



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ

Instituída pela Lei Nº 10.425 de 19/02/2002 – D.O.U. de 22/04/2002

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Campus Alto Paraopeba – Rod. MG 443, km 7, Caixa Postal 131. Ouro Branco, MG.

1

BEATRIZ MENEZES DA SILVA

**ATIVIDADE ANTIVIRAL CONTRA O VÍRUS MAYARO EM
COMPOSTOS ISOLADOS DE FOLHAS *Tontelea Micrantha***

Ouro Branco,
dezembro de 2021



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ

Instituída pela Lei Nº 10.425 de 19/02/2002 – D.O.U. de 22/04/2002

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Campus Alto Paraopeba – Rod. MG 443, km 7, Caixa Postal 131. Ouro Branco, MG.

2

Beatriz Menezes da Silva

ATIVIDADE ANTIVIRAL CONTRA O VÍRUS MAYARO EM COMPOSTOS ISOLADOS DE FOLHAS *Tontelea Micrantha*

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para a
obtenção do título de bacharel em
Engenharia de Bioprocessos, pela
Universidade Federal de São João del-Rei,
Campus Alto Paraopeba.

Orientador: Prof Dr. José Carlos de Magalhães

Ouro Branco,
dezembro de 2021



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ

Instituída pela Lei Nº 10.425 de 19/02/2002 – D.O.U. de 22/04/2002

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Campus Alto Paraopeba – Rod. MG 443, km 7, Caixa Postal 131. Ouro Branco, MG.

3

Ficha catalográfica elaborada pela Divisão de Biblioteca (DIBIB)
e Núcleo de Tecnologia da Informação (NTINF) da UFSJ,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M369 Menezes da Silva, Beatriz.
ATIVIDADE ANTIVIRAL CONTRA O VÍRUS MAYARO EM
COMPOSTOS ISOLADOS DE FOLHAS Tontelea Micrantha /
Beatriz Menezes da Silva ; orientador José Carlos de
Magalhães. -- Ouro Branco, 2021.
21 p.

Trabalho de Conclusão (Graduação - Engenharia de
Bioprocessos) -- Universidade Federal de São João
del-Rei, 2021.

1. Virologia . 2. Mayaro virus. I. de Magalhães,
José Carlos, orient. II. Título.

BEATRIZ MENEZES DA SILVA



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ

Instituída pela Lei Nº 10.425 de 19/02/2002 – D.O.U. de 22/04/2002

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

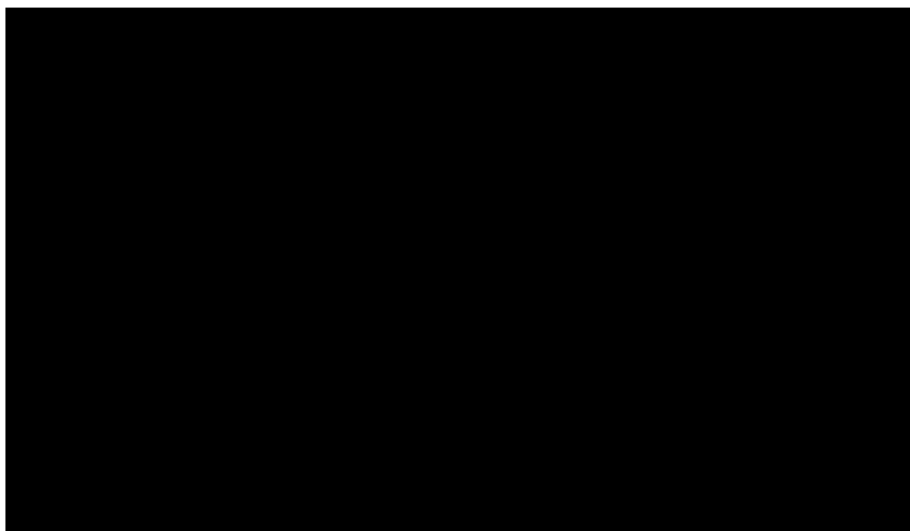
Campus Alto Paraopeba – Rod. MG 443, km 7, Caixa Postal 131. Ouro Branco, MG.

4

ATIVIDADE ANTIVIRAL CONTRA O VÍRUS MAYARO EM COMPOSTOS ISOLADOS DE FOLHAS *Tontelea Micrantha*

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial para a
obtenção do título de bacharel em
Engenharia de Bioprocessos, pela
Universidade Federal de São João del-Rei,
Campus Alto Paraopeba.

