHLATTNER, U. (2012). Phosphocreatine interacts with phospholipids, affects membrane properties and exerts membrane-protective effects. *PloS one*, *7*(8), e43178. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043178

SEEMUNGAL, T. A., & WEDZICHA, J. A. (2003). Viral infections in obstructive airway diseases. *Current opinion in pulmonary medicine*, *9*(2), 111–116. https://doi.org/10.1097/00063198-200303000-00004

SELVARAJ, M., YEGAMBARAM, K., TODD, E. J. A. A., RICHARD, C. A., DODS, R. L., PANGRATIOU, G. M., TRINH, C. H., MOUL, S. L., MURPHY, J. C., MANKOURI, J., ÉLÉOUËT, J. F., BARR, J. N., & EDWARDS, T. A. (2018). The Structure of the Human Respiratory Syncytial Virus M2-1 Protein Bound to the Interaction Domain of the Phosphoprotein P Defines the Orientation of the Complex. mBio, 9(6), e01554-18. https://doi.org/10.1128/mBio.01554-18

SHI, T., MCALLISTER, D. A., O'BRIEN, K. L., SIMOES, E. A. F., MADHI, S. A., GESSNER, B. D., POLACK, F. P., BALSELLS, E., ACACIO, S., AGUAYO, C., ALASSANI, I., ALI, A., ANTONIO, M., AWASTHI, S., AWORI, J. O., AZZIZ-BAUMGARTNER, E., BAGGETT, H. C., BAILLIE, V. L., BALMASEDA, A., BARAHONA, A., ... RSV GLOBAL EPIDEMIOLOGY NETWORK (2017). Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet (London, England)*, *390*(10098), 946–958. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30938-8

SIGURS, N., ALJASSIM, F., KJELLMAN, B., ROBINSON, P. D., SIGURBERGSSON, F., BJARNASON, R., & GUSTAFSSON, P. M. (2010). Asthma and allergy patterns over 18 years after severe RSV bronchiolitis in the first year of life. *Thorax*, *65*(12), 1045–1052. https://doi.org/10.1136/thx.2009.121582

SIMÕES, E. A. F., FORLEO-NETO, E., GEBA, G. P., KAMAL, M., YANG, F., CICIRELLO, H., HOUGHTON, M. R., RIDEMAN, R., ZHAO, Q., BENVIN, S. L., HAWES, A., FULLER, E. D., WLOGA, E., PIZARRO, J. M. N., MUNOZ, F. M., RUSH, S. A., MCLELLAN, J. S., LIPSICH, L., STAHL, N., YANCOPOULOS, G. D., ... SIVAPALASINGAM, S. (2021). Suptavumab for the Prevention of Medically Attended Respiratory Syncytial Virus Infection in Preterm Infants. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *73*(11), e4400–e4408. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa951

SINHA, S., MEDHI, B., RADOTRA, B. D., BATOVSKA, D. I., MARKOVA, N., BHALLA, A., & SEHGAL, R. (2022). Antimalarial and immunomodulatory potential of chalcone derivatives in experimental model of malaria. *BMC complementary medicine and therapies*, *22*(1), 330. https://doi.org/10.1186/s12906-022-03777-w

STEVENSON, N. J., MURPHY, A. G., BOURKE, N. M., KEOGH, C. A., HEGARTY, J. E., & O'FARRELLY, C. (2011). Ribavirin enhances IFN-α signalling and MxA expression: a novel immune modulation mechanism during treatment of HCV. *PloS one*, *6*(11), e27866. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027866

SUN, B. W., ZHANG, P. P., WANG, Z. H., YAO, X., HE, M. L., BAI, R. T., CHE, H., LIN, J., XIE, T., HUI, Z., YE, X. Y., & WANG, L. W. (2024). Prevention and Potential Treatment Strategies for Respiratory Syncytial Virus. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *29*(3), 598. https://doi.org/10.3390/molecules29030598

SUN, M., LAI, H., NA, F., LI, S., QIU, X., TIAN, J., ZHANG, Z., & GE, L. (2023). Monoclonal Antibody for the Prevention of Respiratory Syncytial Virus in Infants and Children: A Systematic Review and Network Meta-analysis. *JAMA network open*, *6*(2), e230023. https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.0023

SUNDARAM, M. E., MEECE, J. K., SIFAKIS, F., GASSER, R. A., JR, & BELONGIA, E. A. (2014). Medically attended respiratory syncytial virus infections in adults aged ≥ 50 years: clinical characteristics and outcomes. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, *58*(3), 342–349. https://doi.org/10.1093/cid/cit767

TALEB, S. A., AL THANI, A. A., AL ANSARI, K., & YASSINE, H. M. (2018). Human respiratory syncytial virus: pathogenesis, immune responses, and current vaccine approaches. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, *37*(10), 1817–1827. https://doi.org/10.1007/s10096-018-3289-4

TAWAR, R. G., DUQUERROY, S., VONRHEIN, C., VARELA, P. F., DAMIER-PIOLLE, L., CASTAGNÉ, N., MACLELLAN, K., BEDOUELLE, H., BRICOGNE, G., BHELLA, D., ELÉOUËT, J. F., & REY, F. A. (2009). Crystal structure of a nucleocapsidlike nucleoprotein-RNA complex of respiratory syncytial virus. *Science* (New York, N.Y.), 326(5957), 1279–1283. https://doi.org/10.1126/science.1177634

TEJADA, S., MARTINEZ-REVIEJO, R., KARAKOC, H. N., PEÑA-LÓPEZ, Y., MANUEL, O., & RELLO, J. (2022). Ribavirin for Treatment of Subjects with Respiratory Syncytial Virus-Related Infection: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Advances in therapy*, *39*(9), 4037–4051. https://doi.org/10.1007/s12325-022-02256-5

