



# UFAL

**INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES  
ENTRE COMPOSTOS DA PROPÓLIS E ALVOS BIOQUÍMICOS DO SARS-CoV-2:  
UMA REVISÃO DA LITERATURA**

**MATHEUS VINICIUS GUIMARÃES DE MELO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS**

**Campus A.C Simões**

**Tabuleiro dos Martins**

**57072-970- Maceió- AL**

MATHEUS VINICIUS GUIMARÃES DE MELO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS INTERAÇÕES  
INTERMOLECULARES ENTRE COMPOSTOS DA PROPÓLIS E ALVOS  
BIOQUÍMICOS DO SARS-CoV-2: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao corpo docente do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Farmácia. Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Ticiano Gomes do Nascimento

MACEIÓ-AL, 2021

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

Bibliotecário: Jorge Raimundo da Silva – CRB-4 –1528

M528c

Melo, Matheus Vinicius Guimarães de.

Caracterização físico-química das interações intermoleculares entre compostos da própolis e alvos bioquímicos do sars-cov-2: uma revisão da literatura / Matheus Vinicius Guimarães de Melo. – 2021.

133 f.

Orientador: Ticiano Gomes do Nascimento.

Monografia (Trabalho de conclusão de curso em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências farmacêutica – ICF. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 103-133.

1. COVID-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Própolis vermelha. 4. Flavonoides. I.  
Título.

CDU: 638.135:578.834

MATHEUS VINICIUS GUIMARÃES DE MELO

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS INTERAÇÕES  
INTERMOLECULARES ENTRE COMPOSTOS DA PROPÓLIS E ALVOS  
BIOQUÍMICOS DO SARS-CoV-2: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao corpo docente do Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para a obtenção do título de bacharel em Farmácia. Orientador: Prof<sup>o</sup>. Dr<sup>o</sup>. Ticiano Gomes do Nascimento

Documento assinado digitalmente  
gov.br TICIANO GOMES DO NASCIMENTO  
Data: 09/02/2022 18:59:13-0300  
Verifique em <https://verificador.itl.br>

---

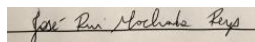
Prof<sup>o</sup> Dr<sup>o</sup>. Ticiano Gomes do Nascimento (Orientador)

**Banca Examinadora:**



---

Dr<sup>a</sup>. Êurica Adélia Nogueira Ribeiro- ICF/UFAL



---

Dr<sup>o</sup>. José Rui Machado Reys- ICF/UFAL

## AGRADECIMENTOS

Segundo William Shakeaspere a gratidão é o único tesouro dos humildes. Dessa maneira, pode-se afirmar que se trata de um sentimento difícil de expressar com palavras, apesar de ser facilmente identificado por meio de atitudes e ações. Durante a minha trajetória acadêmica, diversas pessoas atravessaram o meu caminho, de variadas personalidades, formas de pensar e atitudes que contribuíram diretamente com meu desenvolvimento pessoal e acadêmico.

Agradeço primeiramente a meus pais, Adalgisa e Antônio, por todo o suporte (emocional e financeiro) durante não só a graduação, como também durante toda a minha vida. Por todo o incentivo à minha educação, desde o período pré-escolar até aqui e pelo apoio quando pensei em desistir da batalha acadêmica por diversas vezes.

Ao meu irmão Luis e à minha cunhada Gabriela, pelo apoio e estímulo de sempre. À minha sobrinha Cecília, cujo nascimento me fortaleceu para seguir adiante.

Aos meus amigos, Raphaella e Júlio por estarem sempre comigo, ouvindo todas as reclamações diárias, a minha falta de estímulo, meu desânimo e baixa autoestima, servindo como suportes para que eu seguisse adiante mesmo frente às adversidades. À Láyla, Michelle, Ingridy e Karine, por compartilharem da rotina acadêmica extensivamente cansativa da UFAL, por serem as duplas e trios dos trabalhos, pelos estudos na biblioteca, no chão do ICBS e do IQB e no Google Meet e por também serem meus suportes emocionais, por me apoiarem e sempre mostrarem que eu sou capaz. À Everlaine e Mirele, minhas amigas do primeiro laboratório em que realizei Iniciação Científica na UFAL, que me auxiliaram depois de uma chuva de decepções que adquiri e que resultaram nas piores crises de ansiedade que já tive na vida toda. Por compartilharem comigo dos desafios de fazer ciência no Brasil frente à falta de incentivo financeiro somada a uma competitividade extremamente patológica. Por me ajudarem a superar alguns medos e por sempre reiterarem o meu potencial e capacidade, mesmo quando eu fazia questão de falar o contrário. Aos meus amigos do Centro Acadêmico 21 de Janeiro (Ana Beatriz Flor, Nathalia Monteiro, Natália Alves, Jeyseanne, Ashley, Ewerton, Aryston e Steffi) por todo o apoio e suporte. Aos meus amigos de laboratório Lucas e Monique pela ajuda de sempre. À minha amiga Gleice, cuja trajetória acadêmica se iniciou na farmácia e que agora se encontra debruçada nos estudos jurídicos. Grato pelo estímulo de sempre e por ter compartilhado comigo os melhores momentos da graduação, por sua

fé e força inabaláveis e por todo o amor, amizade e lealdade que sempre demonstrou a mim, independente das divergências.

À professora Marina, que me mostrou todas as características que devo seguir para ser um excelente professor e profissional: empatia, inteligência e um coração enorme. Por ter me feito amar química analítica, mesmo quando todos odiavam. Por ter me ensinado que quando se faz algo com amor, a probabilidade de dar certo é maior.

À professora Fernanda, por ter me apresentado ao mundo da Parasitologia com todo o amor, paciência e carinho e por toda a preocupação que demonstrava não só com o rendimento acadêmico dos discentes, como também com a saúde mental.

Ao professor Edson, do Instituto de Química e Biotecnologia, pelas excelentes aulas de Química Geral e por toda a disponibilidade e paciência que sempre apresentava aos alunos.

Ao professor Paulo Roldan (*in memoriam*), por toda a paciência, disponibilidade e dedicação ao ensino da Química Analítica Quantitativa. Nunca esquecerei das variadas titulações e das tardes de quarta e sexta recheadas de cálculos.

Ao Paulo e à Érica, pelas aulas incríveis de Química Farmacêutica e por toda a dedicação e paciência no ensino desta disciplina.

À professora Êurica, por ter ensinado farmacologia com grande dedicação atrelada a um bom humor incrível. Os dias de aula de farmacologia eram os mais esperados da semana e ficarão marcados para sempre em meu subconsciente.

Ao meu orientador da monitoria de Química Farmacêutica, professor João Xavier, por todo o ensinamento compartilhado.

Por fim, agradeço ao meu orientador de TCC e Iniciação Científica, professor Ticiano Gomes, por todo o conhecimento partilhado e por toda a paciência e dedicação que tem ao ensinar. Por ter me acolhido no laboratório nos períodos finais do curso e por ter confiado em mim para a execução deste trabalho.

*O mundo não se divide em pessoas boas e más.  
Todos temos luz e trevas dentro de nós. O que  
importa é o lado o qual decidimos agir. Isso é o  
que realmente somos”.*

*Sirius Black.*

## RESUMO

A COVID-19 (*Coronavirus disease 2019*) é uma doença que emergiu inicialmente em 2019 na província de Wuhan, na China e atingiu o grau de pandemia, com elevado número de casos de indivíduos contaminados e mortos no mundo todo. Essa patologia é ocasionada pelo vírus SARS-CoV-2 (Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2) e pode apresentar manifestações clínicas leves, ou graves, as quais podem evoluir até o óbito. A única terapia profilática contra o SARS-CoV-2 são as vacinas, no entanto, tem crescido a busca por alternativas terapêuticas oriundas de produtos naturais, principalmente daqueles da Medicina Tradicional Chinesa. Um destes produtos é a Propólis, um material resinoso produzido por abelhas da espécie *Apis mellifera* a partir de secreções e outras partes de plantas, apresentando diversas atividades farmacológicas, incluindo-se dentre elas a atividade anti-SARS-CoV-2. Diversos são os componentes químicos desse produto que apresentam atividade antiviral frente ao SARS-CoV-2 *in vitro* e *in silico*, porém, poucos são os estudos que caracterizem os perfis físico-químicos de interação entre essas moléculas e os alvos biológicos do vírus. Dessa forma, objetiva-se por meio do trabalho avaliar os principais constituintes químicos da propólis com atividade anti-SARS-CoV-2 e os perfis de interação físico-química entre estes e os principais alvos bioquímicos do SARS-CoV-2. Para isso, foi realizada uma busca na literatura científica, utilizando-se as bases de dados PubMed, Elsevier's Science Direct, Periódicos da CAPES, e Taylor & Francis Springer-Nature database, utilizando-se os descritores "propolis" e "covid-19". Os dados obtidos foram organizados em tabelas que descrevem as características principais dos estudos, bem como o grupo de moléculas mais promissoras e a caracterização físico-química. Assim, foi possível observar que as moléculas mais promissoras termodinamicamente frente à inibição de alvos biológicos do SARS-CoV-2, foram os flavonóides, sendo os principais a rutina, a hesperidina, o kaempferol, a isoramnetina e o (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona e um ácido fenólico, o CAPE. As interações intermoleculares mais descritas foram ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas, e os aminoácidos mais envolvidos nas interações foram a treonina e a histidina. Assim sendo, é possível observar o elevado potencial desse grupo de moléculas presentes na propólis frente à inibição da replicação e invasão viral por meio de interações químicas termodinamicamente favoráveis. Apesar disso, torna-se necessária a realização de ensaios clínicos com a fundamentação metodológica adequada de maneira a se comprovar a eficácia deste produto frente às manifestações clínicas, bem como à profilaxia da COVID-19.

**Palavras-chave:** COVID-19, SARS-CoV-2, Propólis, Flavonóides, Moléculas.



## ABSTRACT

COVID-19 (Coronavirus disease 2019) is a disease that first emerged in 2019 in Wuhan province, China and reached the degree of pandemic, with a high number of cases of infected and dead individuals worldwide. This pathology is caused by the SARS-CoV-2 virus (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) and may be manifested with mild or severe clinical manifestations, which may progress to death. Vaccines are the only prophylactic therapy against SARS-CoV-2, however, the search for therapeutic alternatives obtained from natural products, mainly those from Traditional Chinese Medicine, has grown. One of these products is Propolis, a resinous material produced by bees of the *Apis mellifera* species from secretions and other parts of plants, presenting several pharmacological activities, including the anti-SARS-CoV-2 activity. There are several chemical components of this product that present antiviral activity against SARS-CoV-2 *in vitro* and *in silico*, however, there are few studies that characterize the physicochemical profiles of interaction between these molecules and the biological targets of the virus. Thus, the objective of this work is to evaluate the main chemical constituents of propolis with anti-SARS-CoV-2 activity and the physicochemical interaction profiles between these and the main biochemical targets of SARS-CoV-2. For this, a search was carried out in the scientific literature, using the databases PubMed, Elsevier's Science Direct, CAPES Journals, and Taylor & Francis Springer-Nature database, using the descriptors "propolis" and "covid-19". The data obtained were organized in tables that describe the main characteristics of the studies, as well as the group of most promising molecules and the physicochemical characterization of these substances. Thus, it was possible to observe that the most thermodynamically promising molecules for the inhibition of SARS-CoV-2 biological targets were the flavonoids, the main ones being rutin, hesperidin, kaempferol, isoramnetin and (2S)-5, 7-dihydroxy-4'-methoxy-8-prenylflavone and a phenolic acid, CAPE. The most described intermolecular interactions were hydrogen bonds and hydrophobic interactions, and the amino acids most involved in the interactions were threonine and histidine. Therefore, it is possible to observe the high potential of this group of molecules present in propolis against the inhibition of viral replication and invasion through thermodynamically favorable chemical interactions. Despite this, it is necessary to carry out clinical trials with adequate methodological foundations in order to prove the efficacy of this product against clinical manifestations, as well as the prophylaxis of COVID-19.

**Key Words:** COVID-19, SARS-CoV-2, Propolis, Flavonoids, Molecules.

## LISTA DE GRÁFICOS E TABELAS

<b>Gráfico 1:</b> Distribuição e tipos de estudos encontrados nas bases de dados.....	78
<b>Gráfico 2:</b> Alvos bioquímicos citados pelos estudos.....	78
<b>Gráfico 3:</b> Quantidade de citações dos principais aminoácidos identificados nos estudos de docking molecular.....	78
<b>Tabela 1:</b> Ensaios clínicos registrados referentes à avaliação do efeito antitumoral da Propólis.....	59
<b>Tabela 2:</b> Ensaios clínicos que avaliam a efetividade da propólis frente aos desfechos da COVID-19.....	65
<b>Tabela 3:</b> Estudos encontrados nas bases de dados.....	76
<b>Tabela 4:</b> Estudos de docking molecular e as respectivas moléculas com potencial anti-SARS-CoV-2.....	91
<b>Tabela 5:</b> Caracterização das interações dos principais fitoquímicos com potencial anti-SARS-CoV-2 encontrados na propólis.....	92

## LISTA DE ABREVIATURAS E UNIDADES

**3-C-like:** *Main protease 3-C like*

**AINEs:** Antiinflamatórios não-esteroidais

**ALT:** Alanina aminotransferase/ Transaminase glutâmico-pirúvica

**APCs:** Células apresentadoras de antígenos

**AST:** Asparatato aminotransferase/ Transaminase glutâmico-oxaloacética

**ATP:** Trifosfato de adenosina

**C3a:** Componente 3 ativado do complemento

**C4:** Componente 4 do complemento

**C5a:** Componente 5 ativado do complemento

**CAPE:** Éster fenilético do ácido cafeico

**CD147:** *Cluster of differentiation 147*

**CDC:** *Center for diseases control*

**CFM:** Concentração Fungicida Mínima

**CIM:** Concentração Inibitória Mínima

**CIVD:** Coagulação Intravascular Disseminada

**CK:** Creatinoquinase

**CMV:** Citomegalovírus

**COVID-19:** *Coronavirus disease 2019*

**CoVs:** Coronavírus

**CQ:** Cloroquina

**CXCL10 ou IP-10:** Ligante 10 de quimiocina com motivo C-X-C

**EBOV:** Vírus da Ebola

**ECA2:** Enzima conversora de angiotensina 2

**ELISA:** *Enzyme-linked immunosorbent assay*

**Erk:** Quinase regulada por sinais extracelulares

**EROs:** Espécies Reativas de Oxigênio

**FDA:** Food and drug administration

**Foxp3:** *Forkhead box P3*

**GC-EM:** Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

**G-CSF:** Fator estimulante de colônias de granulócitos

**GRO-  $\alpha$ :** Oncogene  $\alpha$  regulado por crescimento

**H1N1 e H3N2:** Hemaglutinina 1 neuraminidase 1 e Hemaglutinina 2 neuraminidase 2

**HCQ:** Hidroxicloroquina

**HIV:** Vírus da Imunodeficiência Humana

**HLA:** Antígeno leucocitário humano

**HSV:** Vírus da Herpes Simples

**IC<sub>50</sub>:** Concentração Inibitória 50%

**IFN- $\gamma$ :** Interferon gama

**Igs:** Imunoglobulinas

**ILs:** Interleucinas

**ISTs:** Infecções sexualmente transmissíveis

**Ki:** Constante de inibição

**KIM-1:** Molécula de Injúria Renal-1

**LC3-H**

**LDH:** Lactato desidrogenase

**MAPK:** Proteinoquinase ativada por mitógeno

**MCP-1:** Proteína cofatora de membrana 1 :

**M-CSF:** Fator estimulante de colônias de monócitos

**MEC:** Matriz extracelular

**MERS-CoV:** Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio

**MIP1-  $\alpha$ :** Proteína inflamatória 1- $\alpha$  de macrófagos

**M<sup>pro</sup>:** *Coronavirus main protease*

**MRSA:** Staphylococcus aureus resistente à metilina

**NF2:** Gene da neurofibromatose

**NF- $\kappa$ B:** Fator nuclear kappa B

**NK:** *Natural killers*

**NO:** Óxido nítrico

**Nsps:** *non structural proteins*

**OMS:** Organização Mundial da Saúde

**ORFs:** *Open reading frame*

**pCA:** Ácido p-cumárico

**PIK-5:** Fosfatidilinositol-3-fosfato quinase

**PL<sup>pro</sup>:** *Papain like protease*

**PP1a e PP1b:** Poliproteína 1a e Poliproteína 1b

**PRAR/S:** Domínio de clivagem polibásico

**qPCR:** Reação em cadeia de polimerase quantitativa

**QSAR:** Relação Estrutura-Atividade Quantitativa

**RBD:** *Receptor binding domain*

**RdRp:** RNA polimerase RNA-dependente

**RMN <sup>1</sup>H:** Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

**RNA:** Ácido Ribonucleico

**SARS-CoV-2:** Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

**SNC:** Sistema Nervoso Central

**SNM:** Síndrome Neuroléptica Maligna

**SRAG:** Síndrome Respiratória Aguda Grave

**TAAN:** Teste de amplificação do ácido nucleico

**TGF- $\beta$ :** Fator transformador do crescimento  $\beta$

**TGI:** Trato gastrointestinal

**Th1:** Linfócito T auxiliar perfil 1

**TLRs:** *Toll like receptors*

**TMPRSS2:** Serinoprotease transmembrana 2

**TPC2:** *Two pore channel 2*

**UTRs:** *Untranslated regions*

**UV:** Ultravioleta

**VEGF:** Fator de crescimento endotelial vascular

**Wi-A:** Witaferina-A

**Wi-N:** Witanona-A

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Casos novos de COVID-19 por Semana Epidemiológica de notificação.....	19
<b>Figura 2:</b> Óbitos de COVID-19 por Semana Epidemiológica de notificação.....	19
<b>Figura 3:</b> Estrutura básica de um Coronavírus (COV).....	21
<b>Figura 4:</b> Organização genética típica de um Coronavírus.....	23
<b>Figura 5:</b> Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.....	25
<b>Figura 6:</b> Resposta imune em pacientes assintomáticos.....	29
<b>Figura 7:</b> Resposta imune em pacientes sintomáticos.....	29
<b>Figura 8:</b> Tipos principais de diagnóstico da COVID-19.....	35
<b>Figura 9:</b> Principais tipos de testes laboratoriais para diagnóstico do SARS-CoV-2.....	35
<b>Figura 10:</b> Tratamento da COVID-19.....	40
<b>Figura 11:</b> Constituição básica da propólis.....	46
<b>Figura 12:</b> Composição química da propólis.....	47
<b>Figura 13:</b> Atividades farmacológicas da propólis.....	48
<b>Figura 14:</b> Mecanismos antibacterianos da propólis.....	51
<b>Figura 15:</b> Mecanismos anti-inflamatórios da propólis.....	54

<b>Figura 16:</b>	Mecanismos	cicatrizantes	da	propólis.....	57	
<b>Figura 17:</b>	Mecanismos	anti-neoplásicos	da	propólis.....	60	
<b>Figura 18:</b>	Mecanismos	antivirais	da	propólis.....	64	
<b>Figura 19:</b>	Elementos	básicos	de	um	docking	
					molecular.....	67
<b>Figura 20:</b>	Fluxograma	típico	de	um	docking	
					molecular.....	68
<b>Figura 21:</b>	Aplicações	de	estudos	de	docking	
					voltados	
					para	
					a	
					propólis.....	71
<b>Figura 22:</b>	Artigos	selecionados	nas	bases	de	
					dados	
					segundo	
					os	
					critérios	
					de	
					eligibilidade.....	74
<b>Figura 23:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					a	
					rutina	
					e	
					a	
					ECA2.....	83
<b>Figura 24:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					a	
					rutina	
					e	
					a	
					3CL <sup>pro</sup>	
					.....	83
<b>Figura 25:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					o	
					kaempferol	
					e	
					a	
					RdRp.....	85
<b>Figura 26:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					o	
					kaempferol	
					e	
					a	
					M <sup>pro</sup>	
					do	
					SARS-CoV-	
					2.....	86
<b>Figura 27:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					a	
					isoramnetina	
					e	
					o	
					sítio	
					catalítico	
					da	
					ECA2.....	86
<b>Figura 28:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					a	
					(2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-	
					prenilflavonona	
					e	
					o	
					sítio	
					catalítico	
					da	
					ECA2.....	87
<b>Figura 29:</b>	Docking	molecular	da	interação	entre	
					o	
					CAPE	
					e	
					a	
					ECA2.....	90

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	17
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	19
2.1 COVID-19.....	19
2.1.1 Epidemiologia no Brasil e no mundo .....	19
2.1.2 O SARS-CoV-2.....	21
2.1.3 Ciclo de multiplicação do SARS-CoV-2.....	25
2.1.4 Resposta imunológica do organismo frente ao SARS-CoV-2.....	27
2.1.5 Manifestações clínicas da COVID-19.....	32
2.1.6 Diagnóstico da COVID-19.....	34
2.1.7 Tratamento medicamentoso da COVID-19 .....	38
2.1.8 Produtos naturais e COVID-19.....	42
2.2 Propólis .....	45
2.2.1 Características e variabilidade .....	45
2.2.2 Composição química .....	48
2.2.3 Atividades biológicas .....	49
2.3 Docking molecular.....	72
2.3.1 Cálculo da energia envolvida .....	75
2.3.2 Aplicações .....	77
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	79
3.1 Geral .....	79
3.2 Específicos.....	79
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	79
4.1 Desenho do estudo .....	79
4.2 Estratégia do estudo .....	79
4.3 Critérios de inclusão.....	80
4.4 Dados.....	80
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	80
5.1 Flavonóides.....	86
5.1.1 Hesperidina.....	87
5.1.2 Rutina .....	88
5.1.3 Kaempferol .....	90
5.1.4 Isoramnetina .....	93
5.1.5 (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona.....	94
5.2 Ácido fenólico.....	95
5.2.1 Éster fenilético do ácido cafeico (CAPE) .....	95
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	101
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	103



## 1 INTRODUÇÃO

A COVID-19 (*Coronavirus disease 2019*) emergiu inicialmente em 2019, na província de Wuhan, na China e no mesmo ano se disseminou pelo mundo tornando-se uma pandemia de grau considerável, sendo causada especificamente pelo vírus SARS-CoV-2 (Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2), da família Coronaviridae e pertencente ao grupo dos *Betacoronavírus* (Gênero), fazendo parte do subgênero *Sarbecovirus* (CASCELLA *et al.*, 2020; ROMANO *et al.*, 2020). Em 13 de outubro de 2021, o número de casos positivos de COVID-19 no mundo ultrapassou 238.521.855, sendo o número de mortes à nível global igual a 4.863.818 (OMS, 2021).