Orientador: Prof Dr. José Carlos de Magalhães



Ouro Branco, 08 de dezembro de 2022

RESUMO

O *Mayaro virus* (MAYV) pertence à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus* e faz parte do grupo dos arbovírus que possuem como vetores os artrópodes. O MAYV causa a Febre Mayaro, que possui um diagnóstico difícil pelo fato de apresentar sintomas parecidos com os de outras arboviroses como Dengue, febre amarela e Zika. Depois de um aumento nos casos em algumas regiões metropolitanas do Brasil nos últimos anos, esse vírus foi considerado emergente. Não existem vacinas ou tratamento para combater a febre Mayaro, o que justifica a busca e o desenvolvimento de antivirais. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito citotóxico realizar a prospecção de atividade antiviral em compostos isolados de *Tontelea Micrantha* contra o MAYV. Primeiramente, foi realizado o ensaio de citotoxicidade para determinar a concentração citotóxica para 50% das células hospedeiras (CC₅₀). As células de rim de macaco, Vero, foram implantadas em placas de 96 poços (4x10⁵ células/poço), tratadas com diferentes concentrações dos compostos e incubadas por 48 horas. A revelação foi feita pelo método do metil-tiazol-tetrazólio (MTT). Os valores da CC₅₀ para os compostos TME, TMF, TMG e TMH foram 4.053,72, 464,93, 722,12 e 914,5 µg/mL, respectivamente. Foi possível avaliar que nenhum dos compostos se mostrou tóxico às células. Para o ensaio antiviral, as mesmas células Vero, implantadas em microplacas (4x10⁵ células/poço), infectadas com o MAYV (título viral 8,9x10⁸/Unidades Formadoras de Placas/UFP/mL) e tratadas os compostos, foram avaliadas após 48 horas de infecção. A concentração dos compostos, capaz de proteger 50% das células da infecção (CE₅₀) foi determinada. Os valores encontrados da CE₅₀ para os compostos TME, TMF, TMG e TMH foram de 406,17, 410,64, 554,59 e 8,43µg/mL, respectivamente. Pela relação CC₅₀/CE₅₀, foi determinado o índice de seletividade (IS), e os compostos TME e TMH, com IS acima de 4, de acordo com a literatura, mostraram potencial antiviral. A mesma ação seletiva antiviral não foi observada para os compostos TMF e TMG. Pode-se concluir que extratos da planta objeto do estudo apresentam promissora ação antiviral em alguns de seus compostos. Caracterização mais detalhada desses compostos e mecanismos de ação têm sido objeto de estudo no grupo de pesquisa.

Palavras chave: Mayaro, citotoxicidade, antiviral.

ABSTRACT

Mayaro virus belongs to the family *Togaviridae* and to the Alphavirus gender, and is part of the arbovirus group that has arthropods as vectors. The *Mayaro virus* causes the Mayaro Fever, that has a difficult diagnosis due to the fact that it has similar symptoms with other arboviruses like Dengue and Zika. After an increase in cases in metropolitan areas, this virus was considered emerging. There are no vaccines to prevent and no treatment to fight the disease, that is why it's important to develop this research. Thus, we sought to research the antiviral activity of isolates of *Tontelea Micrantha*. Before the antiviral activity assay, the cytotoxicity assay was performed to determine the cytotoxic concentration of 50% of the cells CC_{50} . To perform the tests, Vero cells were added to 96-well plates and distributed so that a concentration could be 4×10^5 cells/well and after 24 hours the compounds were added to treat the cells and the plates were incubated for 48 hours. Plates reading were performed using the MTT method. The concentrations of CC_{50} for the compounds TME, TMF, TMG and TMH were respectively 4.053,72 $\mu\text{g/mL}$, 464,93 $\mu\text{g/mL}$, 722,12 $\mu\text{g/mL}$, 914,5 $\mu\text{g/mL}$, with these values it was possible to evaluate that none of the compounds was cytotoxic to the cells. For the antiviral activity assay, Vero cells were added to 96-well plates and distributed so that they would be at a concentration of 4×10^5 cells/well and after 24 hours the compounds and 100 μL of virus were added and the plates were incubated for 48 hours. Plates reading were performed using the MTT method. The effective protective concentration for 50% of the cells (CE_{50}) for the compounds TME, TMF, TMG e TMH were respectively 406,17 $\mu\text{g/mL}$, 410,64 $\mu\text{g/mL}$, 554,59 $\mu\text{g/mL}$ and 8,43 $\mu\text{g/mL}$. The selectivity indices obtained for the compounds TME and TMH were greater than 4, which indicates that they have no antiviral potential, while for the compounds TMF and TMG the selectivity indices were below 4, which indicates that there is lower inhibitory action than the cytotoxic action. It was concluded that extracts of the plant under study have promising antiviral action on some of these compounds. The more detailed characterization of these isolates regarding the antiviral action will also be the subject of new studies in the group.