THOMPSON, W. W., SHAY, D. K., WEINTRAUB, E., BRAMMER, L., COX, N., ANDERSON, L. J., & FUKUDA, K. (2003). Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in the United States. *JAMA*, *289*(2), 179–186. https://doi.org/10.1001/jama.289.2.179

TIAN, D., BATTLES, M. B., MOIN, S. M., CHEN, M., MODJARRAD, K., KUMAR, A., KANEKIYO, M., GRAEPEL, K. W., TAHER, N. M., HOTARD, A. L., MOORE, M. L., ZHAO, M., ZHENG, Z. Z., XIA, N. S., MCLELLAN, J. S., & GRAHAM, B. S. (2017). Structural basis of respiratory syncytial virus subtype-dependent neutralization by an antibody targeting the fusion glycoprotein. *Nature communications*, 8(1), 1877. https://doi.org/10.1038/s41467-017-01858-w

TOPALIDOU, X., KALERGIS, A. M., & PAPAZISIS, G. (2023). Respiratory Syncytial Virus Vaccines: A Review of the Candidates and the Approved Vaccines. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, *12*(10), 1259. https://doi.org/10.3390/pathogens12101259

VAN ASTEN, L., BIJKERK, P., FANOY, E., VAN GINKEL, A., SUIJKERBUIJK, A., VAN DER HOEK, W., MEIJER, A., & VENNEMA, H. (2016). Early occurrence of influenza A epidemics coincided with changes in occurrence of other respiratory virus infections. *Influenza and other respiratory viruses*, *10*(1), 14–26. https://doi.org/10.1111/irv.12348

VANOVER, D., SMITH, D. V., BLANCHARD, E. L., ALONAS, E., KIRSCHMAN, J. L., LIFLAND, A. W., ZURLA, C., & SANTANGELO, P. J. (2017). RSV glycoprotein and genomic RNA dynamics reveal filament assembly prior to the plasma membrane. *Nature communications*, *8*(1), 667. https://doi.org/10.1038/s41467-017-00732-z

VIRANT, M. J., LUŠTREK, M., KOGOJ, R., PETROVEC, M., & URŠIČ, T. (2023). Changes in HRSV Epidemiology but Not Circulating Variants in Hospitalized Children due to the Emergence of SARS-CoV-2. *Viruses*, *15*(6), 1218. https://doi.org/10.3390/v15061218

VOIRIN, N., VIRLOGEUX, V., DEMONT, C., & KIEFFER, A. (2022). Potential Impact of Nirsevimab on RSV Transmission and Medically Attended Lower Respiratory Tract Illness Caused by RSV: A Disease Transmission Model. *Infectious diseases and therapy*, *11*(1), 277–292. https://doi.org/10.1007/s40121-021-00566-9

WALSH, E. E., PETERSON, D. R., & FALSEY, A. R. (2004). Risk factors for severe respiratory syncytial virus infection in elderly persons. *The Journal of infectious diseases*, *189*(2), 233–238. https://doi.org/10.1086/380907

WANG, D., LIANG, J., ZHANG, J., WANG, Y., & CHAI, X. (2020). Natural Chalcones in Chinese Materia Medica: Licorice. *Evidence-based complementary and alternative medicine*: eCAM, 2020, 3821248. https://doi.org/10.1155/2020/382124

WANG, S., LING, Y., YAO, Y., ZHENG, G., & CHEN, W. (2020). Luteolin inhibits respiratory syncytial virus replication by regulating the MiR-155/SOCS1/STAT1 signaling pathway. *Virology journal*, *17*(1), 187. https://doi.org/10.1186/s12985-020-01451-6

WU, H., PFARR, D. S., JOHNSON, S., BREWAH, Y. A., WOODS, R. M., PATEL, N. K., WHITE, W. I., YOUNG, J. F., & KIENER, P. A. (2007). Development of motavizumab, an ultra-potent antibody for the prevention of respiratory syncytial virus infection in the upper and lower respiratory tract. *Journal of molecular biology*, *368*(3), 652–665. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.02.024

WYSS, M., & KADDURAH-DAOUK, R. (2000). Creatine and creatinine metabolism. *Physiological reviews*, *80*(3), 1107–1213. https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107

XIE, Q., WANG, Z., NI, F., CHEN, X., MA, J., PATEL, N., LU, H., LIU, Y., TIAN, J. H., FLYER, D., MASSARE, M. J., ELLINGSWORTH, L., GLENN, G., SMITH, G., & WANG, Q. (2019). Structure basis of neutralization by a novel site II/IV antibody against respiratory syncytial virus fusion protein. *PloS one*, *14*(2), e0210749. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210749

XUE, C., LI, G., ZHENG, Q., GU, X., SHI, Q., SU, Y., CHU, Q., YUAN, X., BAO, Z., LU, J., & LI, L. (2023). Tryptophan metabolism in health and disease. *Cell metabolism*, *35*(8), 1304–1326. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2023.06.004

YANG, L., ZHANG, Y. B., ZHUANG, L., LI, T., CHEN, N. H., WU, Z. N., LI, P., LI, Y. L., & WANG, G. C. (2017). Diterpenoid Alkaloids from Delphinium ajacis and Their Anti-RSV Activities. *Planta medica*, *83*(1-02), 111–116. https://doi.org/10.1055/s-0042-107252

YOO, H. C., YU, Y. C., SUNG, Y., & HAN, J. M. (2020). Glutamine reliance in cell metabolism. *Experimental & molecular medicine*, *52*(9), 1496–1516. https://doi.org/10.1038/s12276-020-00504-8

ZHUANG, C., ZHANG, W., SHENG, C., ZHANG, W., XING, C., & MIAO, Z. (2017). Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical reviews*, *117*(12), 7762–7810. https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00020