No Brasil, dados recentes mostram que o número de casos confirmados de COVID-19 ultrapassa os 21.597.949, sendo o número de casos novos registrados no dia 14 de outubro de 2021 igual a 7.852 (MINISTÉRIO DA SAÚDE., 2021). Em relação aos óbitos acumulados, ultrapassa-se a marca de 600 mil mortos pelo vírus, sendo isso resultante da ineficácia na tomada de medidas de proteção, bem como de atitudes negacionistas tomadas pelo Presidente da República (MINISTÉRIO DA SAÚDE., 2021; VENTURA, AITH, RACHED., 2021).

O SARS-CoV-2 é um vírus de fita simples positiva de RNA (contendo uma única sequência de bases nitrogenadas) com uma morfologia semelhante a uma coroa (*corona* é o termo em latim para coroa) com espículas em sua superfície (glicoproteína *spike*), sendo isso observado por meio de microscopia eletrônica (CASCELLA *et al.*, 2020). O seu material genético é constituído por genes estruturais e não estruturais, sendo os estruturais responsáveis pela síntese das proteínas que formarão principalmente seu envelope lipoproteico e os não estruturais responsáveis pela síntese de seus fatores de virulência (FINKEL *et al.*, 2020). Devido a diferenças na sequência organizacional dessas bases nitrogenadas, esse vírus pode ser considerado geneticamente diferente do SARS-CoV-1 e do MERS-CoV (RASKIN., 2020).

A fisiopatologia da COVID-19 envolve alterações estruturais celulares acompanhadas por eventos inflamatórios graves que acarretam em extenso dano à nível tecidual, resultando nas diversas manifestações clínicas da doença, incluindo: febre, tosse, cefaleias, artralgias, mialgias, cansaço e indisposição (KUMAR., 2021). 81% dos casos da doença se manifestam em sua forma leve ou moderada, sendo os 19% restantes caracterizados pela forma grave, onde é possível observar nos pacientes quadros de dispneia, baixa saturação sanguínea de oxigênio, presença de

infiltrados pulmonares, falência pulmonar e disfunções cardiovasculares (WU; MCGOOGAN., 2020).

Não há nenhum tratamento por via oral atualmente disponível que seja capaz de tratar ou prevenir de forma efetiva a contaminação pelo coronavírus (WANG *et al.*, 2020). Alguns fármacos disponíveis para administração intravenosa, como alguns anticorpos monoclonais e inibidores de protease viral são utilizados apenas em ambiente hospitalar para o tratamento específico da SRAG (Síndrome Respiratória Aguda Grave), apresentando um elevado custo associado, o que os torna praticamente inacessíveis (WANG *et al.*, 2020).

Dessa maneira, a forma preventiva declaradamente eficaz para a prevenção da COVID-19 são as vacinas, as quais passaram a ser disponibilizadas no final de 2020 em alguns países e no começo de 2021 no Brasil após a realização de ensaios clínicos multicêntricos desenvolvidos em vários países (HODGSON *et al.*, 2021). Essas, por sua vez, apresentam a capacidade de gerar uma resposta imune eficaz e que é responsável por evitar a entrada do vírus nas células do hospedeiro (HODGSON *et al.*, 2021).

Conseqüentemente, a procura por produtos naturais tem sido crescente para o tratamento de diversas patologias, principalmente durante a pandemia de COVID-19. Um desses produtos, muito utilizado pelo conhecimento popular é a Propólis (MARCUCCI, 1995). A propólis é um material resinoso e gomoso produzido por abelhas da espécie *Apis melífera* a partir de secreções de árvores e outras plantas contendo pólen e enzimas (MARCUCCI, 1995). A função principal desse produto é proteger as abelhas contra predadores e microrganismos, bem como servir de base estrutural para suas colmeias, oferecendo estabilidade às suas paredes (BURDOCK, 1998). A atividade antimicrobiana da propólis é uma de suas principais características, sendo subdividida em antibacteriana, antifúngica e antiviral, além de apresentar outras atividades farmacológicas descritas na literatura, como anti-inflamatória, antitumoral, imunestimulante, antioxidante e hepatoprotetora (BANSKOTA *et al.*, 1998; BURDOCK., 1998; KUJUMGIEV *et al.*, 1999; JENG *et al.*, 2000; KIMOTO *et al.*, 2000; ORSIA *et al.*, 2005; MARQUELE *et al.*, 2006).

Alguns estudos *in vitro* e *in vivo* já relatam efeitos promissores da propólis frente à COVID-19, principalmente por meio de mecanismos imunomoduladores, anti-inflamatórios e antivirais (BANSKOTA *et al.*, 1998; BURDOCK., 1998; KUJUMGIEV *et al.*, 1999; JENG *et al.*, 2000; KIMOTO *et al.*, 2000; ORSIA *et al.*, 2005; MARQUELE

*et al.*, 2006). No entanto, pouco se sabe acerca de qual ou quais substâncias presentes nesse produto são responsáveis especificamente pelos seus efeitos anti-COVID-19, bem como seus mecanismos moleculares.

Dessa forma, este trabalho busca realizar um levantamento acerca de quais compostos presentes na propólis podem estar envolvidos com sua atividade antiviral frente ao SARS-CoV-2, bem como suas caracterizações físico-químicas e farmacológicas.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 COVID-19**

#### **2.1.1 Epidemiologia no Brasil e no mundo**

A pandemia de COVID-19 emergiu no mundo inicialmente em 2019 na China e tem causado diversos transtornos socioeconômicos e de saúde pública aos diversos países do globo (OMS, 2021). O primeiro caso da doença foi registrado na província de Wuhan, na China, e a partir disso tem se espalhado exponencialmente causando diversas mortes pelo mundo (CASCELLA *et al.*). No Brasil, o primeiro caso detectado de SARS-CoV-2 foi relatado em fevereiro de 2020, em um período no qual a Europa já havia registrado milhares de casos, segundo dados do Ministério da Saúde. Neste mesmo país, o número total de casos confirmados ultrapassa os 21 milhões, sendo o número de óbitos registrados equivalente à 604.228, com um número de 20.861.055 casos recuperados, assim como mostrado pela plataforma Painel Coronavírus do Ministério da Saúde.

Em relação ao número de casos novos, a semana epidemiológica 12 registrou o pico de maior intensidade, com um total de 539903 casos (Imagem 1). A partir da semana epidemiológica 29, os casos novos de COVID-19 passaram a se estabilizar, sendo isso resultante do aumento da quantidade da população vacinada no país.

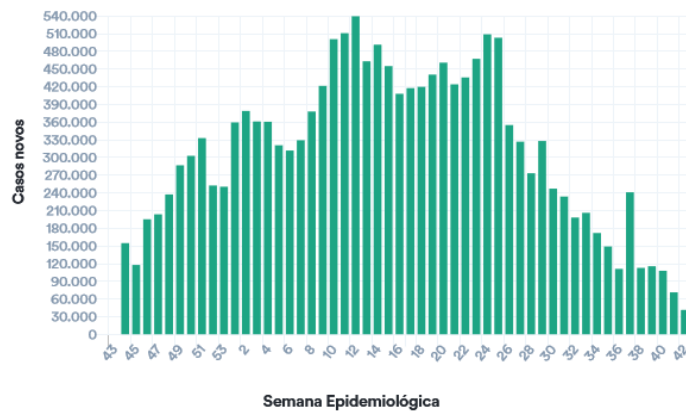
Falando-se em número de óbitos, é observado que as semanas epidemiológicas 14 e 15 apresentaram os maiores picos registrados, sendo os valores de 21141 e 20344 respectivamente. A partir da semana epidemiológica 25 os dados relativos à mortalidade se estabilizaram em queda, sendo isso também indicativo da efetividade da cobertura vacinal no país. (Imagem 2).

De acordo com os dados do Ministério da Saúde, o número de doses de vacinas contra a COVID-19 distribuídas é de 310.498.347 milhões, sendo o número de doses aplicadas igual a 261.461.860 milhões por todo o país. Os estados com maiores percentuais de habitantes vacinados são Santa Catarina (74,71% da população

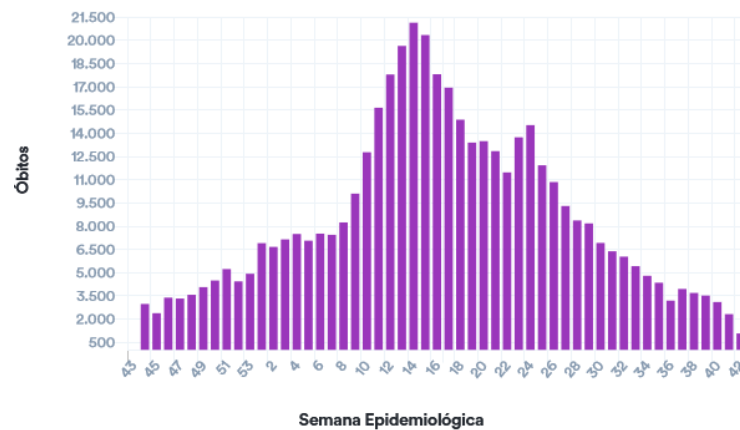
completamente vacinada), São Paulo (80,07%), Rio Grande do Sul (73,91%), Minas Gerais (73,33%) e Espírito Santo (72,78%). Do total da população do Brasil, 107.407.959 milhões (50,35%) se encontram completamente vacinados com as duas doses ou com a vacina de dose única, o que representa um grande avanço, apesar da grande letargia inicial.

No mundo, de acordo com a OMS, em 20 de outubro de 2021 o número de casos confirmados de COVID-19 ultrapassava os 241 milhões, sendo o total de mortes registradas igual a 4.912.112 milhões. O continente americano registra grande parte dos casos confirmados de COVID-19 (92.399.661 milhões), enquanto que a África registra a menor quantidade de casos em relação ao mundo (6.119.338 milhões). Em relação ao número diário de óbitos foi observado que as américas também lideram o ranking (2.266.491 milhões), seguidas pela Europa (1.388.047 milhões) e pela Ásia (685.654 milhões). O oeste do Pacífico registra o menor número de óbitos de todo o planeta, sendo este igual a 125.113 mortes. Isso é representativo do sucesso das medidas de isolamento e de prevenção ao contágio tomadas pelos representantes dos países desse continente.

O total de doses de vacinas aplicadas pelo mundo ultrapassa a marca de 6 bilhões. Em relação ao ranking dos países com maior percentual de população vacinada é registrado que os Emirados Árabes Unidos apresentam maior porcentagem (96% da população vacinada; 85,63% completamente vacinada e 9,90% parcialmente vacinada), seguido por Portugal (88% da população vacinada; 86,38% completamente vacinada e 1,90% parcialmente vacinada), Cuba (86% da população vacinada; 60% completamente vacinada e 25,88% parcialmente vacinada), Chile (81% da população vacinada; 74,81% completamente vacinada e 9,12% parcialmente vacinada) e Espanha (81% da população vacinada; 79,34 completamente vacinada e 1,74% parcialmente vacinada). O Brasil, por sua vez, se apresenta na 14ª posição do ranking mundial (73% da população vacinada; 50,05% completamente vacinada e 23,10% parcialmente vacinada) (Our World in Data, 2021).



**Figura 1. Casos novos de COVID-19 por Semana Epidemiológica de notificação.** A semana epidemiológica 12 registrou o pico de maior intensidade, com um total de 539903 casos, enquanto que a partir da semana epidemiológica 29 os casos passaram a se estabilizar. **Fonte:** Ministério da Saúde, 2021.



**Figura 2. Óbitos de COVID-19 por Semana Epidemiológica de notificação.** As semanas epidemiológicas 14 e 15 apresentaram os maiores picos registrados, sendo os valores de 21.141 e 20.344 respectivamente. A partir da semana epidemiológica 25 os dados relativos à mortalidade se estabilizaram em queda. **Fonte:** Ministério da Saúde, 2021.

### 2.1.2 O SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus de fita simples de RNA de sentido positivo (contendo uma sequência única linear de bases nitrogenadas) com uma morfologia semelhante a uma coroa (*corona* é o termo em latim para coroa) com espículas em sua superfície (glicoproteína *spike* ou glicoproteína S) (CASCELLA *et al.*, 2020). Esse vírus é caracterizado filogeneticamente por fazer parte da família Coronaviridae e do grupo dos *Betacoronavírus* (Gênero), fazendo parte do subgênero *Sarbecovirus* (CASCELLA *et al.*, 2020; ROMANO *et al.*, 2020).

Por ser um vírus envelopado, o SARS-CoV-2 apresenta sensibilidade a alguns agentes físicos e químicos, incluindo-se o etanol 70% (p/v) e o hipoclorito de sódio, os quais são utilizados rotineiramente como agentes desinfetantes (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2021). Além disso, estudos já mostraram que esse vírus não é

capaz de sobreviver à elevadas temperaturas nem mesmo à radiação dentro da faixa do ultravioleta (UV) (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2021). Dessa forma, há um leque de opções que podem ser utilizadas com o objetivo de se eliminar o coronavírus de ambientes e principalmente de superfícies (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2021).

Estruturalmente, o SARS-CoV-2 se caracteriza por apresentar um nucleocapsídeo contendo RNA disperso em seu interior (Imagem 3). Na superfície do seu envelope são encontradas diversas proteínas estruturais, podendo-se destacar as proteínas fosforiladas do nucleocapsídeo (N), proteínas do envelope (E), proteínas de membrana (M) e a hemaglutinina (HA) (ZHOU *et al.*, 2020). As proteínas M, E e S se localizam inseridas na bicamada lipídica que constitui o envelope viral, enquanto que a proteína N localiza-se no centro do nucleocapsídeo, protegendo o material genético do vírus, principalmente frente à degradação enzimática (ZHOU *et al.*, 2020). Os vírions de SARS-CoV-2 são partículas que apresentam geometria esférica de 80 a 120 nm de tamanho, apresentado elevado potencial de disseminação e transmissão, principalmente pela via respiratória através de gotículas e aerossóis (BARCENA *et al.*, 2009).

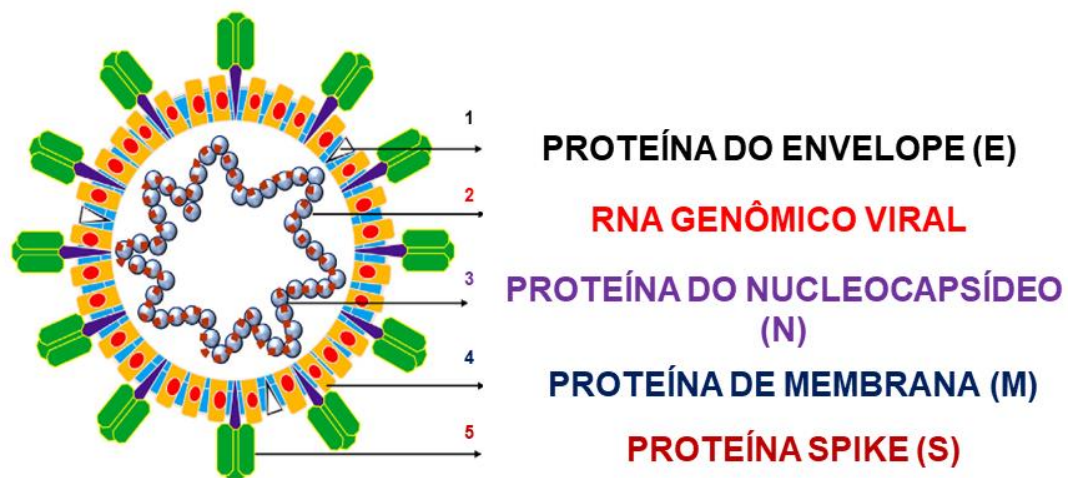
A proteína S é uma proteína glicosilada de elevado peso molecular e que se caracteriza por ser o principal antígeno do SARS-CoV-2, uma vez que é ela que medeia a entrada do vírus dentro das células do organismo humano, principalmente nas células epiteliais alveolares que constituem o tecido pulmonar (BOSCH *et al.*, 2003). Um dos domínios da proteína S é o domínio de ligação ao receptor (RBD-*receptor binding domain*), que apresenta diferentes sequências de aminoácidos a depender do tipo de coronavírus envolvido, ou seja, é uma região variável (ZHOU *et al.*, 2020). Essa proteína, por sua vez, é constituída por duas subunidades: a subunidade S<sub>1</sub> e a subunidade S<sub>2</sub>. Alguns CoVs apresentam uma região conservada entre essas subunidades, denominada de sítio de clivagem polibásico (RRAR/S), a qual também é importante para a entrada do vírus nas células (BOSCH *et al.*, 2003).

A proteína M, localiza-se na superfície viral, sendo essencial para a geração de novas cópias virais durante o processo de replicação do vírus. Essa macromolécula também está envolvida na formação intracelular de vírions, já tendo sido descrito na literatura a existência de CoVs não infecciosos que não apresentavam proteína S em sua estrutura, mas que apresentavam a proteína M (DE HAAN *et al.*, 1998).

A proteína E (proteína do envelope) é caracterizada por estar envolvida na secreção das partículas virais das células hospedeiras, apresentar atividade de canal

iônico, inibir a resposta de defesa do organismo e implicar diretamente na patogênese (RUCH; MACHAMER., 2012).

A HA é uma proteína que se assemelha à hemaglutinina do vírus da influenza e que está diretamente envolvida com a invasão do SARS-CoV-2 às células hospedeiras devido à sua atividade acetil-esterase intrínseca, realizando reações de hidrólise de ésteres em aminoácidos de proteínas importantes da membrana plasmática das células hospedeiras e que contribuem para sua infectividade (ASHOUR *et al.*, 2020).



**Figura 3. Estrutura básica de um Coronavírus (CoV).** O SARS-CoV-2 apresenta uma geometria esférica característica, apresentando um envelope e um nucleocapsídeo contendo o material genético disperso. A letra E representa a principal proteína do envelope, a N representa a principal proteína do nucleocapsídeo, a M representa a principal proteína da membrana e a S representa a proteína spike. ADAPTADO de KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG, 2020.

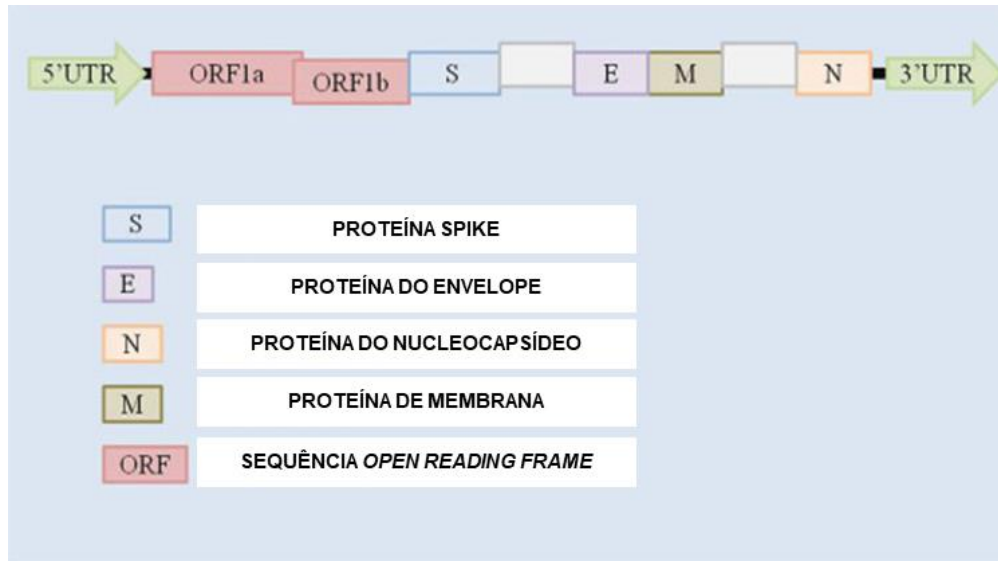
O material genético do SARS-CoV-2 é composto por genes estruturais e não-estruturais, sendo os não-estruturais responsáveis geralmente pelo potencial infeccioso do vírus (YANG *et al.*, 2006). Estruturalmente, o RNA do coronavírus é constituído por duas regiões não traduzidas (UTRs- *untranslated regions*), estando uma localizada na extremidade 5' (5'-UTR) e outra na extremidade 3' (3'-UTR) (MOUSAVIZADEH; GHASEMI., 2021). Essas regiões são constituídas por sequências de nucleotídeos que não são traduzidas em proteínas específicas do vírus, mas que atuam facilitando a interação RNA-RNA e a ligação entre proteínas virais e hospedeiras (YANG; LEIBOWITZ., 2015). Entre essas extremidades localizam-se os genes que serão traduzidos em proteínas estruturais e não estruturais, podendo-se incluir os genes S, E, M e N (Imagem 4). Os genes ORF1a (*open reading frame*) e ORF1b ocupam aproximadamente dois terços do genoma viral e são traduzidos especificamente em uma poliproteína com atividade intrínseca de replicase e

transcriptase. Tipicamente, o material genético dos CoVs consiste de pelo menos 6 ORFs, sendo que a primeira ORF ocupa a maior parte do genoma, codificando a maior proporção de proteínas virais (VAN BOHEEMEN *et al.*, 2012). A poliproteína produzida pelo ORF1 atua por meio de um mecanismo autoproteolítico mediado por duas proteases: a protease *Papain like* ( $PL^{pro}$ ) e a protease principal *3-C like* ( $3Cl^{pro}$  ou  $M^{pro}$ ), produzindo assim 16 proteínas não estruturais (*nsps- no structural proteins*), essenciais para a multiplicação e ciclo viral. A RNA polimerase RNA dependente (RdRp) é uma das proteínas não estruturais produzidas a partir do genoma dos CoVs e que está envolvida em etapas importantes da multiplicação viral, sendo atualmente alvo de alguns fármacos antivirais que se encontram em desenvolvimento (GAURAV., 2020).