Keywords: Mayaro, cytotoxicity, antiviral.



LISTA DE ABREVIATURAS

MAYV – *Mayaro virus*

μ - Micro

CC₅₀ - Concentração citotóxica para 50% das células

CE₅₀ - Concentração protetiva para 50% das células

IS₅₀ – Índice de seletividade para 50% das células

CMC – Carboximetilcelulose

SBF – Soro fetal bovino

UFP – Unidades formadoras de placas

DMSO – Dimetil Sulfóxido

MTT – Brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol

PBS – Tampão fosfato-salino

TME - 3-oxo-30-hidroxifriedelano

TMF - 3,2i-dioxofriedelano

TMG - 3-oxo-28-oxofriedelanal

TMH - 3-oxo-28-hidroxifriedelano

m/v – Porcentagem massa/volume

v/v – Porcentagem volume/volume



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ

Instituída pela Lei Nº 10.425 de 19/02/2002 – D.O.U. de 22/04/2002

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Campus Alto Paraopeba – Rod. MG 443, km 7, Caixa Postal 131. Ouro Branco, MG.

8

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Resultado do ensaio de citotoxicidade ----- 17



Universidade Federal
de São João del-Rei

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL-REI – UFSJ

Instituída pela Lei Nº 10.425 de 19/02/2002 – D.O.U. de 22/04/2002

CURSO DE ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS

Campus Alto Paraopeba – Rod. MG 443, km 7, Caixa Postal 131. Ouro Branco, MG.

9

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentração citotóxica dos compostos para 50% das células -----	16
Tabela 2 - Concentração protetora dos compostos para 50% das células em µg/mL -----	18
Tabela 3 - Índice de seletividade expresso em CC_{50}/CE_{50} -----	18



SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo geral.....	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1. O vírus Mayaro	12
3.2. A família Celastraceae	13
4. METODOLOGIA.....	14
4.1. Compostos de <i>Tontelea micrantha</i>	14
4.2. Vírus Mayaro	14
4.3. Células Vero	14
4.4. Ensaio de citotoxicidade.....	14
4.5. Ensaio de atividade antiviral	15
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5.1. Ensaio citotoxicidade	16
5.2. Ensaio de atividade antiviral	17
6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS.....	19
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

1. INTRODUÇÃO

O *Mayaro virus* (MAYV) isolado pela primeira vez em 1954 de trabalhadores rurais infectados, é um vírus da Família *Togaviridae*, Gênero *Alphavirus* e pertence ao grupo dos *Arbovírus* (*Arthropod-Born-Virus*), sendo transmitidos por artrópodes. O MAYV é o causador da Febre Mayaro, era considerado um vírus de circulação tipicamente de zonas de florestas úmidas da América do Sul. Porém, nos últimos anos, foram apresentados relatos de surtos humanos e zoonoses da Febre Mayaro em algumas regiões metropolitanas, principalmente da região centro oeste do país, levando-o ao conceito de vírus emergente (MOURÃO *et al.*, 2012; FIGUEIREDO, 2007; TESH *et al.*, 1999; SANTOS, 2020 ^D).

A Febre Mayaro possui sintomas similares aos da Chikungunya, Zika e a outras arboviroses, sendo eles cefaleia, mialgias, calafrios, náusea, dor ocular, erupções cutâneas. A Febre tem sua fase aguda entre 3 e 5 dias após a infecção. Devido à similaridade sintomática, o diagnóstico preciso da infecção fica comprometido, uma vez que não possui teste específico para tal virose e, portanto, a quantificação dos casos torna-se ainda mais complicada (TESH *et al.*, 1999).

Como outras arboviroses, a Febre Mayaro ainda não possui vacinas ou tratamento antiviral, há o uso de analgésicos simples e/ou anti-inflamatórios sem esteroides para tratamento sintomático. O desenvolvimento de fármacos para o tratamento da doença é de extrema importância, visto que o vírus é classificado como emergente e é um caso de saúde pública (SANTOS, 2017 ^C).

O tratamento de doenças utilizando plantas medicinais vem crescendo cada vez mais, devido as plantas sintetizarem substâncias com grandes propriedades farmacológicas. As plantas da família *Celastraceae* apresenta 85 gêneros e cerca de 900 espécies, geralmente encontradas no Cerrado brasileiro. As espécies do gênero *Tontelea* têm sido utilizadas como tratamento medicinal, os extratos alcoólicos da casca do seu caule são utilizados como tratamento para problemas renais, o óleo proveniente das sementes tem efeitos anti-inflamatórios. Devido a essas propriedades do gênero, cada vez mais, tem surgido pesquisas como o potencial para atividade antibacteriana e antiviral (ESTEVAM *et al.*, 2009; MERCADANTE-SIMÕES *et al.*, 2014; FERREIRA, 2019 ^A). O trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antiviral de compostos isolados de *Tontelea Micrantha* (*Celastraceae*) contra o vírus Mayaro.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a atividade antiviral de compostos isolados de extratos de folha de *Tontelea Micrantha* (Celestraceae) contra o vírus Mayaro.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a citotoxicidade dos isolados a fim de determinar a concentração citotóxica para 50% das células (CC₅₀).
- Avaliar a atividade antiviral a fim de determinar a dose protetiva para 50% das células (CE₅₀) infectadas pelo vírus

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O vírus Mayaro

O vírus Mayaro, causador da febre de mesmo nome, tem como principal transmissor o mosquito do gênero *Haemagogus*, espécie *Haemagogus janthinomys* de habitat predominantemente silvestre. A transmissão em humanos geralmente ocorre de forma acidental que, ao adentrar em um ambiente silvestre, fica susceptível. A propagação da doença em áreas urbanas ou periurbanas ocorre quando pessoas infectadas em áreas rurais migram para áreas próximas ao homem e os vetores presentes em ambientes urbanos disseminam a febre (PEREIRA, 2017).

Um fato que teve grande repercussão em um estudo que mostrou, em 2011, que o *Aedes aegypti*, vetor de transmissão urbano e vetor do Dengue virus, Zika virus e Chikungunya virus, é potencialmente transmissor do Mayaro em centros urbanos o que significa que a transmissão deste deixou de estar restrita ao mosquito *Haemmagogus* sp. de hábito silvestre. Existem evidências de que a febre Mayaro está circulando silenciosamente durante os surtos de Dengue no Brasil. A observação veio do fato de que 2,5% dos indivíduos urbanos avaliados com supostos casos de Dengue estavam, na verdade, infectadas pelo vírus Mayaro (LONG et al., 2011; ZUCHI et al.).

O *Mayaro virus* foi identificado pela primeira vez em trabalhadores rurais em Trindade e Tobago em 1954 e posteriormente foi encontrado em alguns países da América Central e do Sul. Em 1955, houve o primeiro relato do vírus no Brasil no estado do Pará, onde 100 trabalhadores foram atingidos. Posteriormente, outros casos foram identificados em outros estados brasileiros. Por ser uma doença com sintomas

parecidos com outras arboviroses, seu diagnóstico é mais difícil de ser realizado (SANTOS, 2017 ^C; PILATTI, et al., 2016).

Atualmente, não há vacinas ou tratamentos para a febre Mayaro, logo medidas de prevenção precisam ser adotadas para evitar a propagação do vírus (BARROS et al., 2021). De maneira semelhante, busca de medidas terapêuticas também precisam ser incentivadas. Entre elas, a busca por antivirais específicos.

Os vírus da família Togaviridae possuem formato esférico e RNA de cadeia simples envelopado. Os vírus do gênero *Alphavirus* são compostos por 40 membros com 70nm de diâmetro, o capsídeo possui um formato esférico e genoma de RNA de fita simples linear de polaridade positiva de aproximadamente 11,8 kb que funciona como RNA mensageiro (PUGLIA, 2018; SANTOS, 2017 ^C).

3.2. A família Celastraceae

A família Celastraceae é encontrada em regiões tropicais e subtropicais e abrange um grande número de gêneros. A família conta com plantas arbóreas, lenhosas e ou arbustivas, as folhas são inteiras, sem estípulas e possuem disposição oposta ou alterna. No Brasil foram registrados os gêneros *Maytenus* Juss, *Austroplenckia* Lund, *Gouppia* Rissek e *Fraunhofer* Mar (DIAS, et al., 2005; LIMA, et al., 2013).

O uso de plantas para fins medicinais é uma das formas mais antigas para tratar doenças. Além disso, os isolados naturais são necessários para a descoberta e desenvolvimento de fórmulas químicas para a síntese de medicamentos mais específicos e eficientes (MENEGUETI, et al., 2014).

As substâncias isoladas de plantas da família Celastraceae possuem atividades biológicas e, entre elas, pode-se destacar os maitansinoídes com atividade antitumor, alcalóides piridínicos sesquiterpenóides com atividade fagorrepelente e imunossupressora, triterpenos quinóides e dímeros triterpenos com atividade citotóxica e poliésteres sesquiterpenos com atividade antitumor (DIAS, et al., 2005).