Além disso, algumas proteínas acessórias podem ser sintetizadas a partir do RNA subgenômico do SARS-CoV-2 (FEHR *et al.*, 2015; FEHR & PERLMAN., 2015). Já foram identificados 8 genes acessórios no genoma do SARS-CoV que podem ser traduzidos em proteínas acessórias. Em relação ao SARS-CoV-2 é conhecido que este produza ao menos de 6 a 9 proteínas acessórias (WU *et al.*, 2020). Essas proteínas são produzidas a partir de genes ORFs localizados ao longo de todo o comprimento do material genético viral (WOO *et al.*, 2010).

É importante destacar que o material genético dos coronavírus é altamente susceptível a processos de recombinação genética, o que corrobora em processos de mutação que resultam em cepas de maior virulência e patogenicidade (HILGENFELD., 2014). Isso pode ser identificado por meio do rápido surgimento de variantes desse vírus, incluindo-se a variante delta (B.1.617.2) e a variante ômicron (B. 1.1.529) identificadas no final de 2021 e que apresentam maior potencial de transmissibilidade, apesar de não serem mais virulentas do que as outras cepas (TIAN *et al.*, 2021; THAKUR; KANTA RATHO., 2021). Essa capacidade de transmissão dessas variantes é acarretada por mecanismos de recombinação genética do gene que codifica a spike, facilitando assim o potencial invasivo do SARS-CoV-2 frente às células-alvo (TIAN *et al.*, 2021; THAKUR; KANTA RATHO., 2021).





**Figura 4. Organização genética típica de um Coronavírus.** O SARS-CoV-2 apresenta material genético de RNA de fita simples e sentido positivo (5' → 3'), apresentando um padrão que se assemelha com outros coronavírus. Tipicamente, esse material genético apresenta duas extremidades com regiões não traduzidas (5'-UTR e 3'-UTR) e entre essas extremidades há alguns genes estruturais (S, E, N e M) e ORFs (*Open reading frames*), responsáveis pela produção de proteínas não estruturais e acessórias, essenciais para a multiplicação viral. ADAPTADO DE KAUR *et al.*, 2021.

### 2.1.3 Ciclo de multiplicação do SARS-CoV-2

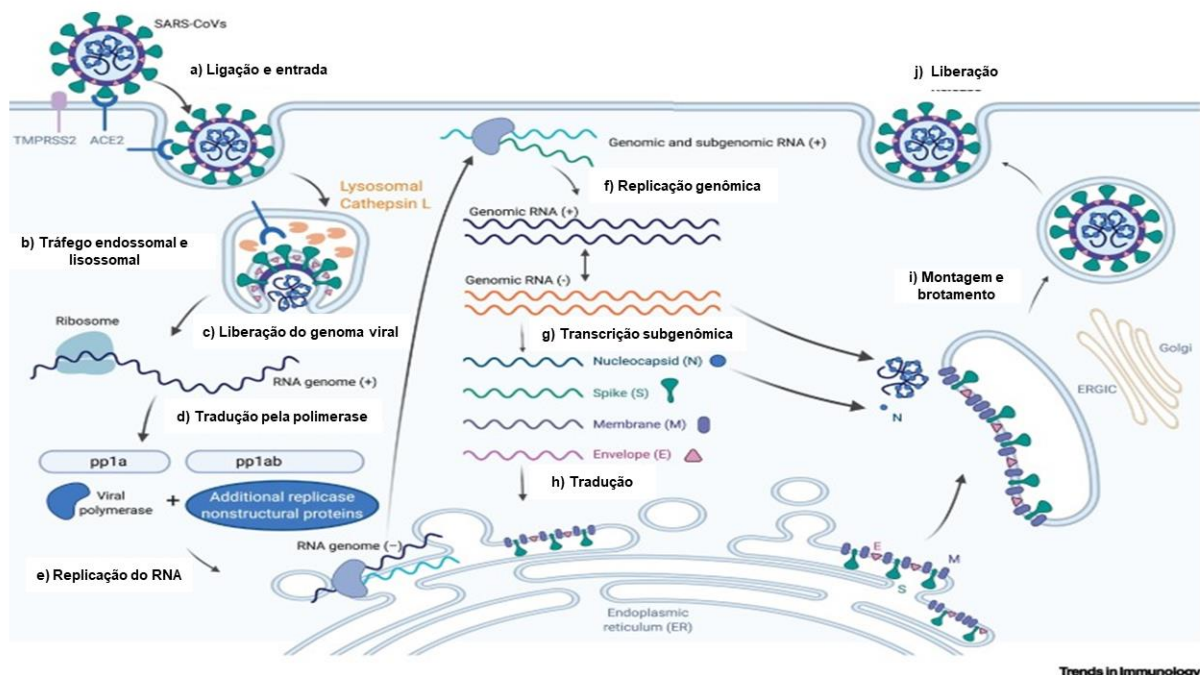
O SARS-CoV-2 tem acesso ao organismo humano seguindo algumas etapas específicas que, apesar de serem didaticamente separadas, ocorrem de maneira simultânea (KIRTIPAL; BHARADWAJ; KANG., 2020). A primeira etapa consiste na interação da glicoproteína *spike* presente na superfície viral diretamente com os receptores das células hospedeiras, principalmente a Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ECA 2), uma metaloproteinase, expressa pelas células epiteliais alveolares do tipo II, células epiteliais da traqueia, dos brônquios, por monócitos/macrófagos, por células endoteliais, células epiteliais tubulares renais, enterócitos, cardiomiócitos, células uroteliais, colangiócitos, dentre outras (LI *et al.*, 2003; KUMAR., 2021; GUO, HUANG, LIN., 2020; ZHANG *et al.*, 2020; CHAI *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020). Devido a isso, além das manifestações respiratórias, a COVID-19 também resulta em sintomas como diarreia, distúrbios cardiovasculares e manifestações urogenitais (GU; HAN; WANG., 2020). Essa interação ocorre entre a subunidade S<sub>1</sub> da proteína S e não é suficiente para que o vírus consiga adentrar a célula (WU *et al.*, 2020). Um segundo domínio dessa proteína, o domínio S<sub>2</sub>, é responsável por mediar o processo de fusão das partículas virais às células hospedeiras (LI *et al.*, 2003). Isso ocorre por meio da interação desse domínio com proteases destas células, corroborando na ativação dessas e consequentemente na

clivagem da proteína S para que assim o vírus consiga ter acesso ao citoplasma das mesmas (LI *et al.*, 2003).

O mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 às células hospedeiras tem sido explicado baseando-se no resultado das interações entre superfície viral e superfície hospedeira (KUMAR., 2020) (Imagem 5). A proteína S é clivada pela furina do hospedeiro em uma região básica denominada de PRAR em duas subunidades: a subunidade S1 e a subunidade S2 (KUMAR., 2020). A subunidade S1 apresenta resíduos de aminoácidos com afinidade pela ECA2 e é devido a isso que esta é a responsável pela interação do vírus com o receptor (HOFFMAN *et al.*, 2020). Para que o vírus consiga se fundir às células, a subunidade S2 se liga às proteases hospedeiras, ativando-as (HOFFMAN *et al.*, 2020; BOSCH, BARTELINK, ROTTIER., 2008). Um exemplo disso é a ligação dessa subunidade à TMPRSS 2 (Serinoprotease transmembrana 2), uma proteína transmembrana expressa pelas células epiteliais e que quando ativada realiza a clivagem proteolítica da proteína spike na posição S20, facilitando o processo de fusão viral e a infectividade (BOSCH, BARTELINK, ROTTIER., 2020). Logo após isso, a partícula viral é endocitada por meio de um mecanismo de endocitose mediado pela catepsina (KUMAR., 2020). O endossoma formado se associa a lisossomos, formando os endolisossomas (KUMAR., 2020). Esse ambiente, altamente ácido, induz a liberação de partes do material genético do vírus do nucleocapsídeo, o qual segue as etapas subseqüentes (KUMAR., 2020; KUBA *et al.*, 2010; WANG *et al.*, 2008). Algumas proteínas mantêm a homeostase do endossoma inicial e do endossoma tardio, podendo-se citar a TPC2 (*two pore channel 2*) e a PIKfyve (*Phosphatidylinositol 3-phosphate 5-kinase*) no endossoma inicial e a IFITM3 no endossoma tardio (OU *et al.*, 2020). Os endolisossomas, por sua vez, ainda podem se fundir às proteínas LC3-II do fagóforo e com a NSP8, formando assim os autofagolisossomas ou autolisossomas, onde o material genético viral é liberado para posterior tradução e produção de novas partículas virais infectantes (HOU *et al.*, 2020). Outro mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 às células hospedeiras se dá por meio do CD147, porém não se sabe detalhadamente como isso ocorre (KUMAR., 2020). Apesar disso, o fármaco meplazumab (anticorpo monoclonal) age inibindo esse receptor e apresenta efeitos de diminuição da severidade dos sintomas da COVID-19 (KUMAR., 2020).

Os genes ORF1a e ORF1b são liberados no citosol para serem traduzidos, por meio da utilização da maquinaria celular do hospedeiro, em poliproteína 1a (PP1a) e

1b (PP1b), as quais são hidrolisadas produzindo 15 nsps (LIM *et al.*, 2016). Essas proteínas, por sua vez, são produzidas no retículo endoplasmático rugoso e são encaminhadas ao complexo de golgi para a formação dos vírions que são eliminados das células por meio de um mecanismo de exocitose (LIM *et al.*, 2016). Essas partículas virais se disseminam pelas células próximas e as infectam em um ciclo intermitente (LIM *et al.*, 2016). A depender da condição do indivíduo infectado, o SARS-CoV-2 pode atingir a corrente sanguínea e infectar diversos tecidos, incluindo o tecido cardiovascular e o tecido nervoso, comprometendo o funcionamento adequado dos mesmos (LIM *et al.*, 2016).



**Figura 5. Ciclo de replicação do SARS-CoV-2.** O SARS-CoV-2 segue algumas etapas específicas para que consiga se multiplicar dentro das células hospedeiras, sendo **a**: ligação e entrada do vírus às células; **b**: tráfego endossomal e lisossomal; **c**: liberação do genoma viral; **d**: tradução pela proteína polimerase; **e**: replicação do RNA; **f**: replicação genômica; **g**: transcrição subgenômica; **h**: tradução das proteínas estruturais; **i**: montagem e brotamento; **j**: liberação das partículas virais por exocitose. ACE2 indica o receptor da célula hospedeira (Enzima Conversora de Angiotensina 2) e TMPRSS indica a protease de membrana da célula hospedeira (Serinoprotease transmembrana). Pp1a e pp1ab indicam as poliproteínas produzidas a partir do RNA viral. ADAPTADO de HARRISON; LIN; WANG., 2020.

#### 2.1.4 Resposta imunológica do organismo frente ao SARS-CoV-2

A resposta imunológica é determinante principal da gravidade e do desenvolvimento ou regressão da COVID-19 (LAING *et al.*, 2020). Em indivíduos saudáveis, geralmente, a imunidade inata consegue conter o vírus antes mesmo que este tenha acesso à corrente sanguínea e se dissemine pelos tecidos (LAING *et al.*, 2020). Células como macrófagos e células dendríticas (células apresentadoras de antígeno-APCs) são capazes de fagocitar as partículas virais e destruí-las mediante

mecanismos que envolvem Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) ou mecanismo de morte celular programada (LAING *et al.*, 2020). Alguns marcadores específicos podem ser observados no sangue periférico de pacientes com COVID-19, podendo-se incluir: aumento de anticorpos anti-SARS-CoV-2 específicos, aumento de citocinas (IL-6, IL-8 e IL-10), quimiocinas (CXCL10 ou IP-10), aumento do número de linfócitos T CD4+ e CD8+ circulantes e células B alteradas (LAING *et al.*, 2020). A depender do caso clínico envolvido, pode haver alterações específicas nesses parâmetros (LAING *et al.*, 2020).

A imunidade humoral se desenvolve rapidamente após a detecção do SARS-CoV-2 em pacientes infectados (TAN *et al.*, 2020). De acordo com a literatura, é possível detectar diferentes tipos de anticorpos anti-SARS-CoV-2 nesses pacientes, podendo-se incluir os anticorpos IgG anti-N, IgM anti-N, IgG anti-S1 e IgA anti-S1 (TAN *et al.*, 2020). Os anticorpos IgM são detectados em maiores concentrações na fase inicial da infecção (14 dias iniciais), enquanto que os anticorpos IgG são detectados em maiores concentrações na fase final da infecção, servindo geralmente como indicativo de bom prognóstico da doença (TAN *et al.*, 2020). Esses, por sua vez, aumentam durante 2 meses após o diagnóstico positivo por qPCR (Reação em Cadeia de Polimerase Quantitativa) e se mantêm em um platô durante mais dois meses (TAN *et al.*, 2020). Os anticorpos IgG anti-S1 e IgA anti-S1 têm seus níveis aumentados em aproximadamente 6 semanas após o diagnóstico positivo da doença, sendo o aumento disso proporcional à gravidade da doença (TAN *et al.*, 2020). Ainda não se sabe o tempo específico de imunidade garantida por esses anticorpos, porém, é conhecido que essa imunidade não é duradoura (TAN *et al.*, 2020). Além disso, é importante salientar que a potência da resposta imunológica determinará as diferentes variações da COVID-19 nos pacientes: assintomática, leve, moderada ou severa (TAN *et al.*, 2020).

Em pacientes assintomáticos, a extensão da lesão tecidual causada pela presença do vírus é muito pequena, sendo isso resultante de uma resposta pró-inflamatória muito menos acentuada em comparação à pacientes graves (HUNG *et al.*, 2020). Isso se dá devido a uma menor produção de citocinas pró-inflamatórias e aumento de citocinas que aumentam a atividade antiviral de células NK (*natural killers*) (HUNG *et al.*, 2020; TABATA *et al.*, 2020). A IL-12 pode ser encontrada em elevados níveis nestes pacientes, a qual induz um aumento da resposta antiviral das células NK

e de linfócitos Th1 associados a um aumento de interferons (IFNs), como o IFN- $\gamma$  (HUNG *et al.*, 2020; MIZUMOTO *et al.*, 2020) (Figura 6).

Ademais, sabe-se que essa citocina é capaz de induzir uma diminuição da expressão de ECA2 por um mecanismo ainda desconhecido (ORANGE, WOLF, BIRON., 1994; MONTEIRO, HARVEY, TRINCHIERI., 1998; KOMASTU, IRELAND, REISS., 1998). A IL-13, por sua vez, é uma citocina que atua principalmente em macrófagos, induzindo uma polarização para um padrão fenotípico M2 (macrófagos alternativamente ativados ou macrófagos anti-inflamatórios), o que suprime a secreção de citocinas pró-inflamatórias (IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-8), contribuindo assim na diminuição do dano tecidual (MINTY *et al.*, 1993). Essa citocina também é capaz de induzir uma diminuição da expressão de ECA nas células epiteliais pulmonares (MINTY *et al.*, 1993). Todos esses efeitos convergem para um aumento da atividade das células NK, as quais aumentam o *clearance* viral sem a necessidade de uma resposta imunológica excessiva que é responsável por causar lesão tecidual (MINTY *et al.*, 1993).

Em pacientes sintomáticos, a resposta pró-inflamatória é predominante sendo caracterizada pelo aumento de fatores como Fator Estimulante de Colônias de Macrófagos (M-CSF), Oncogene-  $\alpha$  regulado por crescimento (GRO-  $\alpha$ ), Fator Estimulante de Colônias de Granulócitos (G-CSF) e IL-6 (LONG *et al.*, 2020) (Figura 7).

O GRO-  $\alpha$  atua aumentando o infiltrado neutrofílico tecidual, atuando em receptores de quimiocinas acoplados à proteína G expressos principalmente em células endoteliais. Esse aumento de neutrófilos nos tecidos pode gerar extensivo dano tecidual, tendo em vista o aumento da produção de EROs produzidas por essas células (LIAN *et al.*, 2016).

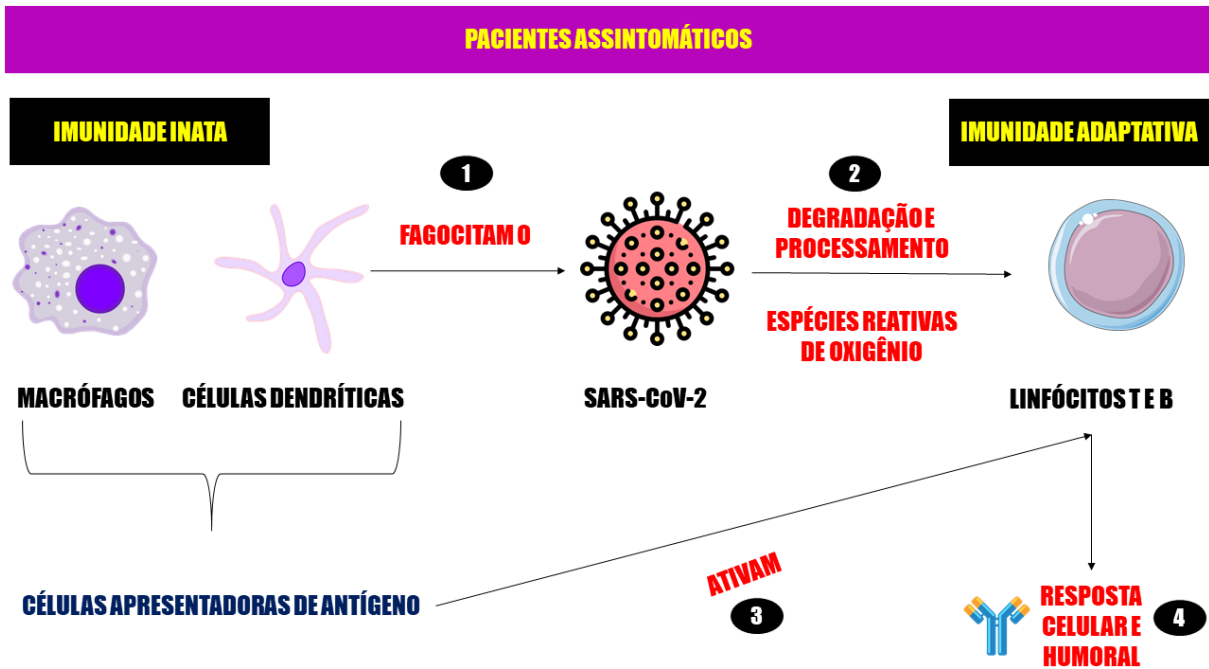
O M-CSF e o G-CSF são fatores produzidos principalmente no estroma da medula óssea e estão envolvidos diretamente com o crescimento, maturação e infiltração de monócitos e granulócitos (HAMILTON., 2008). Um aumento na quantidade desses fatores pode resultar em resposta pró-inflamatória exacerbada, tendo em vista que o número de células inflamatórias circulantes irá aumentar e, conseqüentemente a lesão tissular (HAMILTON., 2008).

Um equilíbrio entre uma resposta pró-inflamatória efetiva acompanhada de uma resposta antiviral controlada são os responsáveis por evitar que os casos moderados de COVID-19 progridam até os casos mais graves (KUMAR *et al.*, 2020). Além disso,

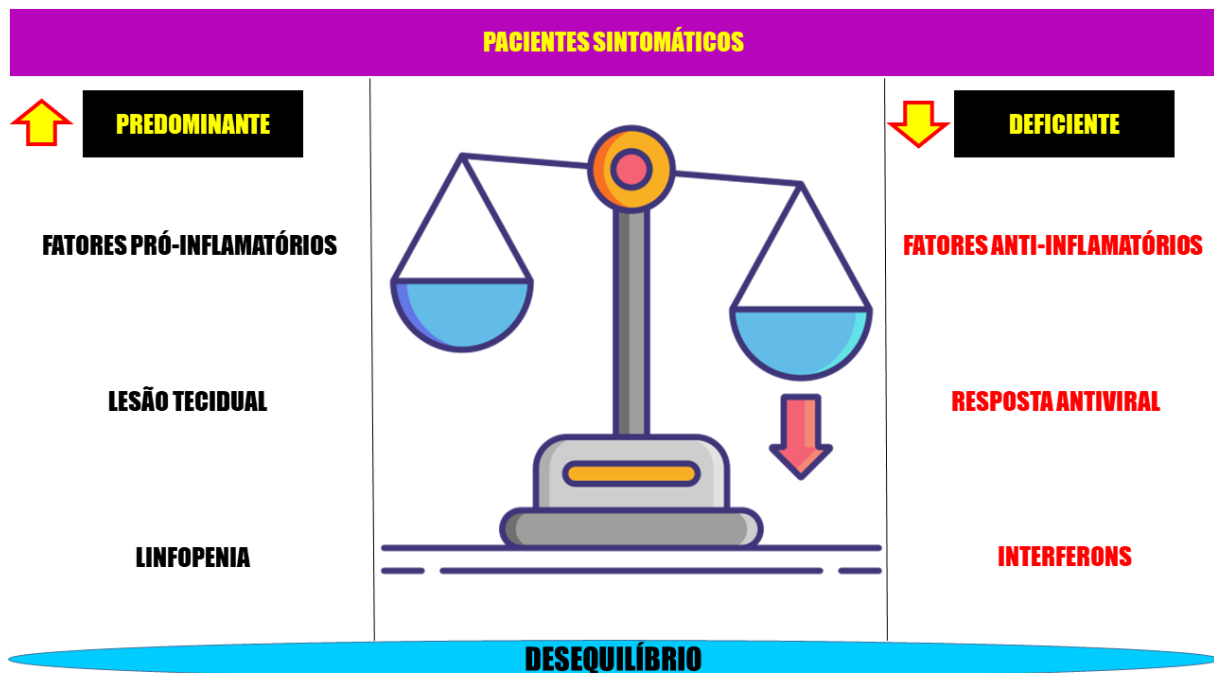
os anticorpos neutralizantes gerados em pacientes sintomáticos convalescentes permanecem em níveis elevados por um maior período de tempo em comparação a indivíduos assintomáticos convalescentes, sendo isso resultante da diminuição da morte celular apoptótica entre células B em repouso e ativadas (O'CONNOR *et al.*, 2003). Apesar disso, não se sabe se a imunidade nesses casos é realmente duradoura, o que demanda mais estudos (O'CONNOR *et al.*, 2003).