A espécie *Tontelea Micrantha*, popularmente conhecida como “rufão”, pertencente ao grupo taxonômico, é encontrada no Cerrado brasileiro e tem porte arbustivo. O extrato alcoólico das cascas do seu rizoma é utilizado para realizar o tratamento de

problemas renais e o óleo das sementes é utilizado como anti-inflamatório e no tratamento de doenças respiratórias. O óleo é utilizado no tratamento de cólicas intestinais e dores nas articulações (FERREIRA, 2019^B; CAMARGO, et al., 2019).

4. METODOLOGIA

4.1. Compostos de *Tontelea micrantha*

Os compostos, isolados e caracterizados, a partir de folhas de *Tontelea Micrantha* foram cedidos pelo Núcleo pesquisa em plantas medicinais (Neplam/UFGM). Para obter a solução estoque utilizada para o trabalho, foi necessário ressuspender os sedimentos em DMSO 10% (v/v) a uma concentração final de 10 mg.mL⁻¹.

4.2. Vírus Mayaro

O vírus Mayaro, cepa BeAr 20290, foi cedido pelo professor Maurício Nogueira (Famerp/RP/SP). O vírus foi amplificado para o estoque trabalho em culturas de células pelo grupo de pesquisa do prof. José Carlos de Magalhães no Laboratório de Virologia e Tecnologia Celular (Lavitec) do Campus Alto Paraopeba/UFSJ, estando com um título de 8,9x10⁸/Unidades Formadoras de Placas/UFP/mL.

4.3. Células Vero

As células utilizadas no trabalho foram as células Vero, que são fibroblastos de linhagem contínua derivadas do rim do macaco verde africano (*Cercopithecus aethiops*). As células foram cultivadas em meio mínimo essencial modificado por Dulbecco (DMEM), com 5% de soro fetal bovino e um coquetel de antibióticos contendo gentamicina (50µg/mL), penicilina potássica (200U/mL) e anfotericina B (2,5µg/mL). As células foram mantidas em estufa com a concentração de CO₂ a 5% e temperatura a 37°C. A cada 3 dias era feito o repique das células.

4.4. Ensaio de citotoxicidade

Para realizar o ensaio de citotoxicidade, células Vero foram implantadas em placa de 96 poços de com meio DMEM, as placas foram deixadas na estufa por um período de 24 horas para que as células se multiplicassem e ficassem na concentração desejada (4x10⁵ células/100µL/poço). Após as 24h, o meio foi retirado e foi colocado 100µL de

meio DMEM com 2% de soro fetal bovino e os compostos em triplicata. As placas foram incubadas por 48 horas, após passar o tempo necessário o meio da placa foi descartado e em seguida foi adicionado 25µL da solução de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (2 mg/mL em PBS), e a placa foi novamente incubada a 37°C por 90 min. Em seguida, foram adicionados 130µL de Dimetil Sulfóxido (DMSO) por poço para dissolver os cristais de farmazan, mantendo as culturas sob agitação constante a 150 rpm por 15 minutos. A placa foi lida no leitor de placas com absorvância no comprimento de onda de 490nm. A toxicidade celular foi determinada pela CC₅₀ (FERREIRA et al., 2019 ^A).

Para determinar a CC₅₀, foi calculado $[B*100/A]$, onde A e B são as absorvâncias a 490nm dos poços com células não tratadas (A) e células tratadas (B).

4.5. Ensaio de atividade antiviral

Para realizar o ensaio de atividade antiviral, células Vero foram implantadas em placa de 96 poços de com meio DMEM, as placas foram deixadas na estufa por um período de 24 horas para que as células se multiplicassem e ficassem na concentração desejada (4×10^5 células/100µL/poço). Após as 24 horas o meio foi retirado e foi colocado 100µL de meio DMEM com 2% de soro fetal bovino e os compostos em diferentes concentrações, em triplicata juntamente com 100µL de suspensão viral com MOI de 0,1. As placas foram incubadas por 48 horas, após passar o tempo necessário o meio da placa foi descartado e em seguida foi adicionado 25µL da solução de brometo 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazol (MTT) (2 mg/mL em PBS), e a placa foi novamente incubada a 37°C por 90 min. Em seguida, foi adicionado 130µL de Dimetil Sulfóxido (DMSO) por poço para dissolver os cristais de farmazan, mantendo as culturas sob agitação constante a 150 rpm por 15 minutos. A placa foi lida no leitor de placas com absorvância no comprimento de onda de 490nm. A concentração do efeito antiviral foi determinada pela CE₅₀ (FERREIRA et al., 2019 ^A). Para determinar a CE₅₀ foi calculado $[(A-B)/C-B]*100$, onde A, B e C são as absorvâncias a 490nm dos poços com células tratadas e infectadas (A), não tratadas e infectadas (B) e não tratadas e não infectadas (C).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Ensaio citotoxicidade

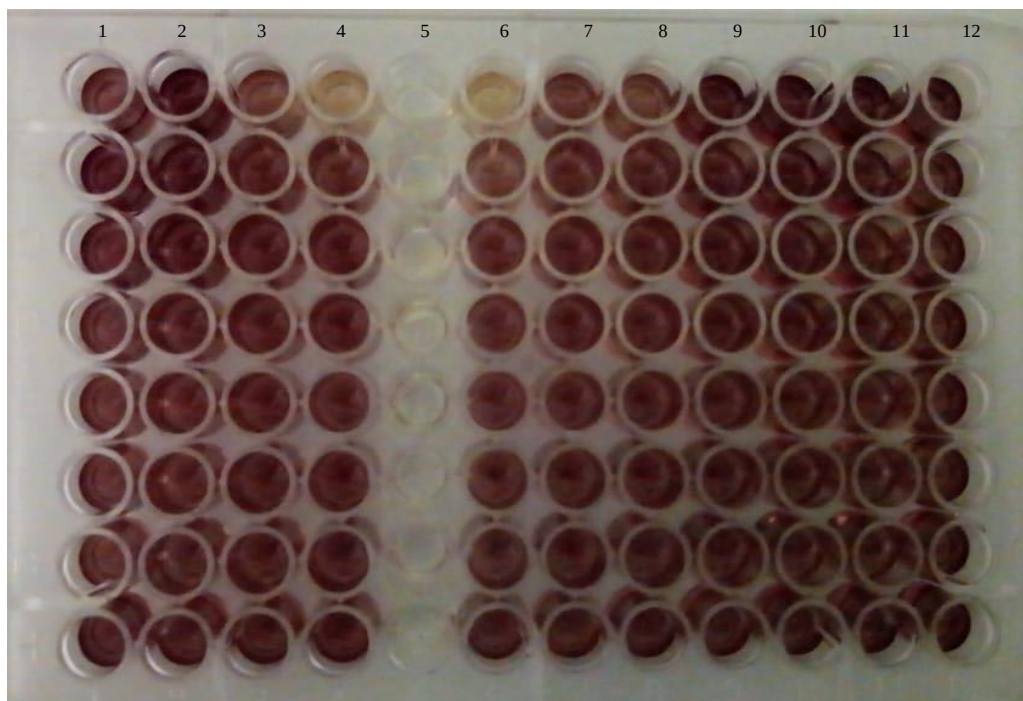
O ensaio de citotoxicidade busca mostrar a viabilidade dos compostos em células *in vitro*, para posteriormente serem utilizadas *in vivo*. Quando um composto apresenta toxicidade para uma célula *in vitro*, ele induz também esse comportamento *in vivo*. Além disso, é possível determinar se é viável a utilização do composto ou se é melhor descartá-lo. Por isso é importante a realização do ensaio (MARTINS et al., 2009).

A primeira etapa realizada foi a concentração citotóxica de cada composto em diferentes concentrações nas células. Os compostos foram colocados em triplicata nas placas com a concentração inicial de 500 µg/mL, e em seguida foi feita a diluição seriada até a concentração de 3,84 µg/mL. A concentração citotóxica foi expressa em termos de CC_{50} , os resultados obtidos através da regressão linear estão expressos na Tabela 1 a seguir:

Tabela 1: Concentração citotóxica dos compostos para 50% das células.

	TME	TMF	TMG	TMH
CC_{50} (µg/mL)	4.053,72	464,93	722,12	914,5

Na Figura 1 é possível observar o resultado do ensaio de citotoxicidade, visto que há uma coloração escura pela placa é possível perceber que há grande quantidade de células viáveis, mostrando assim que não há efeito citotóxico dos compostos.



Fonte: Próprio autor.

Figura 1: Ensaio de citotoxicidade realizado pelo método do MTT, os compostos não são tóxicos para as células devido a presença da coloração escura mostrando que há células viáveis. Colunas 1 e 2: composto TMH, colunas 3 e 4: composto TMG, colunas 6 - 8: composto TME, colunas 9-11: composto TMF e coluna 12: controle celular.