Já em pacientes com COVID-19 severa há uma supressão/diminuição nas células da imunidade adaptativa, principalmente linfócitos T CD4+ e T CD8+ (KURI-CERVANTES *et al.*, 2020; SEKINE *et al.*, 2020). Indivíduos mais velhos e/ou com comorbidades apresentam maior possibilidade de adquirirem a doença em sua manifestação mais severa, tendo em vista que nessas pessoas há uma diminuição das células produtoras de IFN- $\gamma$ , um importante fator antiviral (SATTLER *et al.*, 2020; BAO *et al.*, 2020). A apoptose de linfócitos T CD4+ em pacientes idosos com COVID-19 pode ser visualizada por meio da anexina V, um marcador de morte celular que se encontra elevado nesses indivíduos (PONTELLI *et al.*, 2020). Essa diminuição de linfócitos T CD4+ também está correlacionada com um aumento de GM3 circulante (PONTELLI *et al.*, 2020). O aumento de IL-6 causa linfopenia acompanhada de diminuição da expressão de alguns fatores como HLA-DR, -E e -F em células imunes, o que leva à imunossupressão (PONTELLI *et al.*, 2020).

Outro evento bem característico da COVID-19 grave é a tempestade de citocinas, caracterizada por um aumento exacerbado na concentração plasmática de alguns fatores pró-inflamatórios, incluindo-se IL-2R, IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, MCP-1, MIP1- $\alpha$ , G-CSF e TNF- $\alpha$ , sem um aumento dos monócitos, células NK e células T circulantes (HUANG *et al.*, 2020; MANGALMURTI, HUNTER., 2020). Isso leva a extensivo dano tecidual mediado pela ativação da cascata do complemento, resultando no aumento das proteínas C3a, C5a, C4 e Sc5B-9 no sangue periférico (RAMLALL *et al.*, 2020). A cascata do complemento é caracterizada pela formação de um complexo de proteínas que resulta em um poro característico na membrana plasmática das células-alvo, denominado de Complexo de Ataque à Membrana (MAC), levando à destruição destas por meio da perda de seus componentes citoplasmáticos (CUGNO *et al.*, 2020).



**Figura 6. Resposta imune em pacientes assintomáticos.** Em pacientes assintomáticos, a imunidade inata é capaz de conter a invasão do vírus mediante mecanismos de degradação antigênica que envolvem macrófagos e células dendríticas. Essas células, denominadas de Células Apresentadoras de Antígeno (APCs) degradam o vírus e apresentam os produtos de degradação aos linfócitos T por meio de moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC). Os linfócitos T, após ativados, produzem citocinas e ativam células B, as quais se diferenciam em plasmócitos, se multiplicam e passam a produzir e liberar os anticorpos. A proporção de citocinas pró-inflamatórias produzidas em indivíduos assintomáticos é muito menor, acarretando assim em menor lesão tecidual. **Fonte:** AUTOR, 2021.



**Figura 7. Resposta imune em pacientes sintomáticos.** Em pacientes sintomáticos, há um desequilíbrio entre fatores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios. Os fatores pró-inflamatórios, causadores de lesão tecidual associados a um aumento do infiltrado inflamatório tecidual levam a danos que podem se tornar irreversíveis. Além disso, uma queda no número de linfócitos circulantes

associada à uma fraca resposta antiviral mediada por interferons facilita a infecção e consequentemente à sepse, levando o SARS-CoV-2 até a corrente sanguínea e, posteriormente aos tecidos. **Fonte:** AUTOR, 2021.

### **2.1.5 Manifestações clínicas da COVID-19**

Devido à expressão da ECA2 em diferentes tecidos, a COVID-19 pode se manifestar clinicamente por meio de diferentes sintomas, incluindo-se: diarreia, febre, tosse produtiva, vômitos e dores abdominais nos casos mais leves (KUMAR., 2021). As manifestações da COVID-19 em sua forma mais grave podem se expressar por meio de sintomas neurológicos, como perda de visão, perda de olfato (anosmia), perda de paladar (ageusia) e cefaleias intensas que podem persistir mesmo após a recuperação da doença (VAIRA *et al.*, 2020; PIZZORNO *et al.*, 2020). A Síndrome Neuroléptica Maligna (SNM) já tem sido descrita em alguns casos de COVID-19 grave, sendo uma manifestação neurológica caracterizada por tremores, alteração no estado mental, rigidez exacerbada e disfunção autonômica, sendo resultante da infecção e destruição de neurônios à nível de Sistema Nervoso Central (SNC) (KAJANI *et al.*, 2020; PELONERO; LEVENSON; PANDURANGI., 1998).

Tratando-se de manifestações respiratórias, sabe-se que a mais comum em pacientes com COVID-19 é a pneumonia, a qual resulta em dano pulmonar agudo levando o paciente à necessidade de suporte ventilatório (KUMAR., 2021). Isso leva a quadros de hipoxemia que se não controlados rapidamente podem gerar disfunção múltipla dos órgãos (KUMAR., 2021). Já é descrito na literatura que em pacientes com COVID-19 moderada à grave é possível observar opacidades em vidro fosco nas radiografias dos pulmões, sendo isso indicativo de dano pulmonar que pode ser irreversível, tendo em vista que tal evento pode ser um sinal clássico de fibrose pulmonar (KUMAR., 2021).

Os sintomas gastrointestinais normalmente surgem antes mesmo dos sinais inflamatórios (febre, dor, calor, edema e perda de função), tendo em vista que ao longo de todo o trato gastrointestinal (TGI) há células que expressam ACE2 e TMPRSS2 de forma acentuada, principalmente as células epiteliais intestinais (enterócitos) (GU; HAN; WANG., 2020). Dessa forma, é nítido que o SARS-CoV-2 também é facilmente transmitido por meio da via oral-fecal (GU; HAN; WANG., 2020).

Já foi observado em diversos estudos que pacientes que morrem devido às complicações da COVID-19 apresentam manifestações clínicas semelhantes, incluindo dispneia, leucocitose, linfopenia, desordens cognitivas e sensação de aperto



no peito (KURI-CERVANTES *et al.*, 2020; CHEN *et al.*, 2020). Além disso, marcadores bioquímicos indicativos de inflamação e desordens metabólicas estão excessivamente desregulados nesses pacientes, incluindo a alanina aminotransferase (ALT), a aspartato aminotransferase (AST), a creatinoquinase (CK), a troponina cardíaca, ferritina, creatina e a lactato desidrogenase (LDH) (SONG *et al.*, 2020).

Sabe-se também que a COVID-19 é responsável por induzir manifestações trombóticas e coagulativas excessivas, sendo isso observado por meio do aumento de alguns marcadores de coagulação nos pacientes, principalmente do D-dímero (JI *et al.*, 2020). Isso torna a possibilidade de formação de trombos e êmbolos muito maior, o que pode acarretar em distúrbios circulatórios graves (JI *et al.*, 2020).

Mulheres, crianças e indivíduos com tipo sanguíneo O incluem-se dentro do grupo com menor possibilidade de manifestar a COVID-19 em sua forma mais grave, apesar de ainda não estarem bem esclarecidos os motivos que levam a isso (KURI-CERVANTES *et al.*, 2020; AKHTAR *et al.*, 2020). Fatores que podem potencializar a doença incluem doenças crônicas, como diabetes *mellitus*, dislipidemias, disfunções cardiovasculares, obesidade e doenças pulmonares (ZHU *et al.*, 2020; GUO; HANG; LIN., 2019). Idosos também se incluem dentro do grupo de risco da doença, uma vez que durante a terceira idade, um evento conhecido como imunossenência começa a se desenvolver (PAWELEC., 2018). Este, por sua vez, se caracteriza por um envelhecimento do sistema imune, se manifestando molecularmente por um encurtamento dos telômeros das células de defesa, bem como uma diminuição de suas funcionalidades (PAWELEC., 2018). Poucos são os estudos que correlacionam esse evento com a COVID-19 em idosos, apesar de que teoricamente, tal correlação faz total sentido (PAWELEC., 2018).

Distúrbios de coagulação são comuns em pacientes com COVID-19 grave, sendo um deles a Coagulação Intravascular Disseminada (CIVD) (LEVI *et al.*, 2008). Esse evento se caracteriza por um aumento da formação de coágulos em diferentes vasos sanguíneos sem um controle na produção entre fatores pró-coagulantes e anticoagulantes (LEVI *et al.*, 2008). Isso leva à disfunção de diversos órgãos, tendo em vista que esses coágulos formados podem se desprender das paredes dos vasos, atingir a corrente sanguínea e se depositarem em vasos de menor calibre, principalmente em membros inferiores e nos pulmões (LEVI *et al.*, 2008). Em um ensaio de dano pulmonar agudo realizado *in vitro* foi visto que os fosfolípidos

oxidados (comuns em eventos de coagulação) são capazes de ativar macrófagos pela via dos *Toll-like receptors* (TLRs), mais especificamente pela via TLR4–TRIF–TRAF6–NF- $\kappa$ B (IMAI *et al.*, 2008). O NF- $\kappa$ B (Fator transcricional *kappa* B) é um fator transcricional que é encontrado no citoplasma das células em sua forma inativa (KHONGTHONG; ROSEWEIER; EDWARDS., 2019). Quando ativado, esse fator se transloca para o núcleo se ligando a regiões promotoras de genes de citocinas pró-inflamatórias, induzindo um aumento da expressão destas (KHONGTHONG; ROSEWEIER; EDWARDS., 2019). No caso dos macrófagos, um aumento da peroxidação lipídica (comum na coagulação) leva a um aumento da translocação desse fator, levando conseqüentemente a um aumento da inflamação seguida por aumento da lesão tissular (KHONGTHONG; ROSEWEIER; EDWARDS., 2019).

#### **2.1.6 Diagnóstico da COVID-19**

A COVID-19 pode ser diagnosticada por meio de critérios clínicos, laboratoriais e epidemiológicos (LI *et al.*, 2020). O diagnóstico clínico se baseia na sintomatologia típica da doença que, apesar de ser semelhante a outras viroses, apresenta algumas características que a diferem (LI *et al.*, 2020). Os sintomas mais comuns são: febre (em 80% dos casos), tosse (mais de 60% dos casos), fadiga (em mais de 35% dos casos), astenia (10-15% dos casos) e sintomas neurológicos (perda de olfato e paladar) (HEYMANN & SHINDO., 2020; ZHANG *et al.*, 2020). Devido à elevada incidência da doença e baseando-se nesses sintomas, o médico é capaz de dar o diagnóstico mesmo sem a necessidade da realização de exames, apesar de ser recomendado que estes sejam realizados com objetivo de se confirmar a doença (HEYMANN & SHINDO., 2020; ZHANG *et al.*, 2020) (Figura 8).

O diagnóstico laboratorial da COVID-19 pode ser feito por meio de diversos testes, sendo os principais deles o teste de amplificação do ácido nucleico (TAAN) e os exames sorológicos (LAI *et al.*, 2020). O TAAN baseia-se em uma reação no qual o material genético do vírus presente em amostras biológicas será amplificado e detectado por meio de uma reação em cadeia de polimerase fluorescente em tempo real (RT-PCR) (WU *et al.*, 2020). Para isso, essas amostras podem ser obtidas através de *swab* da região nasofaríngea ou até mesmo por meio do sangue (WU *et al.*, 2020). Se a concentração de vírus estiver muito baixa na amostra biológica, a possibilidade do teste dar resultados falso-negativos é muito elevada (DAI *et al.*, 2020). Apesar disso, considera-se o RT-PCR como o padrão-ouro no diagnóstico da COVID-19 e devido a isso é o mais recomendado pela OMS (DAI *et al.*, 2020) (Figura 9).

Alguns problemas podem influenciar nos resultados obtidos a partir do RT-PCR, podendo-se citar: calibração inadequada, falsa identificação, preparo da amostra, estabilidade, sensibilidade, tempo de realização e custo (LIPPI *et al.*, 2020; SHAIK *et al.*, 2020). Devido a isso, alguns kits já têm sido desenvolvidos e aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA) com o objetivo de garantir a qualidade dos resultados obtidos, bem como diminuir o tempo para a obtenção dos mesmos (DEVICES., 2020).

O diagnóstico sorológico, por sua vez, se baseia na análise, detecção e quantificação de anticorpos anti-SARS-CoV-2 produzidos pelas células do sistema imune durante a infecção (PATEL *et al.*, 2020). Esses testes podem ser de vários tipos, sendo os principais deles os qualitativos (apenas detectam os anticorpos), quantitativos (quantificam os anticorpos) e os semi-quantitativos (CARTER *et al.*, 2020). A depender dos tipos de anticorpos e quantidades detectadas, os clínicos têm um norte acerca do estágio da doença do paciente (CARTER *et al.*, 2020). Além disso, a análise do perfil de anticorpos em uma população pode ser extremamente útil para objetivos epidemiológicos (CARTER *et al.*, 2020).

Diversas técnicas podem ser utilizadas para a detecção e quantificação de anticorpos no soro de pacientes, sendo as principais delas a técnica de ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*) e ensaios de quimioluminescência (LAI; LAM., 2021). Apesar de diferirem em alguns aspectos, ambos se baseiam em interações antígeno-anticorpo, sendo os antígenos mais utilizados o antígeno N e o S (LAI; LAM., 2021). Alguns testes conseguem quantificar as imunoglobulinas G (IgGs) e as M (IgMs), enquanto outros conseguem quantificar apenas um destes ou ainda a imunoglobulina A (IgA), sendo isso dependente do fabricante (LAI; LAM., 2021). Esses testes também podem gerar resultados falsos-positivos devido à reação cruzada com outros coronavírus e patógenos (LAI; LAM., 2021).

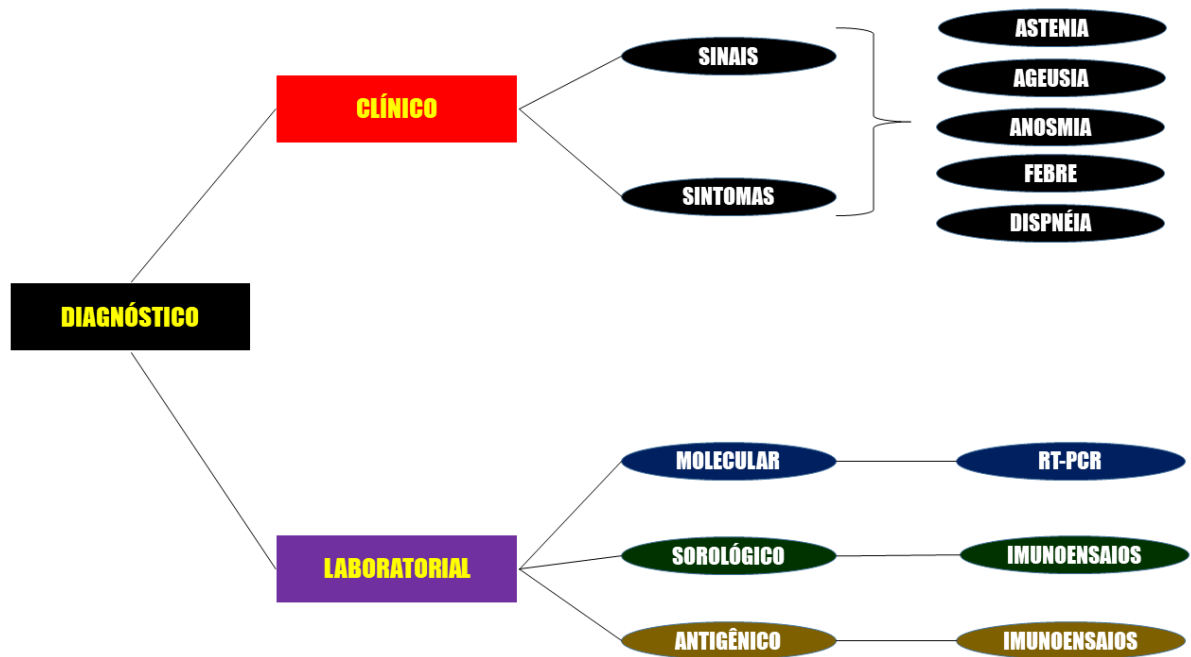
A sensibilidade dos testes de detecção de anticorpos é muito baixa nas primeiras semanas após a infecção pelo vírus, tendo em vista que no começo não há tempo suficiente para que os plasmócitos se multipliquem, produzam e liberem as imunoglobulinas na corrente sanguínea (LAMBERT-NICLOT *et al.*, 2020). Dessa forma, recomenda-se que esses tipos de exames sejam realizados apenas três a quatro semanas após o início dos sintomas, fazendo com que a sensibilidade do teste aumente (OMS., 2020).

Além disso, o *Center for Diseases Control (CDC)* recomenda que seja realizada a detecção e quantificação de anticorpos utilizando dois métodos diferentes, de modo a se garantir a acurácia e a robustez do método (GARCIA *et al.*, 2020).

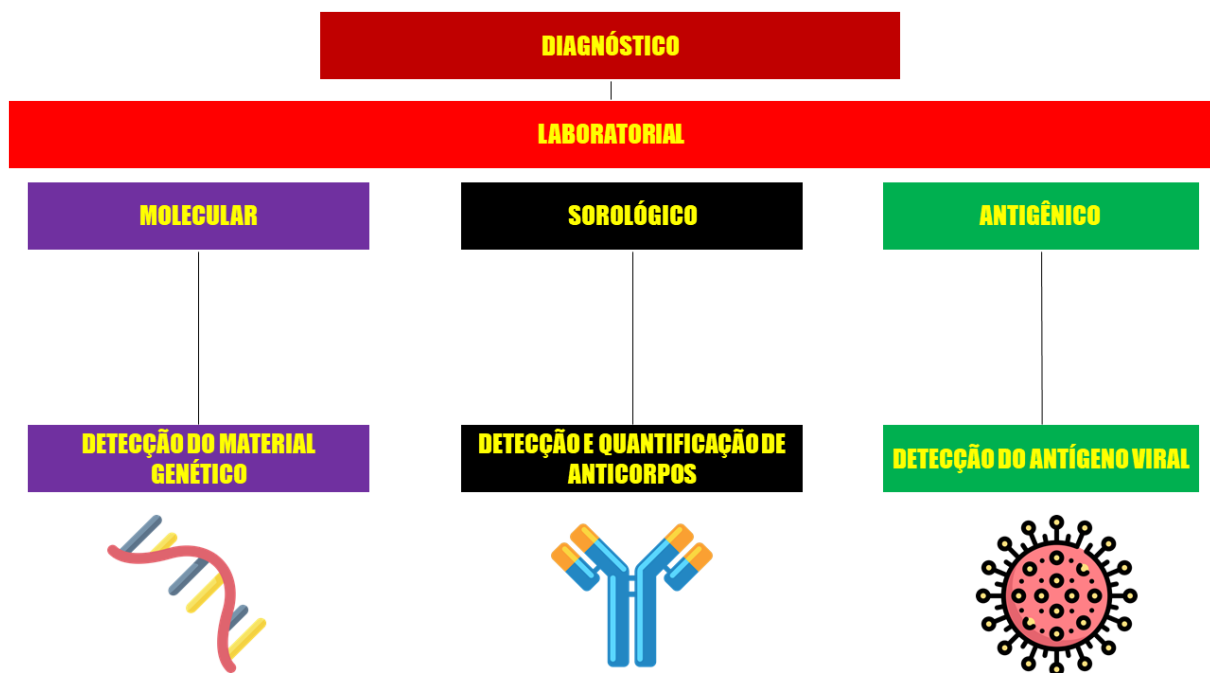
Os testes rápidos de COVID-19 passaram a ser utilizados com muita frequência em farmácias após o apogeu da pandemia e a grande maioria deles detecta a presença de um epitopo antigênico do SARS-CoV-2 presente em amostras biológicas, a proteína N (nucleocapsídeo) (LAI; LAM., 2021). Geralmente, para a realização desses exames são utilizadas amostras de nasofaringe ou de saliva, as quais são aplicadas aos kits (LAI; LAM., 2021).

Várias são as tecnologias que servem de base para o entendimento e interpretação dos resultados desses testes, sendo as principais delas os ensaios imunológicos sanduíches de fluxo lateral, os ensaios de imunofluorescência microfluídica e os imunoenaios de cromatografia digital (LAI; LAM., 2021). Os resultados são obtidos em um intervalo rápido entre 15 e 30 minutos (LAI; LAM., 2021). A sensibilidade destes pode variar e chegar a valores acima de 97%, porém, a especificidade é baixa, sendo a possibilidade de resultados falso-positivos maior devido à reatividade cruzada com proteínas de outros coronavírus (OMS., 2020).

Os testes de antígeno apresentam diversas vantagens, podendo-se incluir dentre elas a rapidez para a obtenção do resultado, a possibilidade de detecção do vírus nos estágios iniciais da infecção e a facilidade e praticidade para a realização dos mesmos (WEISS; JELLINGSØ; SOMMER., 2020; KIMBALL *et al.*, 2020). A OMS recomenda que esses testes sejam realizados principalmente em locais cuja possibilidade de realização de RT-PCR é baixa, bem como em pacientes que apresentem elevada carga viral (OMS., 2020).



**Figura 8. Tipos principais de diagnóstico da COVID-19.** Os dois principais tipos de diagnóstico para a COVID-19 são o clínico e o laboratorial. O diagnóstico clínico se baseia principalmente nos sinais e sintomas típicos da doença. O diagnóstico laboratorial pode ser dado a partir de diferentes testes, sendo os principais deles o molecular (RT-PCR), o sorológico (ELISA) e o antigênico (kits rápidos). **Fonte:** AUTOR, 2021.