Segundo estudos de Ramos e colaboradores (2008), valores obtidos maiores que 100µg/mL mostram que os compostos não tendem a ser tóxicos para as células. Considerando os dados obtidos na Tabela 1 e na figura 1, é possível perceber que os compostos não apresentam caráter tóxico para as células. Sendo assim, é viável a utilização dos mesmos para a realização dos demais experimentos.

Segundo Ferreira e seus colaboradores (2018), compostos de outro gênero da família Celastraceae foram testados contra o vírus Mayaro e apresentaram baixo efeito citotóxico para 50% das células. Isso mostra que os compostos estudados dessa família possuem baixa citotoxicidade para as células. Dessa forma, na etapa seguinte do trabalho, abordamos os ensaios antivirais.

5.2. Ensaio de atividade antiviral

Para o ensaio de atividade antiviral, partiu-se de uma concentração inicial de 250 µg/mL de cada composto, sendo procedida a diluição seriada até a concentração de 1,89µg/mL. A 100 uL de cada uma dessas diluições foram adicionados 100µL de vírus estoque de modo que a infecção se desse com um total de 0,1 vírus/célula, o suficiente

para lisar 100% delas em 48h. A concentração protetora para 50% das células infectadas foi expressa em termos de CE_{50} . O resultado do ensaio foi obtido por meio da regressão linear e está exposto na Tabela 2.

Tabela 2: Concentração efetiva protetora dos compostos para 50% das células em $\mu\text{g/mL}$ (CE_{50}).

	TME	TMF	TMG	TMH
CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	<250	<250	<250	8,43

Podemos observar que, dentro das concentrações que puderam ser testadas, os compostos TME, TMF e TMG não mostraram ação antiviral, pois o ensaio teve seu início com concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$ e eles só teriam possíveis efeitos de proteção de 50% das células com as concentrações de 406,17 (TME), 410,64 (TMF) e 554,59 (TMG). Somente o composto TMH mostrou atividade dentro da concentração testada. Pode-se dizer que um dos compostos presentes na planta é bastante promissor como antiviral. Porém serão necessários mais testes dentro da concentração indicada de forma a confirmar a ação e obter a sua concentração precisa.

A seguir, foi calculado o índice de seletividade (IS_{50}) que representa a razão entre a CC_{50} e a CE_{50} .

Tabela 3: Índice de seletividade expresso em CC_{50}/CE_{50}

	TME	TMF	TMG	TMH
IS_{50}	9,98	1,57	1,31	108,48

Conforme Barros e colaboradores (2011), os índices de seletividade acima de 4 indicam que a ação inibitória do vírus ocorre no mínimo duas vezes mais baixa que a ação citotóxica. De acordo com os dados apresentados os compostos TMF e TMG possuem IS_{50} menores que 4 possuindo assim ação inibitória mais baixa que a ação citotóxica. Os compostos TME e TMH possuem IS_{50} maiores que 4 o que indica que possuem potencial antiviral.

Em sua pesquisa, utilizando extratos e isolados de *Tontelea Micrantha* contra o Zika vírus, Hauck (2019) encontrou excelentes resultados de concentração protetora

(CE₅₀) e também valores do índice de seletividade próximos aos valores recomendados. Portanto, a pesquisa corrobora que os compostos da planta são promissores antivirais tanto contra o vírus Zika quanto contra o vírus Mayaro.

6. CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

De acordo com os dados apresentados, é possível perceber que os compostos isolados de *Tontelea Micrantha* não apresentam efeito citotóxico sobre as células e podem ser classificados como potenciais antivirais no tratamento do *Mayaro virus*. Porém, são necessários mais testes com outras concentrações de CE₅₀.

As perspectivas para novos trabalhos do grupo são realizar testes de modo a avaliar a atividade virucida, avaliar a atividade dos compostos na adsorção viral, avaliar a atividade dos compostos na penetração viral e avaliar por meio de sinergismo entre compostos e antivirais de referência como ribavirina e cloroquina.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS,C., MOURA, L., BRITO, L. M. & MATOS, O. "Actividade antimicrobiana de extractos e óleos essenciais de coentro, oregão e poejo, e seu potencial para a protecção das culturas em horticultura biológica" **3º Colóquio Nacional de Horticultura e 1º Colóquio Nacional de Produção Animal Biológica**, 2011.

BARROS, E. R. de, PIRES, R. M. T., AMORIM, M. T., & HOLANDA, G. M. (2021). EPIDEMIOLOGIA DO VÍRUS MAYARO NA AMÉRICA LATINA ENTRE 2009 A 2019. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar** - ISSN 2675-6218, v. 2 n.5,p. 1-13, 2021.

DIAS, et al. Contribuição ao estudo alelopático de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.15(3): 220-223, Jul./Set. 2005.

ESTEVAM C, et al. Perfil fitoquímico e ensaio microbiológico dos extratos da entrecasca de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). 5 f. **Revista Brasileira de Farmacognosia**,19(1B): 299-303, 2009.

FERREIRA, et al. Zika Virus Activity of the Leaf and Branch Extracts of *Tontelea micrantha* and Its Hexane Extracts Phytochemical Study. **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 30, No. 4, 793-803, 2019. Printed in Brazil. ^A

FERREIRA, F. **ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Tontelea micrantha* Mart. ex Schult. (CELASTRACEAE)**. Orientadora: Lucienir Pains Duarte. 2019. 236 p. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. ^B

FIGUEIREDO LT. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 40(2):224-229, mar-abr, 2007.

GONÇALVES, A. L. **Estudo da atividade antimicrobiana de algumas árvores medicinais nativas com potencial de conservação/recuperação de florestas tropicais.** 2007. 193 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro, 2007.

HAUCK, Marcela. **PESQUISA DE ATIVIDADE ANTIVIRAL EM EXTRATOS E ISOLADOS DE TONTELEA MICRANTHA. CONTRA O ARBOVÍRUS ZIKA.** Orientador: Prof. Dr. José Carlos de Magalhães. 2019. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal de São João Del Rei.

LIMA, et al. TRITERPENOS FRIEDELANOS ISOLADOS DO ELUATO HEXÂNICO DA ENTRECASCA DE *Maytenus guianensis* (CELASTRACEAE). **64º Congresso Nacional de Botânica.** Belo Horizonte, 10-15 de Novembro de 2013.

LONG, K. C. et al. Experimental transmission of Mayaro virus by *Aedes aegypti*. **The American journal of tropical medicine and hygiene.** v. 85, n. 4, p. 750–757, out. 2011.

MARTINS, M., et al. Citotoxicidade *in vitro* de extratos de arnica brasileira (*Solidago microglossa*) e arnica paulista (*Porophyllum ruderale*). **ConScientiae Saúde**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 99-104, 2009.

MENEGUETI, et al. Análise Citotóxica e Mutagênica do Extrato Aquoso de *Maytenus guianensis* Klotzsch Ex Reissek (Celastraceae) Chichuá (Xixuá) Amazônico. *Ciência e Natura*, Santa Maria, v. 36 n. 3 set-dez. 2014, p. 301– 309 **Revista do Centro de Ciências Naturais e Exatas – UFSM.**

MERCADANTE-SIMÕES, M. O., et al. Structure, histochemistry and phytochemical profile of the bark of the sobol and aerial stem of *Tontelea micrantha* (Celastraceae - Hippocrateoideae). **Anais Academia Brasileira de Ciências.** 2014 86(3): 1167-1179.

LOURAÇO MP, et al. Mayaro fever in the city of Manaus, Brazil, 2007-2008. **Vector Borne Zoonotic Dis.** Jan;12(1):42-6, 2012.

PEREIRA, N. **Soroprevalência do vírus Mayaro em Manaus e em Coari.** Orientador: Prof. Dr. Pritesh Jaychand Lalwani. 2017. 96p. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Amazonas.

PILATTI, Máira et al. **Perfil clínico-epidemiológico dos pacientes infectados com o vírus Mayaro (MAYV) em Mato Grosso.** TCC-Biomedicina, 2016. Centro universitário UNIVAG.

PUGLIA, A. **Expressão de proteínas estruturais de *Alphavirus* em células S2 (*D.melanogaster*).** Orientador: Dr. Renato Mancini Astray. 2018. 103p. Tese



(doutorado) – Universidade de São Paulo, Instituto Butantan e Instituto de Pesquisas Tecnológica.

RAMOS, D. F. *et al.* Investigation of the antimycobacterial activity of 36 plant extracts from the Brazilian Atlantic Forest. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 669-674, Dec. 2008.

SANTOS, N. **Desenvolvimento de um método de imunofluorescência aplicado à detecção de anticorpos contra o arbovírus Mayaro.** Orientador: Dr. Renato Mancini Astray. 2017. 102 p. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo/ Instituto Butantan/ IPT. ^C

SANTOS, S. **VÍRUS MAYARO: Doença Infeciosa da Região Amazônica.** Orientadora: Prof. Ms^a. Keila de Assis Vitorino. 2020. 38p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação). Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA ^D.

TESH RB, WATTS DM, *et al.* Mayaro virus disease: an emerging mosquito-borne zoonosis in tropical South America. **Clin Infect Dis.** Jan;28(1):67-73, 1999.