**Figura 9. Principais tipos de testes laboratoriais para diagnóstico do SARS-CoV-2.** O diagnóstico laboratorial da COVID-19 pode se dar através da detecção do material genético do vírus (molecular-RT-PCR), por meio dos anticorpos neutralizantes anti-SARS-CoV-2 presentes no soro dos pacientes (diagnóstico sorológico) ou por meio de testes rápidos que detectam epítomos antigênicos (diagnóstico antigênico). **Fonte:** AUTOR, 2021.

### 2.1.7 Tratamento medicamentoso da COVID-19

Não há nenhum fármaco comprovadamente eficaz para a profilaxia da COVID-19 no Brasil e no mundo (WANG *et al.*, 2020). O tratamento dessa doença é sintomático, ou seja, foca especificamente no controle de sintomas graves que podem progredir até o óbito do paciente (WANG *et al.*, 2020). Geralmente são utilizados anti-inflamatórios não-esteroidais (AINES) e corticoides para o controle dos sintomas, porém, isso deve ocorrer em ambiente hospitalar sob monitoramento de profissionais da saúde (IBÁÑEZ *et al.*, 2020) (Figura 10). Apesar disso, um grande esforço científico ao redor do mundo tem sido realizado com o objetivo de reposicionar drogas já utilizadas para o tratamento de outras viroses no tratamento da COVID-19 (WANG *et al.*, 2020). Vários estudos *in vitro* foram realizados com diversas drogas com prévios efeitos antivirais, incluindo a nitazoxanida, a ivermectina, a cloroquina e a ribavirina, apresentando todas algum efeito antiviral frente às amostras de SARS-CoV-2 (WANG *et al.*, 2020). Apesar disso, sabe-se que estudos de laboratório não são suficientes para a liberação e comercialização de fármacos para uso humano (WANG *et al.*, 2020).

A cloroquina (CQ) é um fármaco com uso aprovado para o tratamento da Malária, do Lúpus Eritematoso Sistêmico e da Artrite Reumatoide (BUKHARI; MAHMOOD; ZAHRA., 2020). Diversos estudos *in vitro* já demonstraram os efeitos antivirais dessa droga frente a alguns vírus, incluindo o vírus da influenza, coronavírus, ortomixovírus, vírus da dengue e Chikungunya (GAY *et al.*, 2020; KHAN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020). Esse fármaco é uma base fraca que adentra em compartimentos ácidos, como os lisossomos e tecidos inflamados, interferindo na atividade lisossomal, na estabilidade da membrana celular e na atividade transcricional celular (SCHREZENMEIER; DÖRNER., 2020). Além disso, estudos já demonstraram que a cloroquina também inibe a quinona redutase, enzima importante e limitante da síntese de ácido siálico, componente da membrana plasmática celular que está envolvido com a entrada de alguns vírus nas células (OLOFSSON *et al.*, 2005; BAKKERS *et al.*, 2017). Também há evidências *in vitro* de que a cloroquina interfere na glicosilação da ECA2, impedindo a ligação do vírus ao receptor e consequentemente a sua entrada às células (VINCENT *et al.*, 2005). Outro mecanismo proposto para a cloroquina é o de inibição da MAPK (Proteinoquinase ativada por mitógeno), essencial para a etapa de replicação viral (SEITZ *et al.*, 2003; BRIANT *et al.*, 1998).

Apesar de todas as evidências pré-clínicas de que a cloroquina é capaz de apresentar efeitos anti-SARS-CoV-2, sabe-se que clinicamente esse fármaco não é efetivo frente à doença (BOULWARE *et al.*, 2020). Diversos ensaios clínicos randomizados duplo-cegos, revisões sistemáticas e meta-análises já mostraram que esse fármaco não diminui a intensidade da COVID-19 em pacientes graves, nem mesmo previne a infecção em indivíduos saudáveis e imunocompetentes (BOULWARE *et al.*, 2020; FIOLET *et al.*, 2021; CAVALCANTI *et al.*, 2021; CHIVESE *et al.*, 2021). Além disso, o uso de cloroquina pode potencializar a doença e dificultar o prognóstico, devido a sua elevada toxicidade, principalmente frente ao sistema cardiovascular, levando a disfunções como taquiarritmias, *torsades de pointes* e paradas cardíacas, resultantes do prolongamento do intervalo QT no eletrocardiograma (CHEN *et al.*, 2020).

A hidroxicloroquina (HCQ) também faz parte mesmo grupo farmacológico da CQ, ou seja, das aminoquinolinas, com uma diferença química estrutural, sendo caracterizada pela presença de uma cadeia lateral N-hidroxietil no local da cadeia N-dietil da CQ (SAHRAEI *et al.*, 2020). A HCQ é um análogo menos tóxico, apresentando menor volume de distribuição, bem como menor penetração nos tecidos (LIU *et al.*, 2020). Em comparação à CQ, a HCQ apresenta menor possibilidade de gerar retinopatia nos pacientes devido a menor capacidade desse fármaco em penetrar a retina (RYNES; BERNSTEIN., 1993). O mecanismo de ação desse fármaco é o mesmo da CQ, se caracterizando pela alcalinização dos lisossomos e modulação do sistema imune, apresentando os mesmos efeitos antivirais da CQ (LIU *et al.*, 2020). Apesar de ser menos tóxica e apresentar efeitos semelhantes ao da CQ, clinicamente essa droga é ineficaz frente à pacientes com COVID-19 e não melhora os desfechos da doença, assim como mostram alguns ensaios clínicos, estudos de revisão sistemática e metanálise (BOULWARE *et al.*, 2020; FIOLET *et al.*, 2021; CAVALCANTI *et al.*, 2021; CHIVESE *et al.*, 2021).

O remdesivir, por sua vez, é um fármaco que também apresenta diversos estudos *in vitro* comprovando sua atividade frente a alguns tipos de vírus, incluindo o vírus da Ebola (EBOV), o vírus Nipah, o vírus sincicial respiratório, o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV), o coronavírus da síndrome respiratória aguda 1 (SARS-CoV-1) e o SARS-CoV-2 (LO *et al.*, 2020; SHEAHAN *et al.*, 2017; AGOSTINI *et al.*, 2018). Essa pró-droga é um análogo do nucleosídeo adenosina, sendo incorporado à célula e sequencialmente trifosforilado por quinases

intracelulares (SINGH *et al.*, 2020). Esse derivado trifosforilado é responsável por inibir a RNA polimerase RNA dependente (RdRp) do SARS-CoV-2 por meio da incorporação desse nucleosídeo à cadeia crescente de RNA do vírus (SINGH *et al.*, 2020). Ao se incorporar, esse fármaco inibe a elongação da cadeia de RNA e consequentemente inibe a replicação viral (SINGH *et al.*, 2020).

Estudos *in vitro* realizados em células Vero demonstraram a efetividade do remdesivir em inibir a entrada do SARS-CoV-2 nestas (WANG *et al.*, 2020). Em um estudo realizado em macaco *Rhesus*, foi observado que o grupo tratado com remdesivir apresentou uma diminuição no infiltrado pulmonar de SARS-CoV-2, bem como no lavado broncoalveolar em comparação ao grupo controle tratado com salina (WILLIAMSON *et al.*, 2020). Além disso, foi visto que o remdesivir é capaz de inibir a multiplicação viral na cavidade nasal e nos brônquios, o que encorajou a realização de estudos clínicos com esse fármaco para o tratamento da COVID-19 (WILLIAMSON *et al.*, 2020).

O uso emergencial do remdesivir foi autorizado pela FDA (*Food and drug administration*) em 2020 para uso em pacientes hospitalizados com suporte ventilatório mesmo sem haverem evidências clínicas suficientes para isso (ISON; WOLFE; BOUCHER., 2020). Em um dos ensaios clínicos randomizados controlados por placebo e duplo-cegos não foi vista nenhuma diferença nos desfechos primários comparando-se o grupo tratado com remdesivir e o grupo placebo (WANG *et al.*, 2020). Em relação aos óbitos foi visto nesse mesmo estudo que não houve diferença entre os grupos (14% de morte no grupo remdesivir e 13% de morte no grupo placebo;  $\Delta$ 1.1%, 95% CI- 8.1 a 10.3%) (WANG *et al.*, 2020). Além disso, nenhuma diferença entre a carga viral dos dois grupos foi observada (WANG *et al.*, 2020). É importante salientar também que foi comparado os desfechos do remdesivir administrado na fase aguda e na fase crônica da infecção, não havendo nenhuma diferença entre esses subgrupos (WANG *et al.*, 2020). Alguns estudos demonstram alguma efetividade dessa droga frente aos casos mais graves de COVID-19, no entanto, estudos com melhor fundamentação metodológica e com um maior número de pacientes são demandados para que se obtenham mais resultados fidedignos (GREIN *et al.*, 2020). Apesar disso, o uso hospitalar desse fármaco segue sendo permitido pelas agências reguladoras de saúde de alguns países, incluindo dos Estados Unidos da América (EUA), do Brasil e da França (GREIN *et al.*, 2020).

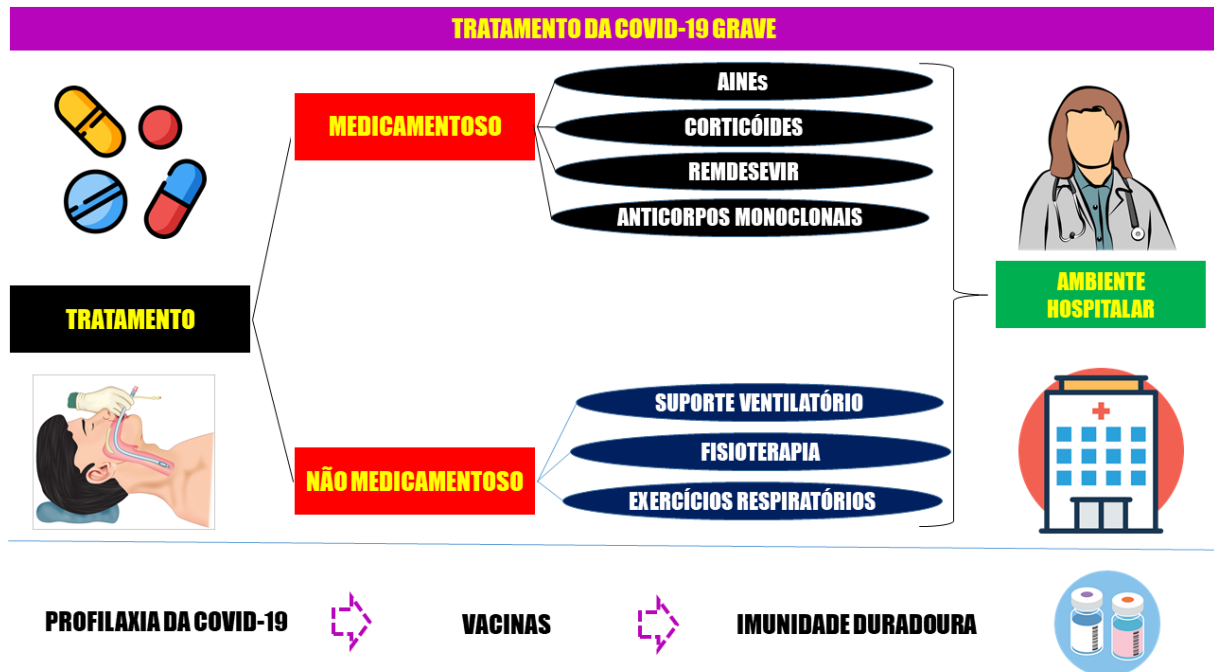


O remdesivir se encontra disponível em formulações no estado sólido (pó) em uma massa de 100 mg para serem ressuspensas em um volume de 19 mL de água estéril e diluídas em solução fisiológica para administração por via intravenosa (SINGH *et al.*, 2020). A estabilidade da solução pode ser de 4h sob temperatura ambiente (20°C- 25°C) e de 24h em temperaturas refrigeradas (2°C- 8°C) (SINGH *et al.*, 2020). Devido a isso, esse medicamento só pode ser utilizado em ambientes controlados, como no caso de hospitais e clínicas (SINGH *et al.*, 2020).

O bevacizumab é um anticorpo monoclonal recombinante humano que tem seu uso aprovado para diversos tipos de neoplasias, incluindo-se neoplasias de ovário, de pulmão e de rins (ZHANG; ZHOU., 2020). Além disso, esse anticorpo faz parte da primeira linha do tratamento do câncer colorretal metastático (COWLING; LEUNG., 2020). Seu mecanismo de ação se baseia na inibição do VEGF (Fator de crescimento epidérmico vascular), um mediador que está envolvido principalmente com a angiogênese e o desenvolvimento de metástase (SCHOEMAN; FIELDING., 2019). Em alguns estudos recentes foi mostrado que em pacientes com COVID-19 grave a concentração plasmática de VEGF se encontra elevada e que isso está diretamente relacionado ao desenvolvimento de edema pulmonar, dispneia, síndrome respiratória aguda e dano pulmonar agudo, os quais dificultam o prognóstico da doença (SCHOEMAN; FIELDING., 2019). Devido a isso, alguns ensaios clínicos encontram-se em andamento com o objetivo de se verificar a real efetividade desse no controle da COVID-19 grave (SCHOEMAN; FIELDING., 2019).

Fármacos inibidores da protease viral, como o ritonavir e o lopinavir têm sido utilizados de forma efetiva no tratamento do HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) e o mecanismo de ação destes se baseia na inibição da síntese de proteínas estruturais e não estruturais desse vírus a partir de poliproteínas (CHU *et al.*, 2004). Alguns ensaios *in vitro* demonstram a efetividade da combinação ritonavir/lopinavir na inibição de uma das proteases do SARS-CoV-2, a qual é essencial para o processo de replicação do vírus (DE WILDE *et al.*, 2014). Apesar disso, são escassos os ensaios clínicos que demonstrem a efetividade dessa combinação no tratamento de pacientes com COVID-19 (HUNG *et al.*, 2020). 60 ensaios clínicos encontravam-se registrados no mundo até 29 de outubro de 2021 no Clinical Trials (Clinicaltrial.gov.in). Desses, a grande maioria ainda se encontra em andamento, demonstrando assim que não há evidências clínicas suficientes que suportem o uso dessa combinação no tratamento da COVID-19.

Em um dos ensaios clínicos realizados, foi visto que não houve diferença significativa nos desfechos primários e secundários do grupo de pacientes que receberam a combinação ritonavir/lopinavir e entre o grupo placebo, sugerindo assim a necessidade da realização de novos estudos para que se comprove a efetividade ou a ineficácia desses fármacos frente ao SARS-CoV-2 (HUNG *et al.*, 2020).



**Figura 10. Tratamento da COVID-19.** O tratamento da COVID-19 pode ser dividido em medicamentoso e não-medicamentoso. O tratamento medicamentoso, por sua vez, é sintomático, sendo mais voltado para o controle dos sintomas da doença, principalmente os inflamatórios, se baseando no uso de fármacos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs), antiinflamatórios esteroidais (AIEs/Corticóides), anticorpos monoclonais e remdesivir. O tratamento não-medicamentoso, por sua vez, atua como adjuvante no controle da doença, envolvendo principalmente o suporte ventilatório, a utilização de exercícios respiratórios e o acompanhamento de profissionais da fisioterapia. A única forma profilática da COVID-19 são as vacinas, cuja liberação e início do uso se deram a partir do final de 2020. **Fonte:** AUTOR, 2021.

### 2.1.8 Produtos naturais e COVID-19

Historicamente, diversos tipos de produtos naturais têm sido utilizados como adjuvantes no tratamento de diversas patologias, incluindo doenças virais (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2021). Na literatura há diversos registros de espécies vegetais com atividade *in vitro* comprovada frente ao SARS-CoV-2, podendo-se incluir a *Glycyrrhiza glabra*, a *Zingiber officinale*, a *Camellia sinensis*, a *Allium sativa* e a *Echinacea purpurea* (SULTAN *et al.*, 2014). Os fitoquímicos principais responsáveis por suas atividades farmacológicas *in vitro* são glicirrizina, gingerol, galato de epigallocatequina, alicina e ácidos fenólicos, respectivamente (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2021).

Os alvos farmacológicos para essas moléculas são os mais diversos, podendo estas agirem na inibição da interação viral com as células, na inibição da replicação do material genético viral, na inibição de proteases virais e na inibição da RNA polimerase RNA-dependente (THOTA; BALAN; SIVARAMAKRISHNAN., 2020). Já é descrito na literatura que alguns compostos encontrados em espécies vegetais apresentam o potencial de inibição da adesão e fusão viral às células hospedeiras, com valores de  $IC_{50}$  relativamente bons e com padrão dose-dependente, como é o caso da *Rheum officinale* e da *Polygonum multiflorum* (HO *et al.*, 2007). A emodina em associação com a antraquinona foram vistos como os principais ingredientes responsáveis pela atividade antiviral dessas espécies vegetais (HO *et al.*, 2007). Além disso, flavonoides glicosilados presentes em *Scutellaria baicalensis* apresentaram efetividade frente ao estresse oxidativo e resposta inflamatória induzida pelo SARS-CoV-2 *in vitro*, apresentando-se assim como um potencial futuro tratamento para a COVID-19 (WEI *et al.*, 2015).

As proteases dos CoVs são vistas como potenciais alvos terapêuticos frente à COVID-19, tendo em vista que elas são responsáveis pela produção, replicação e maturação dos vírions (THOTA; BALAN; SIVARAMAKRISHNAN., 2020). Ensaios *in vitro* e *in silico* já demonstram a efetividade de alguns fitoquímicos por meio da interação com algumas proteases, incluindo-se dentre elas a 3CL<sup>pro</sup> (RYU *et al.*, 2010). Dentre os compostos com melhor atividade inibitória, Ryu e colaboradores, em 2010, mostraram que a iguesterina e a pristimerina (terpenóides) apresentaram os melhores valores de  $IC_{50}$  frente à 3CL<sup>pro</sup>, sendo de 2,6  $\mu$ M e 5,5 $\mu$ M, respectivamente, sendo isolados de *Triterygium regelii*. Chen e colaboradores, por sua vez, demonstraram que os taninos também apresentam potencial inibitório da 3CL<sup>pro</sup>, sendo os principais deles o ácido tânico ( $IC_{50}$ = 3  $\mu$ M) e o 3-galato-3-isodeaflavina ( $IC_{50}$ = 7  $\mu$ M), isolados de *C. sinensis*.

Inibidores da RdRp também vêm sendo bastante estudados como potenciais terapias frente à COVID-19, uma vez que essa enzima está diretamente envolvida com a replicação, bem como com a transcrição do RNA viral (CHEN *et al.*, 2005). Moléculas com esqueleto biflavonóide se mostraram potenciais inibidores da RdRp em estudos de QSAR (Relação Estrutura-Atividade Quantitativa), sendo os compostos com melhor performance a amentoflavona e a robustaflavona (COULERIE *et al.*, 2013). A sotetsuflavona, isolada de *Dacrydium araucarioides* se apresentou como a mais potente inibidora da RdRp do vírus da dengue ( $IC_{50}$ = 0,16 $\mu$ M), apresentando um

esqueleto molecular típico que potencializa a sua atividade, conhecido como grupo farmacofórico, sendo este caracterizado pela ligação C3'-C6'' (COULERIE *et al.*, 2013). Grupamentos químicos adicionais acrescentados ao esqueleto típico desse composto podem potencializar ou diminuir sua atividade inibitória da RdRp (COULERIE *et al.*, 2013).

Em relação ao gengibre, diversos estudos realizados em modelos celulares e animais também comprovam sua efetividade no controle do estresse oxidativo e inflamatório induzido por patógenos (SAN CHANG *et al.*, 2013; MAO *et al.*, 2019; RAHMANI *et al.*, 2014). Além disso, alguns ensaios clínicos, realizados em um número restrito de pacientes, tem demonstrando sua efetividade no controle de manifestações pulmonares, incluindo-se a fibrose pulmonar, a sepse e o dano renal agudo (SHARIATPANAHI *et al.*, 2010). Em um dos estudos realizado com 32 pacientes com Síndrome Respiratória Aguda Grave foi visto que o tempo de uso de suporte ventilatório foi menor nos pacientes que receberam 120 mg do extrato de gengibre em comparação ao grupo placebo (SHARIATPANAHI *et al.*, 2010). Além disso, houve uma redução da pneumonia nosocomial nos pacientes que receberam o tratamento com extrato de gengibre em comparação ao grupo placebo (SHARIATPANAHI *et al.*, 2010). Os principais marcadores fitoquímicos do gengibre e que são responsáveis por grande parte de suas atividades farmacológicas são o 6-gingerol e o 10-gingerol, os quais são capazes de reduzir diversos marcadores de lesão renal, incluindo ureia, creatinina, osmolaridade plasmática e concentração de proteínas na urina, além de serem essenciais para a atividade antioxidante do extrato, reduzindo os marcadores de estresse oxidativo e aumentando os marcadores antioxidantes (RODRIGUES *et al.*, 2018). É importante salientar que o gengibre também é anti-inflamatório, assim como mostra um estudo realizado por Rodrigues e colaboradores em 2018, onde foi mostrado que o gingerol foi capaz de reduzir as concentrações plasmáticas de todas as citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$  e IL-18) e marcadores de lesão renal (KIM-1) em um modelo murino de lesão renal aguda induzida por sepse.

O alho (*Allium sativum*) também apresenta potencial terapêutico diante de doenças respiratórias, principalmente infecções pulmonares (ARREOLA *et al.*, 2015; BAYAN; KOULIVAND; GORJI., 2014; SHANG *et al.*, 2019). Alguns de seus compostos, incluindo a alicina (2-propeno-1-ácidosulfino-tióico- S-2- éster propenílico), apresentam atividades anti-inflamatória, antioxidante, imunomoduladora, antiviral e antifibrótica (ARREOLA *et al.*, 2015; BAYAN; KOULIVAND; GORJI., 2014; SHANG *et*

*al.*, 2019). Alguns estudos clínicos com esse produto natural já foram realizados e em um deles foram ingeridos 2 g de alho por cada paciente a cada 2-3 dias, tendo sido observado um aumento na concentração plasmática de IFN- $\alpha$  nesses pacientes, uma citocina conhecida por seus efeitos antivirais e imunomoduladores (BHATTACHARYYA *et al.*, 2007)

A glicirrizina, uma saponina presente em plantas da espécie *Glycyrrhiza glabra* (Leguminosae) apresenta atividade antiviral já descrita na literatura frente a alguns vírus, incluindo-se: vírus da hepatite A,B,C, HIV, HSV-1 (Vírus Herpes Simples-1) e Citomegalovírus (CMV) (NASIRIASL; HOSSEINZADEH.,2007). Estudos *in vitro* também já demonstraram a efetividade da glicirrizina frente à infecção pelo SARS-CoV (CINATL *et al.*, 2003). Um estudo clínico realizado em 2003 mostrou que a glicirrizina foi capaz de inibir a replicação de duas amostras clínicas diferentes de SARS-CoV-2, corroborando assim com o potencial desse fitoquímico (CHEN *et al.*, 2004).

Dessa forma, é possível observar que diversas são as espécies e os compostos presentes nestas que são efetivos no controle da infecção pelo SARS-CoV-2 (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2020). Dentre as diferentes classes de produtos naturais que podem ser utilizados para esse fim, incluem-se os derivados terpenóides, os flavonóides, os alcalóides, as saponinas e os taninos (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2020). Mesmo que em diversos estudos pré-clínicos a efetividade destes compostos já tenha sido comprovada, é ideal que sejam realizados ensaios clínicos randomizados, duplo-cegos e controlados por placebo com um número maior de pacientes e com melhor abordagem metodológica, de forma a se obter dados que reitem e fundamentem o uso correto desses produtos e para que no futuro, tais produtos se tornem medicamentos, sejam comercializados e distribuídos (BOOZARI; HOSSEINZADEH., 2020).

## **2.2 PROPÓLIS**

### **2.2.1 Características e variabilidade**

A palavra propólis apresenta origem grega, sendo “pro” um termo com significado de defesa e o termo “polis” com significado de cidade ou comunidade, ou seja, um protetor de comunidades (CASTALDO; CAPASSO., 2002). Dessa forma, é um material resinoso constituído por uma mistura complexa de substâncias produzido por abelhas da espécie *Apis mellifera* (Abelha-europeia) a partir de exsudatos de plantas (BALANDRIN *et al.*, 1985; BACHEVSKI *et al.*, 2020; SIMONE-FINSTROM;

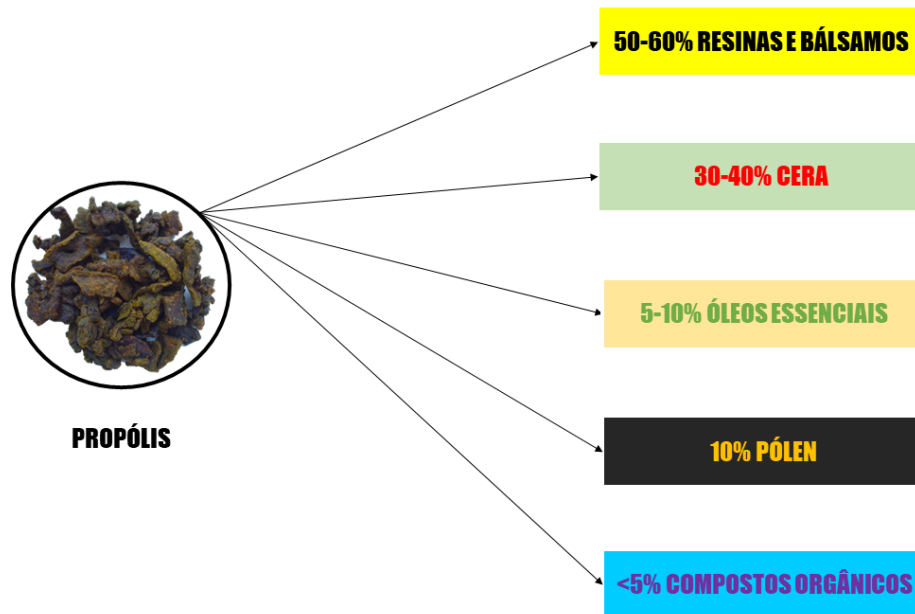
SPIVAK., 2010; CHEN *et al.*, 2018) .As abelhas utilizam esse material para a construção de suas colmeias, tendo em vista o seu potencial em ser uma resina à prova de água (CHEN *et al.*, 2018). Além disso, devido a sua composição química, a propólis atua como uma barreira protetora, principalmente frente à diferentes microrganismos (bactérias, fungos e vírus) (CHEN *et al.*, 2018). A produção da propólis se inicia com as abelhas quebrando partes das plantas com suas mandíbulas até a obtenção da resina (MEYER; ULRICH., 1956). Essa resina é manipulada pelas próprias abelhas utilizando suas patas, a qual é acondicionada em suas patas traseiras (MEYER; ULRICH., 1956). Logo após isso, as abelhas misturam a resina com suas salivas e digerem as mesmas por meio da ação da  $\beta$ -glicosidase, adicionando as substâncias à cera de forma a se produzir o produto final, ou seja, na consistência e formato de propólis (MEYER; ULRICH., 1956; PONTOH; LOW., 2002).

A composição da propólis pode variar a depender de diversos fatores, incluindo localização geográfica, clima, sazonalidade e outros fatores ambientais (PASCOAL *et al.*, 2014). Dessa forma, sabe-se que a propólis de regiões temperadas é rica em ácidos fenólicos, flavonóides e ésteres, enquanto que a propólis de regiões tropicais possui alguns compostos mais específicos, como benzofenonas preniladas, diterpenos e flavonoides, cujas concentrações e disponibilidade variam a depender das espécies envolvidas (KUREK-GÓRECKA.,2020). No entanto, em geral, a constituição principal desse produto se baseia em resinas e bálsamos (50-60%), cera (30-40%), óleos essenciais (5-10%), pólen (10%) e compostos orgânicos (<5%) (BACHEVSKI *et al.*, 2020; BANKOVA *et al.*, 2000; MARCUCCI., 1995; NEGRI *et al.*, 1998; POPOVA *et al.*, 2007; EROGLU *et al.*, 2016) (Figura 11). Desses compostos orgânicos, diversas são as classes presentes, incluindo-se os compostos fenólicos, flavonóides, terpenos, aldeídos aromáticos, ácidos aromáticos e ésteres (BACHEVSKI *et al.*, 2020; CHENG *et al.*, 2007; TORETI *et al.*, 2013). Alguns compostos antioxidantes também já foram caracterizados na propólis, sendo os principais deles o  $\beta$ -caroteno, o ácido cafeico e o kaempferol (BACHEVSKI *et al.*, 2020). Diversos são os tipos de propólis que podem ser encontrados no Brasil, tendo sido descritos e caracterizados 14 tipos (PARK; ALENCAR; AGUIAR., 2002; DAUGSCH *et al.*, 2008; FERREIRA *et al.*, 2017). Os principais tipos de propólis e com maior número de estudos de caracterização fitoquímica são a marrom, a vermelha e a verde (BACHEVSKI *et al.*, 2020).

A propólis marrom é encontrada principalmente em algumas regiões do Brasil e de Cuba, sendo produzida a partir de diversas espécies vegetais, incluindo-se *Luehea* sp. (Malvaceae), *Piptadenia falcata* Benth (Fabaceae), *Tabebuia* spp. (Bignoniaceae), *Tabebuia caraiba* (Mart.) Bureau (Bignoniaceae), *Vernonia* spp. (Asteraceae), e *Cecropia pachystachya* Trécul (Urticaceae) (MACHADO *et al.*, 2016; WALLER *et al.*, 2017; FERNANDES *et al.*, 2015; GOMES *et al.*, 2016). A composição desse material também pode variar dependendo da localização geográfica, do clima e da sazonalidade (BACHEVSKI *et al.*, 2020).

A propólis vermelha é encontrada principalmente no Nordeste brasileiro, tendo sido descrita também na Venezuela, em Cuba, no México e na China (CAMPO FERNÁNDEZ *et al.*, 2008; PICCINELLI *et al.*, 2011; LOTTI *et al.*, 2010; IZUTA *et al.*, 2009; TRUSHEVA *et al.*, 2004). Esse produto é formado principalmente a partir de plantas da espécie *Dalbergia ecastophyllum* (L.) Taub. (Fabaceae) (SANTOS *et al.*, 2020). No Brasil, essa variante de propólis pode ser encontrada em colmeias de abelhas, em arbustos lenhosos próximos à superfície do mar e próximo a bancos de rios nos estados de Sergipe, Bahia, Alagoas, Pernambuco e Paraíba (DAUGSCH *et al.*, 2008).

A propólis verde, junto à vermelha, se constitui como uma das mais estudadas e caracterizadas pelos cientistas (SANTOS *et al.*, 2020). A principal fonte vegetal das abelhas para a produção de propólis verde é a *Baccharis dracunculifolia* (Asteraceae), também conhecida como alecrim-do-campo e vassourinha, sendo esse produto resinoso verde obtido a partir da manipulação e fragmentação de folhas e brotos da vassourinha por abelhas da espécie *Apis mellifera* (TEIXEIRA *et al.*, 2005).



**Figura 11. Constituição básica da propólis.** A propólis é uma mistura de substâncias produzida a partir de exsudatos e materiais lenhosos de espécies vegetais capturados por abelhas da espécie *Apis mellifera* apresentando como constituição básica: resinas e bálamos, cera, óleos essenciais, pólen e compostos orgânicos (essenciais para as atividades farmacológicas desse produto). **Fonte:** AUTOR, 2021.

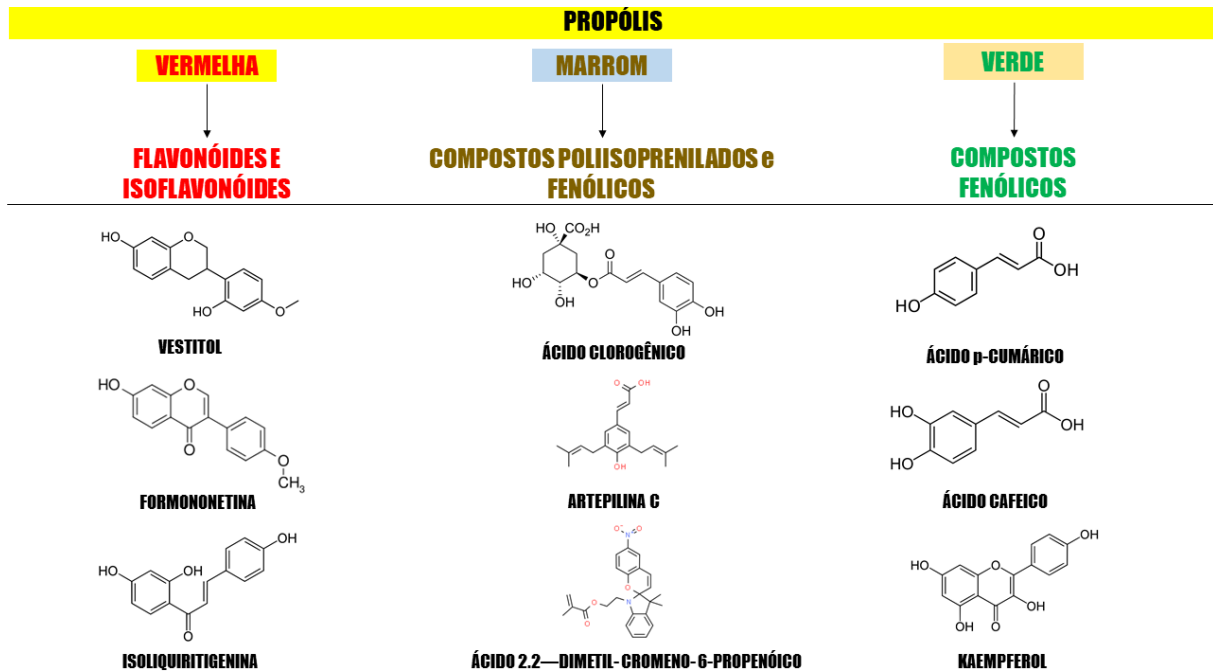
### 2.2.2 Composição química

A composição química dos diferentes tipos de propólis varia de acordo com fatores geográficos, climáticos e botânicos (BACHEVSKI *et al.*, 2020) (Figura 12). Dentre os principais compostos encontrados e caracterizados na propólis verde pode-se incluir os compostos fenólicos (ácido p-cumárico, ácido fenílico, ácido cafeico, kaempferol, quercetina e artepilina C) e os terpenos, sendo os sesquiterpenos os constituintes majoritários (PAULINO *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2004; AGA *et al.*, 1994).

Na propólis vermelha, compostos como isoflavonoides, vestitol, formononetina, isoliquiritigenina e benzofenona já foram isolados, identificados e caracterizados por meio de diversas técnicas analíticas, incluindo GC-EM (Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas) e RMN  $^1\text{H}$  (Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio) (FREIRE *et al.*, 2016; FASOLO *et al.*, 2016; TRUSHEVA *et al.*, 2006; NETO *et al.*, 2017).

Já na propólis marrom, foram identificados vários compostos fenólicos, incluindo-se dentre eles a numerosona (acetofenona poliisoprenilada) e o ácido clorogênico (HUANG *et al.*, 2014). Dentre os terpenos mais encontrados neste tipo de propólis estão os diterpenos, os quais são essenciais para a atividade anti-inflamatória desse produto (BANKOVA; DE CASTRO; MARCUCCI., 2000).

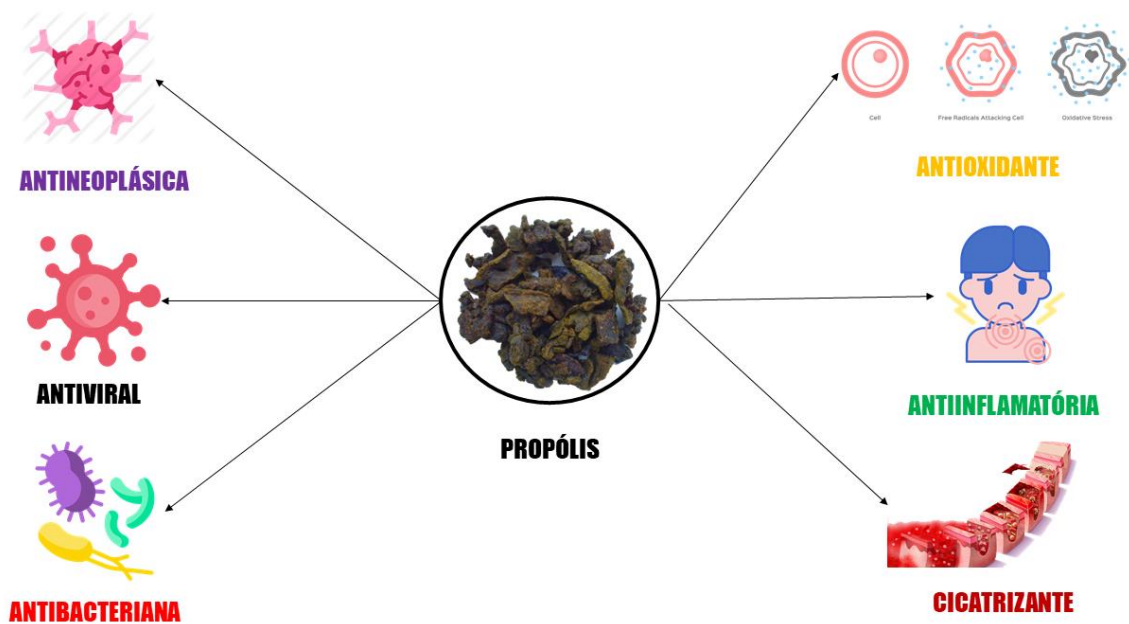




**Figura 12. Composição química da propólis.** A propólis apresenta diferentes variedades a depender das espécies vegetais envolvidas, condições ambientais e climáticas, sendo as principais delas a vermelha, a marrom e a verde. A composição de cada tipo de propólis é específica, sendo a propólis vermelha rica em flavonoides e isoflavonóides (vestitol, formononetina e isoliquiritigenina), a marrom rica em compostos poliisoprenilados e fenólicos (ácido clorogênico, artepilina C e ácido 2,2-dimetil-cromeno-6-propenóico) e a marrom rica em compostos fenólicos (ácido p-cumárico, ácido cafeico e kaempferol). **Fonte:** AUTOR, 2021.

### 2.2.3 Atividades biológicas

A propólis apresenta uma gama de moléculas que apresentam atividade farmacológica, sendo as principais delas os flavonoides, os compostos fenólicos, as xantonas e os terpenos, tendo em vista a elevada estabilidade físico-química destes (SANTOS *et al.*, 2020). No entanto, diversos compostos de outras classes fitoquímicas já tiveram suas atividades farmacológicas bem descritas, principalmente em estudos realizados *in vitro* e *in silico* (SANTOS *et al.*, 2020). Dessa forma, as atividades antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, cicatrizante, antineoplásica, antiviral e cardioprotetoras desse produto já são bem especificados na literatura, sendo cada uma destas resultante da ação de moléculas de diferentes classes fitoquímicas (SANTOS *et al.*, 2020) (Figura 13).



**Figura 13. Atividades farmacológicas da propólis.** A propólis apresenta uma diversidade de moléculas com diferentes atividades farmacológicas descritas pela literatura, sendo as principais delas a atividade anti-inflamatória, antibacteriana, antiviral, antifúngica, antioxidante, cicatrizante e antineoplásica. **Fonte:** AUTOR, 2021.

### 2.2.3.1 Atividade antibacteriana

Diversos estudos têm demonstrado as atividades bacteriostática e bactericida dos extratos de propólis (etanólicos e metanólicos) frente às bactérias gram-positivas e gram-negativas, incluindo principalmente bactérias resistentes aos tratamentos convencionais (WANG *et al.*, 2016; SULEMAN *et al.*, 2015; DE AGUIAR *et al.*, 2013; FARNESI *et al.*, 2013; JUNIOR *et al.*, 2012). Grande parte dos estudos relata a atividade bactericida e bacteriostática deste produto em bactérias gram-positivas e devido a isso se diz que a propólis apresenta maior efetividade frente à gram-positivas do que às gram-negativas (SANTOS *et al.*, 2020). Essas bactérias (gram-negativas) produzem enzimas específicas que são armazenadas em um espaço denominado de espaço periplasmático (entre a membrana externa e interna) e que hidrolisam alguns dos constituintes químicos da propólis, inativando-os (SANTOS *et al.*, 2020).

Atualmente, cresce o interesse no estudo de produtos naturais que atuem de forma efetiva na inibição do crescimento e proliferação de bactérias patogênicas incluindo-se dentre elas as das espécies *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Clostridium difficile* (PRZYBYLEK; KARPINSKI., 2019). Alguns estudos têm testado diferentes extratos de propólis com o objetivo de inibir o crescimento desses microrganismos. Em um destes trabalhos, Wang e colaboradores

(2016) testaram os efeitos de um extrato etanólico de propólis sobre o crescimento de cepas de *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens* e *Clostridium paraputrificum*, obtendo-se valores de CIM (Concentração Inibitória Mínima) satisfatórios. Chen e colaboradores (2018), por sua vez, verificaram os efeitos do extrato etanólico de propólis verde sobre o crescimento e proliferação de *Listeria monocytogenes*, obtendo um valor de CIM igual a 40 µg/mL, razoavelmente satisfatório. Suleman e colaboradores (2015) verificaram os efeitos da propólis da África do Sul sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, tendo sido observado um efeito bacteriostático desse produto frente às bactérias com um valor de CIM entre 6 e 1563 µg/mL.

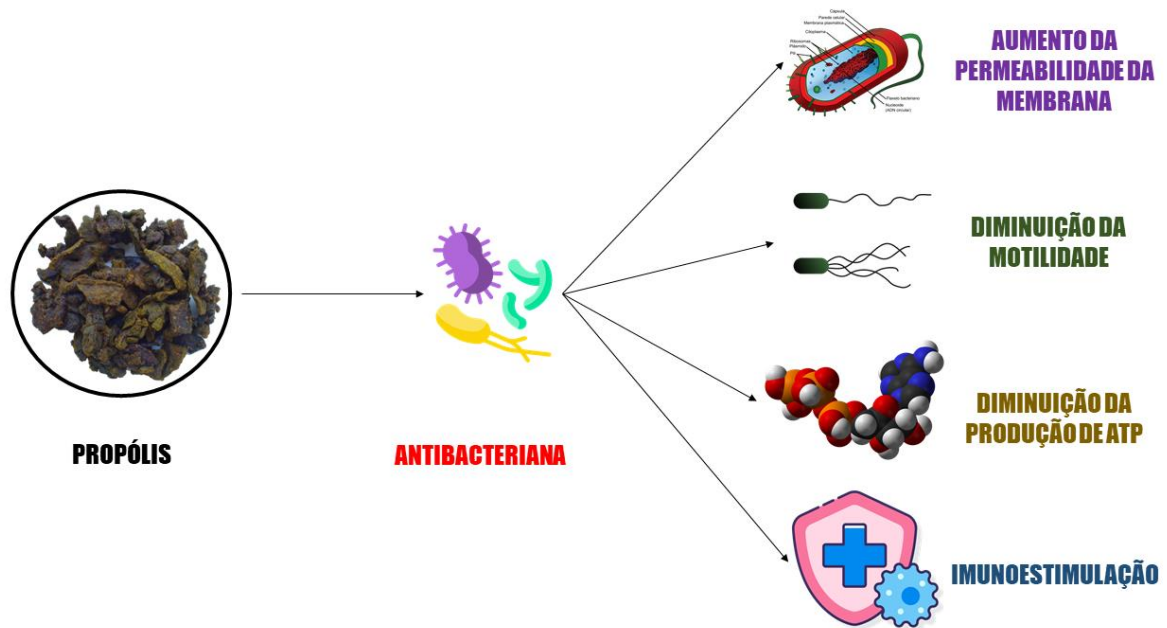
Diversos são os mecanismos de ação dos compostos presentes na propólis e que justificam seus efeitos antibacterianos, sendo os principais: aumento da permeabilidade da membrana celular bacteriana, aumento da atividade do sistema imune do hospedeiro, diminuição da motilidade bacteriana e diminuição da produção de ATP (Trifosfato de Adenosina) (PRZYBYLEK; KARPINSKI., 2019) (Figura 14). Cada um dos fitoquímicos pode atuar por diferentes vias de sinalização celular, as quais resultarão em diferentes efeitos farmacológicos (PRZYBYLEK; KARPINSKI., 2019). Um dos componentes da propólis cuja atividade antibacteriana está bem caracterizada é a Artepilina C (Ácido 3,5-diprenil-4-hidroxicinâmico), um composto fenólico (VEIGA *et al.*, 2017). Alguns estudos já demonstraram que esse fitoquímico é capaz de inibir o crescimento de cepas resistentes de *S. aureus*, principalmente o MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente à meticilina), um microrganismo frequente em infecções hospitalares (VEIGA *et al.*, 2017). Um estudo analisou os efeitos da Artepilina C frente à *Porphyromonas gingivalis*, um bacilo gram-negativo envolvido diretamente com a doença periodontal avançada e foi visto que esse composto apresentou efeito bacteriostático, sendo altamente efetivo no controle da multiplicação desse microrganismo (YOSHIMASU *et al.*, 2018). Além de atividades antibacterianas, a Artepilina C apresenta potente atividade anti-inflamatória, mediada por meio da inibição do NF-Kb, bem como da síntese de NO (Óxido Nítrico) (PAULINO *et al.*, 2008).

Vários estudos também mostram a atividade da pinocembrina, também encontrada na propólis frente a diversas espécies de bactérias patogênicas, incluindo-se *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae* (SOROMOU *et al.*, 2013; JORAY *et al.*, 2015; HERNÁNDEZ TASCO *et al.*, 2020; KHARSANY *et al.*, 2019). A apigenina,

outro flavonóide, apresenta potencial promissor na inibição do crescimento de bactérias gram-negativas principalmente *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Salmonella enterica* sorotipo Typhimurium, *Proteus mirabilis* e *Enterobacter aerogenes* (NAYAKA *et al.*, 2014). Um estudo também demonstrou a eficácia da combinação desses flavonóides presentes na propólis com antibióticos convencionais, tendo sido utilizada a combinação  $\beta$ -lactâmicos+Pinocebrina frente ao MRSA e Ceftazidima+Apigenina frente à *Enterobacter cloacae* resistente à ceftazidima (AKILANDESWARI; RUCKMANI., 2016).

O ácido cinâmico, um composto fenólico também encontrado na propólis, apresenta extensa atividade antimicrobiana descrita na literatura (HELENO *et al.*, 2013; GUZMAN., 2014; YILMAZ; SOVA; ERGÜN., 2018; VASCONCELOS; CRODA; SIMIONATTO., 2018). O mecanismo de ação dessa molécula se baseia em dano oxidativo gerado à bactéria, aumentando a permeabilidade da membrana celular, inibindo ATPases e a formação de biofilmes (VASCONCELOS; CRODA; SIMIONATTO., 2018).

É importante salientar que a própolis vermelha e a verde apresentam efeitos bactericida e bacteriostático, ou seja, são capazes de matar a bactéria e inibir sua replicação, respectivamente (SANTOS *et al.*, 2020). Isso faz com que esses produtos sejam altamente efetivos no controle de infecções, principalmente aquelas que envolvem bactérias resistentes, uma vez que além de inibirem a atividade bacteriana, estes são capazes de facilitar a ação do sistema imune do hospedeiro de forma a se eliminar o microrganismo (SANTOS *et al.*, 2020).



**Figura 14. Mecanismos antibacterianos da propólise.** A propólise apresenta atividade antibacteriana bem caracterizada pela literatura, sendo os mecanismos envolvidos os mais diversos, incluindo-se o aumento da permeabilidade da membrana plasmática bacteriana, diminuição da motilidade (em bactérias móveis), diminuição da produção de ATP e estimulação da atividade das células do sistema imunológico. **Fonte:** AUTOR, 2021.

### 2.2.3.2 Atividade antifúngica

São poucas as terapias antifúngicas atualmente disponíveis para o tratamento de micoses oportunistas e sistêmicas, sendo a maioria ineficaz devido ao aumento da resistência de algumas espécies de fungos (DOTA *et al.*, 2011; NETÍKOVÁ; BOGUSCH; HENEGER., 2013). Dessa forma, produtos naturais tornam-se alvos de diversas pesquisas com o objetivo de se encontrar moléculas que apresentem atividade frente a essas espécies resistentes (DOTA *et al.*, 2011; NETÍKOVÁ; BOGUSCH; HENEGER., 2013).

A propólise apresenta componentes que são naturalmente antifúngicos, sendo o principal deles a formononetina, um flavonóide (LÓPEZ *et al.*, 2014). Essa molécula é encontrada majoritariamente em extratos de propólise vermelha, tendo sido comprovada sua atividade antifúngica mediante alguns fungos com potencial patogênico, incluindo-se *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Candida tropicalis* em uma concentração de  $0,125 \text{ g.L}^{-1}$  (NEVES *et al.*, 2016).

Cardoso e colaboradores (2010) estudaram os efeitos de um extrato etanólico de propólise sobre fungos da espécie *Malassezia pachydermatis*, envolvida na otite canina. Os pesquisadores verificaram que a propólise exibiu atividade antifúngica, com um valor de Concentração Fungicida Mínima (CFM) de  $5,3 \text{ mg.mL}^{-1}$ . O gênero

*Malassezia* também está envolvido com o desenvolvimento de micoses superficiais em humanos (PROHIC *et al.*, 2016). Fungos da espécie *Malassezia furfur* são os principais agentes da pitíriase versicolor, conhecida popularmente como “pano branco” (GAITANIS., 2012). O tratamento convencional se baseia em produtos tópicos e orais que podem ser tóxicos e causar resistência dos fungos (THEELEN *et al.*, 2018). Dessa forma, esses estudos mostram que a propólis pode ser um produto promissor e que futuramente venha a ser utilizado para o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes e seguros frente a essas e outras micoses (DEEGAN *et al.*, 2018).

### **2.2.3.3 Atividade anti-inflamatória**

O processo inflamatório é um mecanismo protetor do organismo frente à ação de agentes físicos, químicos e biológicos (LIU *et al.*, 2017; SIGAL; RON., 1993; SURH *et al.*, 2001). A presença de qualquer um destes é responsável por gerar dano celular que, conseqüentemente, contribuirá com a ativação do sistema imune, caracterizada por aumento do infiltrado leucocitário, bem como dos marcadores inflamatórios (LIU *et al.*, 2017; SIGAL; RON., 1993; SURH *et al.*, 2001). Um desequilíbrio entre mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios é responsável pelo desenvolvimento de alguns sinais, denominados de sinais cardinais da inflamação: dor, calor, edema, rubor e perda de função (LIU *et al.*, 2017; SIGAL; RON., 1993; SURH *et al.*, 2001).

Uma das atividades farmacológicas mais descritas para a propólis na literatura é a anti-inflamatória, a qual é mediada por diversos componentes químicos presentes nesse produto (FRANCHIN *et al.*, 2018; FRANCHIN *et al.*, 2016; BUENO-SILVA *et al.*, 2017) (Figura 15). O principal fitoquímico anti-inflamatório presente na propólis verde é a Artepilina C (PAULINO *et al.*, 2008). Estudos realizados em modelos animais já demonstraram que essa molécula é capaz de reduzir diversos marcadores de inflamação, incluindo-se a produção de citocinas pró-inflamatórias e o infiltrado de macrófagos e neutrófilos nos tecidos (HORI *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2014). Um estudo, por sua vez, demonstrou que a ingestão de 6,7 ou 20 g.kg<sup>-1</sup> de propólis foi capaz de reduzir os marcadores clínicos de artrite em um modelo murino animal, mostrando que mesmo sendo administrado por via oral esse produto apresenta efetividade (TANAKA *et al.*, 2012).

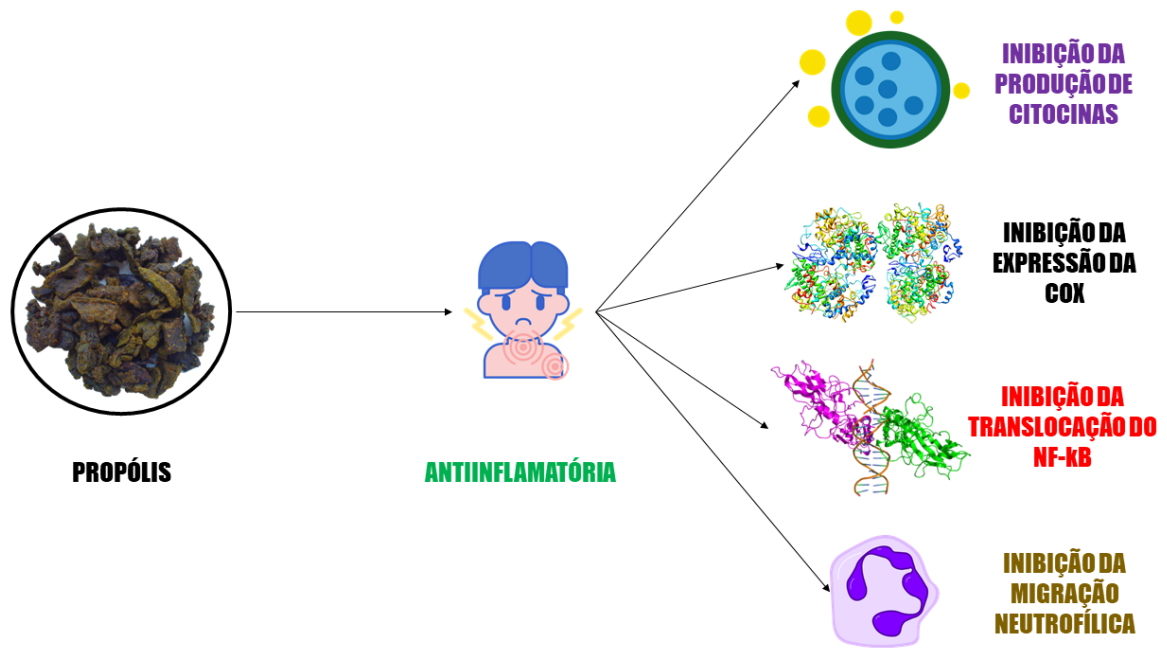
Na propólis vermelha, por sua vez, os compostos neovestitol e formononetina são os principais anti-inflamatórios (TANAKA *et al.*, 2012; FRANCHIN *et al.*, 2016; CAVENDISH *et al.*, 2015). O neovestitol é capaz de inibir a migração neutrofílica e a adesão leucocitária durante a fase aguda da inflamação, dificultando o processo de

diapedese, essencial para o transporte das células imunes da corrente sanguínea até os tecidos (FRANCHIN *et al.*, 2016). As vias celulares e moleculares envolvidas na atividade anti-inflamatória destes compostos ainda não estão bem esclarecidas e estudos mais específicos ainda devem ser realizados de forma a se determinar os mecanismos dessas substâncias presentes na propólis tanto na fase aguda como na fase crônica do processo inflamatório (FRANCHIN *et al.*, 2016).

O Éster etilfenílico do ácido cafeico (CAPE) é um dos constituintes majoritários da propólis e tem tido a sua atividade anti-inflamatória muito bem caracterizada pela literatura científica (MIRZOEVA; CALDER., 1996). Sabe-se que esse composto é capaz de modular a cascata do ácido araquidônico nas células, inibindo-a (MIRZOEVA; CALDER., 1996). Isso ocorre por meio da inibição da liberação de ácido araquidônico, bem como da expressão dos genes das Ciclooxygenases (COX) e das Lipooxygenases (LOX) (MIRZOEVA; CALDER., 1996). Além disso, o CAPE é capaz de inibir a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias e aumentar a expressão das anti-inflamatórias, principalmente a IL-10 e a IL-4 (MOURA *et al.*, 2011).

Em um estudo *in vitro* realizado com células da linhagem Jurkat (linfócitos T derivados de leucemia/linfoma de células T do adulto) foi visto que o CAPE inibiu a ativação do NF- $\kappa$ B, um importante fator transcricional envolvido com a produção de citocinas pró-inflamatórias (NATARAJAN *et al.*, 1996; ZHAO *et al.*, 2014; CHUU *et al.*, 2012). Nas células tratadas com CAPE, os pesquisadores obtiveram resultados que comprovaram que esse composto diminuiu a capacidade do NF- $\kappa$ B em formar híbridos com o DNA, além de limitar a atividade transcricional de um híbrido Gal4-p65 (ZHAO *et al.*, 2014). Ademais, o CAPE tem a capacidade de inibir a infiltração neutrofílica e macrofágica tecidual, inibir Receptores *Toll-like* (TLR4), bem como modular a atividade da imunidade adaptativa (KIM *et al.*, 2013).

O Ácido p-cumárico (pCA) e a Bacarina são compostos isolados da propólis verde e que também apresentam atividades anti-inflamatórias bem caracterizadas na literatura (DE SOUSA *et al.*, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2012). Ferreira e colaboradores (2021) demonstraram, por meio de seus resultados, que a Bacarina atua por um mecanismo direto envolvendo a inibição da produção de citocinas e eicosanoides, enquanto que o pCA atua de forma direta e indireta, ou seja, além de inibir a liberação de fatores pró-inflamatórios, esse composto é capaz de estimular a produção de efetores anti-inflamatórios, incluindo-se a IL-10 *in vivo*.



**Figura 15. Mecanismos anti-inflamatórios da propólise.** A propólise apresenta atividade anti-inflamatória extensivamente caracterizada, a qual envolve diversos mediadores químicos e mecanismos, incluindo-se: inibição da produção de citocinas pró-inflamatórias, inibição da expressão das COX, inibição da translocação do NF-Kb (um fator transcricional) e a inibição da migração de neutrófilos. **Fonte:** AUTOR, 2021.

#### 2.2.3.4 Atividade cicatrizante

O processo de cicatrização é complexo e envolve diversos mediadores celulares e moleculares que objetivam a retomada da arquitetura típica de um tecido, bem como a retirada de debris celulares do local da inflamação (EYNG *et al.*, 2015; XUAN *et al.*, 2014). Esse processo pode ser subdividido em algumas etapas, podendo-se incluir: desenvolvimento de um processo inflamatório agudo, regeneração, migração e proliferação de células parenquimatosas e fibroblastos, aumento da produção de proteínas de Matriz Extracelular (MEC) e remodelamento tecidual. A depender da condição clínica do paciente e a presença de comorbidades (diabetes, doenças imunossupressoras e outras doenças crônicas) esse processo pode durar um período de tempo mais prolongado ou até mesmo ocorrer de maneira inadequada, sem a formação de um epitélio adequado (EYNG *et al.*, 2015; XUAN *et al.*, 2014; DATIASHVILI; YUEH., 2012; HASAN; TEO; NATHER., 2015). Além disso, caso os eventos de cicatrização sejam ineficazes, a possibilidade de infecções sistêmicas aumenta exponencialmente, as quais podem levar o indivíduo a óbito (WOJTYCZKA *et al.*, 2013).

Dessa forma, diversos produtos naturais têm sido estudados, caracterizados e testados com o objetivo de se acelerar o processo de cicatrização (VALENZUELA-



BARRA *et al.*, 2015). Um deles é a propólis, cujas substâncias apresentam efeito sinérgico frente ao reparo tecidual (VALENZUELA-BARRA *et al.*, 2015; HOSNUTER *et al.*, 2004). Esse produto é capaz de diminuir o tempo da fase inflamatória, aumentar a atividade captora de debris celulares dos macrófagos e reduzir o número de mastócitos, de células inflamatórias e da área fibrovascular, contribuindo assim com a aceleração do processo de cicatrização de feridas (ABU-SEIDA., 2015; ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI., 2018). A propólis também é capaz de induzir um aumento na síntese de colágeno do tipo III nas regiões das feridas, contribuindo assim para o remodelamento tecidual (OLCZYK., 2013) (Figura 16).

Em alguns estudos foi visto que o CAPE presente na propólis é essencial para o controle do estresse oxidativo característico de uma resposta inflamatória, ou seja, apresenta atividade antioxidante, a qual é capaz de acelerar ainda mais o processo de cicatrização (HOSNUTER *et al.*, 2006; VALENTE *et al.*, 2011). Isso ocorre por meio da inibição de mediadores oxidativos importantes, podendo-se incluir as enzimas mieloperoxidase, a superóxido dismutase e a xantina oxidase (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI., 2018). Além disso, esse mesmo composto induz uma diminuição da síntese de malonaldeído e NO, essenciais para a progressão do processo inflamatório (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI., 2018).

Estimulação de células epiteliais, estimulação da migração de queratinócitos e ativação de fibroblastos são outros dentre os milhares de mecanismos celulares da propólis que contribuem para o processo de cicatrização (OLCZYK *et al.*, 2012). Todos esses são caracterizados por aumento da liberação de TGF- $\beta$  (Fator transformador do crescimento  $\beta$ ), bem como da regulação da expressão de alguns mediadores, incluindo-se: laminina, vitronectina, heparan sulfato, colágenos I e III, fibronectina, sulfatos de condroitina e dermatano, ácido hialurônico e radicais livres (OLCZYK *et al.*, 2013; OLCZYK *et al.*, 2012; OLCZYK *et al.*, 2014; ABREU *et al.*, 2012).

Em relação aos estudos clínicos que avaliam a efetividade da propólis frente a cicatrização, são poucos os que estão disponíveis na literatura e que apresentam o rigor técnico e metodológico necessário. Um estudo de meta-análise encontrou um total de 6 artigos com ensaios clínicos que avaliavam a efetividade da administração tópica da propólis frente a alguns tipos de feridas. Desses, apenas 3 artigos eram de ensaios clínicos randomizados e apenas esses foram incluídos (HENSHAW *et al.*, 2014; KUCHARZEWSKI; KÓZKA; URBANEK., 2013; KUCHARZEWSKI *et al.*, 2013).

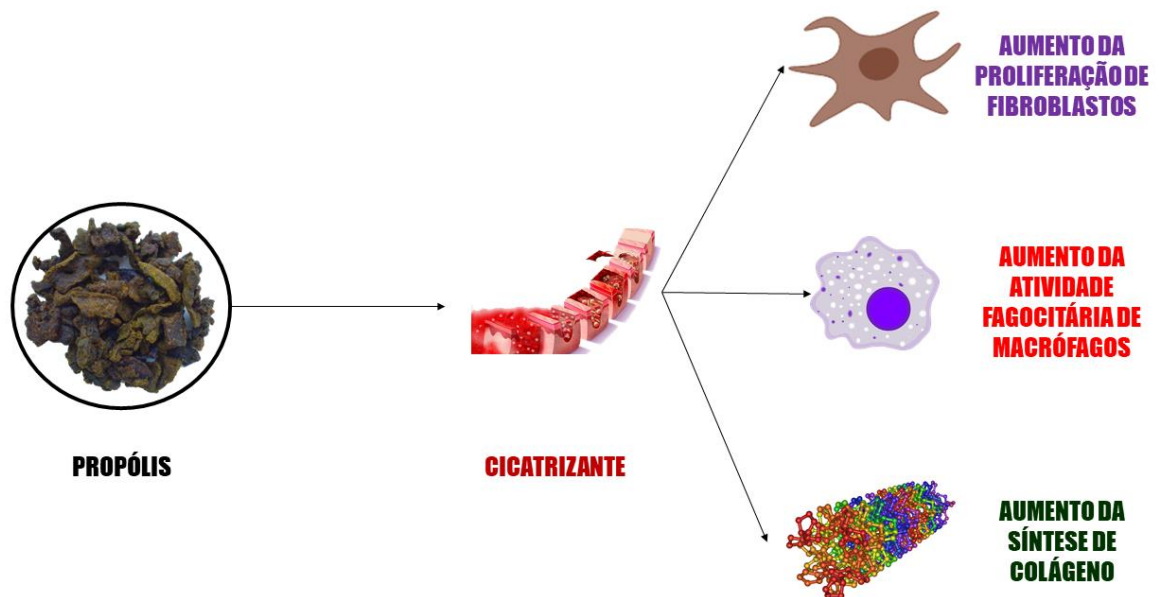
Kucharzewski e colaboradores (2013) conduziram um ensaio clínico para a avaliar o potencial cicatrizante da propólis polonesa em pacientes diagnosticados com úlceras venosas crônicas de membros inferiores não-cicatrizáveis, tendo sido administrada por via tópica uma pomada com concentrações de 3% e 7% de propólis. Esses pesquisadores obtiveram resultados que o grupo que recebeu a pomada (em ambas as concentrações) apresentou diminuição no diâmetro das úlceras em comparação àquele que não recebeu a mesma. No entanto, foi visto que concentrações de propólis acima de 7% geraram intolerância em 18% dos pacientes após 9 dias de tratamento.

Em um estudo piloto conduzido por Henshaw e colaboradores (2014), foi analisada a efetividade do tratamento com propólis mediante a condição clínica denominada de pé diabético, caracterizada pela formação de úlceras nos membros inferiores que apresentam lenta ou nenhuma cicatrização. Além disso, os pesquisadores também investigaram os efeitos da propólis em combinação à antibioticoterapia nesses pacientes. Dessa forma, foi observado que os pacientes tratados com propólis apresentaram uma taxa de cicatrização mais rápida em comparação ao grupo controle. Somado a isso, verificou-se que a propólis acelerou o processo de cicatrização em pacientes com úlceras diabéticas e que estavam recebendo antibióticos sistêmicos, demonstrando assim o potencial desse produto para o controle de eventos inflamatórios e de cicatrização.

Considera-se que a propólis seja um material seguro, porém, alguns efeitos adversos já foram descritos na literatura, podendo-se incluir casos de alergia e de dermatite de contato (CALLEJO *et al.*, 2001; SILVANI *et al.*, 1997). Isso ocorre pois em elevadas concentrações alguns constituintes da propólis podem ativar mastócitos, os quais são responsáveis pela liberação de histamina e outros mediadores inflamatórios e alérgicos que contribuem com algumas manifestações clínicas como prurido, rubor, edema e calor (ORSI *et al.*, 2005).

Além dos compostos com atividade dita cicatrizante, a propólis se caracteriza por apresentar mais de 40 potenciais alérgenos (HAUSEN *et al.*, 1987; HAUSEN., 2005). Desses, alguns já foram identificados e descritos na literatura, sendo os derivados do cafeato os principais: Cafeato feniletílico, Cafeato de benzila, Cafeato de 3-metil-2-butenil e Cafeato de geranil (HAUSEN *et al.*, 1987; HAUSEN., 2005). A presença desses compostos irá variar de acordo com o tipo de propólis, fatores geográficos, climáticos e de disponibilidade química (HAUSEN *et al.*, 1987; HAUSEN.,

2005). No Brasil, Kaneeda e Nishina (1994) descreveram a ausência de efeitos colaterais após a administração de propólis por via oral em camundongos. Apesar disso, mais estudos devem ser realizados de forma a se comprovar a segurança desse produto em humanos e para que futuramente novas formulações venham a ser desenvolvidas para o tratamento de patologias (ORYAN; ALEMZADEH; MOSHIRI., 2018).



**Figura 16. Mecanismos cicatrizantes da propólis.** A propólis apresenta atividade cicatrizante descrita na literatura, sendo caracterizada por diversos mecanismos celulares e moleculares, incluindo-se aumento da proliferação de fibroblastos, aumento da atividade fagocitária de macrófagos e aumento da síntese de colágeno, essencial para a reconstrução da matriz extracelular e conseqüentemente do remodelamento tecidual. **Fonte:** AUTOR, 2021.

### 2.2.3.5 Atividade antineoplásica

Neoplasia é um termo cujo significado se baseia em um “crescimento novo” e se refere à proliferação desordenada e desregulada das células em diferentes tecidos (KUMAR., 2010). Esse evento compreende a interação de mecanismos celulares e moleculares que corroboram em disfunção tecidual e que posteriormente pode evoluir até uma disfunção múltipla de órgãos (KUMAR., 2010). Esse crescimento descontrolado de células pode levar ao desenvolvimento de uma massa sólida denominada de tumor, o qual a depender de suas características morfológicas, fenotípicas e moleculares pode classificar a neoplasia em benigna e maligna (KUMAR., 2010).

Um evento muito característico de neoplasias malignas é a metástase, caracterizada pelo transporte da massa tumoral pela corrente sanguínea, o que faz

com que essas células neoplásicas cheguem a outros tecidos e nestes se desenvolvam (ZEESHAN; MUTAHIR., 2017; WAN; PANTEL; KANG., 2013; CHIANG; MASSAGUÉ., 2008). Para que isso ocorra, fatores liberados no microambiente tumoral colaboram com o aumento da vascularização em um evento denominado de angiogênese, ou seja, o crescimento de novos vasos (VIALLARD; LARRIVÉE., 2017). A angiogênese, por sua vez, é um alvo importante para diversos produtos que se encontram em desenvolvimento, principalmente os naturais (VIALLARD; LARRIVÉE., 2017).

O tratamento utilizado atualmente para o controle das terapias consiste basicamente em quimioterapia (uso de substâncias citotóxicas não seletivas), radioterapia (uso de ondas de rádio com objetivo de morte celular) e excisão cirúrgica (remoção da massa sólida tumoral do órgão acometido) (HILLAL-DANDAN; BRUNTON., 2015). Apesar de se já existirem uma gama de compostos citotóxicos descritos na literatura com ensaios clínicos que comprovem sua efetividade, sabe-se que os efeitos colaterais atrelados a esses são excessivamente graves e que, além disso, as células neoplásicas têm desenvolvido mecanismos de resistência frente aos tratamentos convencionais (PATEL., 2016). Dessa forma, a Medicina Tradicional Chinesa emergiu nas últimas décadas como uma alternativa que serve como um suporte no tratamento destas patologias com um número menor de efeitos adversos, tendo-se a propólis como um dos seus representantes (ERNST., 1998).

Três compostos químicos presentes na propólis apresentam atividades antineoplásicas descritas na literatura, sendo estes o CAPE (encontrado na propólis da Europa), a artepilina C (encontrada na propólis verde do Brasil) e a benzofenona (encontrada na propólis vermelha do Brasil) (FASOLO *et al.*, 2019; MESSERLI *et al.*, 2009). Estudos realizados em modelos murinos mostraram que o ácido cafeico e a artepilina C presentes no extrato de propólis verde apresentam atividade angiostática, inibindo o crescimento dos vasos sanguíneos e, conseqüentemente, o crescimento e transporte da massa tumoral (CHIKARAISHI *et al.*, 2010; BEGNINI *et al.*, 2014; AWALE *et al.*, 2008). Extratos etanólicos de propólis vermelha apresentaram efeitos citotóxicos frente à diferentes linhagens tumorais, incluindo-se células de câncer de bexiga e células humanas de câncer pancreático (BEGNINI *et al.*, 2014; AWALE *et al.*, 2008).

Ademais, sabe-se que a propólis apresenta potencial imunomodulador, o qual contribui para a sua atividade antineoplásica (SANTOS *et al.*, 2020). Os mecanismos

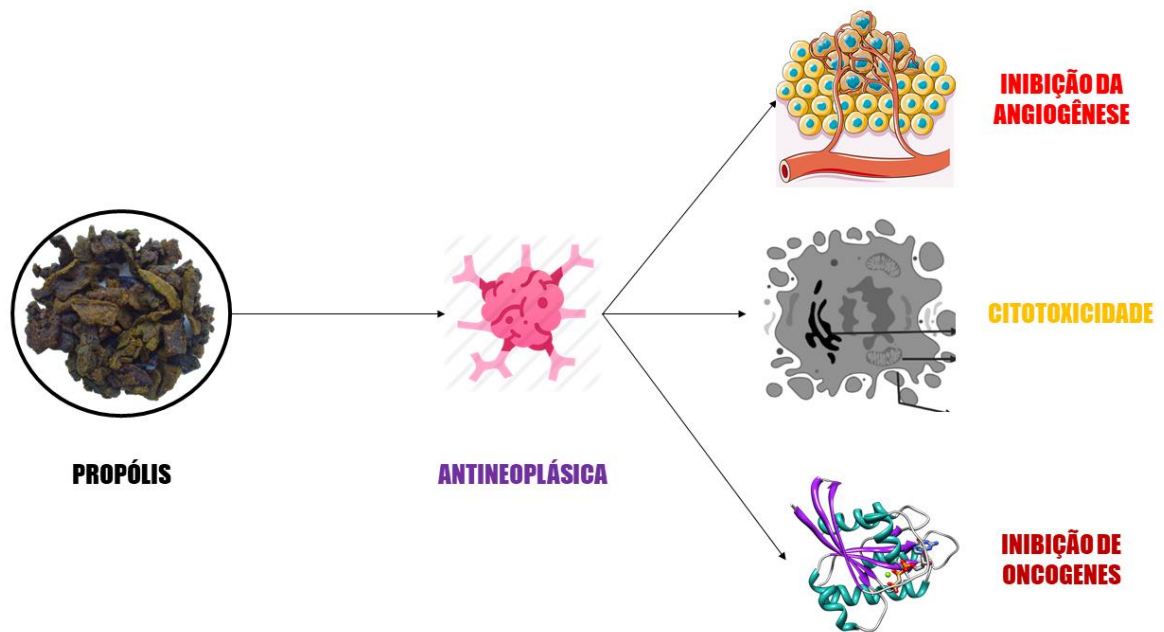
que justificam essa atividade são os mais variados, podendo-se citar: supressão da proliferação de células neoplásicas via seus efeitos anti-inflamatórios, bloqueio de vias de sinalização específicas de oncogenes e modulação do microambiente tumoral (SAWICKA; CAR; BORAWSKA; NIKLINSKI., 2012) (Figura 17). Como em um extrato de propólis são encontradas várias moléculas diferentes, esses mecanismos podem ocorrer de forma simultânea no momento em que o indivíduo o ingerir por via oral, caracterizando assim seus efeitos sinérgicos (SAWICKA; CAR; BORAWSKA; NIKLINSKI., 2012).

Poucos são os estudos clínicos que comprovem a efetividade desse produto frente à neoplasias. No ClinicalTrials.gov, ao se digitar os termos “Cancer” e “Propolis” foram encontrados apenas 3 ensaios clínicos registrados, estando apenas 1 deles concluído, 1 em etapa de recrutamento e 1 que ainda se iniciará. Todos esses estudos avaliam os efeitos da propólis em pacientes com câncer de cabeça e pescoço, mostrando assim a escassez de resultados que fundamentem o uso deste produto para o tratamento dos diferentes tipos de cânceres. Os estudos, intervenções, grupos e status estão representados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Ensaios clínicos registrados referentes à avaliação do efeito antitumoral da Propólis.

<b>TÍTULO</b>	<b>AUTORES</b>	<b>ANO</b>	<b>STATUS</b>	<b>GRUPOS</b>
Assessing the preventing and therapeutic effect of Propolis in radiotherapy induced mucositis of head and neck cancers.	BOLOURI <i>et al</i>	2015	Concluído	Controle Propólis
Microbiota and symptom distress in head and neck cancer patients receiving radiotherapy.	Não informado	2021	Não iniciado	Controle Propólis
Honey products for cancer patients with oral mucositis: a randomized controlled trial.	Não informado	2021	Em fase de recrutamento	Controle Propólis

**Fonte:** ClinicalTrials.gov.



**Figura 17. Mecanismos anti-neoplásicos da propólise.** A propólise apresenta atividade anti-neoplásica também descrita na literatura, resultando em diversos mecanismos celulares e moleculares estudados *in vitro*, podendo-se incluir: inibição da angiogênese, citotoxicidade seletiva e inibição de oncogenes. **Fonte:** AUTOR, 2021.

### **2.2.3.6 Atividade anti-viral**

#### **2.2.3.6.1 Atividade anti-HSV**

Diversos são os grupos de vírus que acometem seres humanos causando patologias (RIPARI *et al.*, 2021). Alguns desses podem infectar humanos e permanecerem durante anos indetectáveis e após uma imunossupressão exercem sua patogenicidade, como é o caso do HSV (Vírus Herpes-Simples) (MCQUILLAN *et al.*, 2018). Os dois subtipos mais patogênicos em humanos são o HSV-1 e o HSV-2, apresentando o HSV-1 maior tropismo pelas células da mucosa oral, enquanto que o HSV-2 apresenta maior tropismo pelo mucosa genital, estando envolvido com Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs) (MCQUILLAN *et al.*, 2018). Diversos são os fármacos antivirais disponibilizados atualmente para o tratamento dessas viroses, no entanto, alguns apresentam baixa efetividade e uma gama de efeitos adversos que comprometem a adesão terapêutica e a obtenção de resultados satisfatórios (RIPARI *et al.*, 2021).

Compostos presentes na propólise apresentam efeitos antivirais descritos na literatura, principalmente frente ao HSV-1 e HSV-2 e ao vírus da influenza (RIPARI *et al.*, 2021). Em 1992, Amoros e colaboradores avaliaram a atividade antiviral da propólise frente à células Vero infectadas com HSV-1, tendo sido verificada a efetividade desse produto na diminuição da infectividade dessas células. O

mecanismo de ação se baseou em inibição da síntese de DNA viral, bem como da replicação viral.

Tratando-se da avaliação dos diferentes tipos de extrato da propólis, vários são os estudos já publicados na literatura e que descrevem a atividade desse produto. Schnitzler e colaboradores (2010) realizaram um estudo *in vitro* que consistiu na avaliação dos efeitos de extratos aquosos (5 µg/mL) e etanólicos (4 µg/mL) frente ao HSV-2. Para isso, esses pesquisadores utilizaram uma linhagem celular denominada de RC-37 caracterizada como uma célula epitelial de rim de macaco verde africano, tendo sido observada uma diminuição da entrada do vírus nessas células nos grupos tratados com os diferentes extratos de propólis.

Estudos utilizando modelos animais também têm sido utilizados como forma demonstrativa da atividade antiviral desse produto. Em um desses, Sartori e colaboradores (2012) demonstraram que a propólis marrom em uma dose de 50 mg/kg ao ser administrada em camundongos BALB/c apresentou uma atividade anti-inflamatória e antioxidante que corroborou com a diminuição da lesão tecidual gerada pelo HSV-2.

Sartori e colaboradores (2012) avaliaram *in vivo* a atividade protetora da propólis marrom brasileira contra as lesões vaginais ocasionadas pelo HSV-2, tendo sido verificado que no grupo de camundongos tratados com propólis e infectados com HSV-2 houve uma redução da inflamação epidérmica e dérmica vaginal em comparação ao grupo controle, demonstrando dessa forma o potencial desse produto como um futuro medicamento a ser utilizado no tratamento das manifestações clínicas decorrentes da Herpes.

#### **2.2.3.6.2 Atividade anti-influenza**

O primeiro estudo que avaliou a atividade da propólis frente ao vírus da influenza data de 1992, no qual Serkedjieva e colaboradores realizaram um ensaio *in vitro* com o objetivo de se demonstrar a eficácia dos extratos de propólis búlgara na inibição da replicação do H1N1 (100 µg/mL) e H3N2 (50 µg/mL). Por meio deste, foi possível observar uma diminuição da replicação viral, comprovando assim a atividade anti-influenza desse produto.

Shimizu e colaboradores (2008), demonstraram por meio de ensaios *in vitro* e *in vivo* que alguns extratos etanólicos da propólis brasileira apresentaram atividade frente ao vírus da influenza a qual se equiparou a do Oseltamivir, um tratamento padrão. A concentração mais eficaz foi a de 10 mg/kg, tendo sido administrada em

camundongos por via oral. De acordo com esse estudo, a presença do vírus da influenza no lavado broncoalveolar dos camundongos tratados com propólis foi muito menor do que no grupo controle, demonstrando dessa forma a atividade desse produto frente a esse vírus. Além disso, esse estudo demonstrou os mecanismos celulares envolvidos com a ação antiviral da propólis, o qual se baseia em um aumento da produção de IFN- $\gamma$ , estimulando a atividade antiviral de células NK, além de estimular a resposta Th1 mediada por linfócitos T auxiliares (CD4+), o que colabora com o aumento do combate aos vírus.

#### **2.2.3.6.3 Atividade antirretroviral**

Os retrovírus também são alvos das substâncias químicas presentes na propólis, já tendo sido descritos nas literaturas os variáveis mecanismos celulares e moleculares envolvidos com a atividade antirretroviral dessas moléculas (RIPARI *et al.*, 2021). Grande parte dos estudos que avaliam a atividade da propólis frente aos retrovírus são pré-clínicos e apesar de serem promissores, não são de elevada evidência científica, demandando a realização de ensaios clínicos para que sejam aplicados na rotina clínica e ambulatorial (RIPARI *et al.*, 2021).

Estudos que avaliam os efeitos da propólis contra o HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) já mostraram que o mecanismo principal desse produto envolve a inibição da proteína p24 do envelope viral, a qual é responsável pela entrada do vírus nos linfócitos T CD4+ (RIPARI *et al.*, 2021). Isso contribui para a diminuição da possibilidade desse vírus adentrar as células e conseqüentemente gerar um processo de imunodepressão. Dessa forma, a propólis poderia ser utilizada como profilaxia frente ao HIV, apesar de serem necessários estudos mais aprofundados antes de se aplicar isso à prática clínica (RIPARI *et al.*, 2021).

Outro mecanismo descrito na literatura é o de que a propólis é capaz de induzir um aumento da expressão de Foxp3, um gene que é traduzido em uma proteína responsável pela regulação da atividade e proliferação de linfócitos, corroborando assim com a proliferação destes (CONTE *et al.*, 2021).

#### **2.2.3.6.4 Atividade anti-SARS-CoV-2**

Uma das atividades descritas após o apogeu da pandemia de COVID-19 foi a atividade anti-SARS-CoV-2 da propólis. Alguns estudos já descrevem a eficácia desse produto frente às linhagens celulares infectadas em laboratório, bem como em ensaios *in vivo*, com a utilização de cobaias. Poucos são os ensaios clínicos que incluam um número elevado de pacientes, uma metodologia adequada e que comprovem alguma



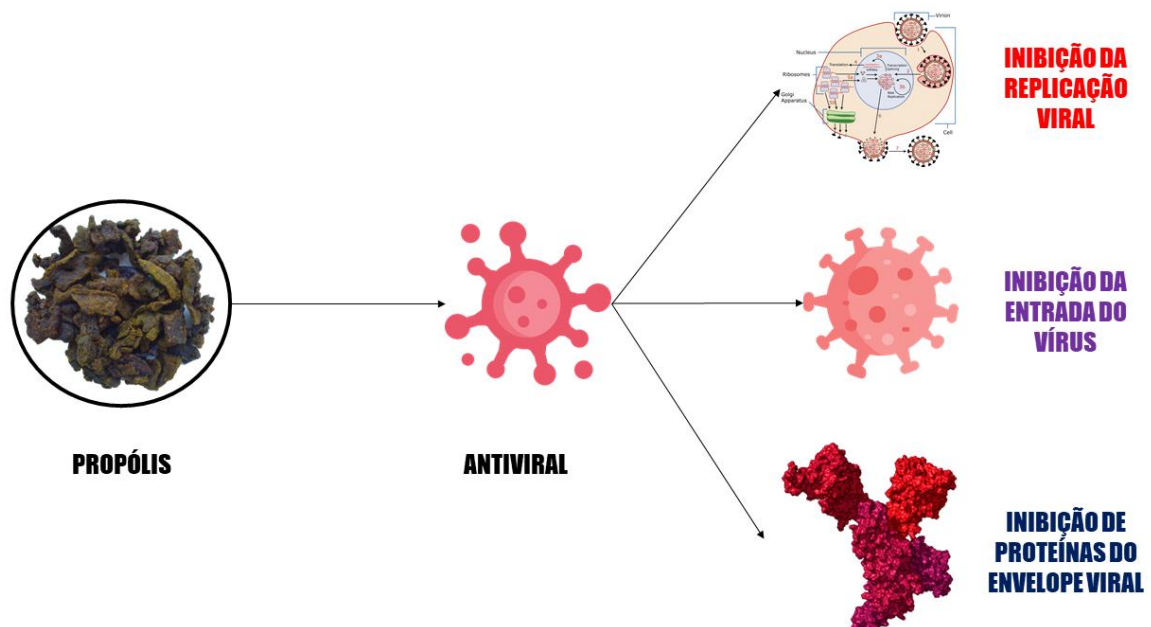
correlação entre melhora dos desfechos clínicos primários e secundários da COVID-19 (SILVEIRA *et al.*, 2021; KOSARI *et al.*, 2021).

Apesar disso, há evidência pré-clínica suficiente que corrobore com o avanço de estudos clínicos da propólis frente à COVID-19. Dentre essas evidências, os estudos *in silico* são os mais encontrados na literatura. Em um destes, Guler e colaboradores (2020) realizaram o preparo de um extrato alcoólico de propólis, o isolamento de alguns ácidos hidroxicinâmicos (Ácido *p*-cumárico, Ácido cafeico, CAPE e Ácido cinâmico), flavonóides (rutina, miricetina, hesperidina, crisina e pinocembrina) e a análise das interações desses compostos com um dos alvos importantes para a virulência do SARS-CoV-2: a ECA2. Foi observado que dos compostos isolados, o que apresentou menor energia de ligação foi a flavonona rutina, seguida de miricetina, CAPE, hesperidina e pinocembrina. O mecanismo que justifica uma melhor energia de ligação para a rutina se baseia no fato de que essa molécula apresenta um maior número de grupamentos ionizáveis que em meio fisiológico podem se ionizar, com a produção de espécies carregadas negativamente e que melhor se complexam com os resíduos de zinco da ECA2, estabilizando melhor o complexo formado (GULER *et al.*, 2020). Dessa forma, pelo esqueleto típico, os flavonóides em geral apresentam boa atividade inibitória frente a esta enzima (GULER *et al.*, 2020).

Em relação à evidência clínica da atividade da própolis frente a COVID-19, foram encontrados apenas dois ensaios clínicos concluídos nas bases de dados (Tabela 2), sendo um deles o de Silveira e colaboradores (2021), onde foi avaliada a eficácia da propólis verde em duas doses (400 mg/ dia e 800 mg/dia) como um tratamento adjuvante em pacientes hospitalizados com COVID-19 grave. Com os resultados obtidos pelos autores foi possível observar que o tempo de hospitalização em ambos os grupos que receberam propólis verde foi menor em comparação ao grupo que apenas recebeu o tratamento padrão. Outros desfechos foram avaliados por esse estudo, sendo eles a frequência de lesão renal, a necessidade de ventilação mecânica e a necessidade de drogas vasoativas. Os grupos de propólis apresentaram menor frequência de lesão renal, bem como menor necessidade do uso de drogas vasoativas em comparação ao grupo padrão. O tempo de uso de ventilação mecânica foi praticamente igual entre os grupos de propólis e o grupo padrão, sem diferença estatisticamente significativa. Apesar dos resultados promissores, esse estudo apresentou algumas limitações, podendo-se incluir o pequeno número de pacientes

(124 no total) e problemas metodológicos, como o fato de o estudo não ter sido duplo-cego, o que pode ter influenciado diretamente nos resultados.

O estudo de Kosari e colaboradores (2021), por sua vez, avaliou a eficácia de um extrato metanólico de propólis e *Hyosciamus niger* L frente aos sinais e sintomas da COVID-19, incluindo-se febre, dor de cabeça, astenia, anorexia, mialgia, dispneia, dentre outros. Um dos grupos (n= 25) recebeu 10 mL de extrato, 3 vezes ao dia por 6 dias, enquanto outro recebeu o tratamento padrão mais o placebo (n=25), tendo sido observado que no dia 4 e no dia 6 do tratamento houve uma redução estatisticamente significativa na frequência dos sintomas entre os pacientes do grupo tratado com o extrato em comparação ao grupo placebo. Apesar de esse resultado também ter sido promissor, o estudo apresentou algumas limitações metodológicas, principalmente o baixo número de pacientes incluídos (n=50), bem como os desfechos, que se limitaram aos sinais e sintomas dos pacientes, os quais podem ter sido resolvidos pela própria capacidade imunológica do indivíduo e não pelo extrato. Além disso, por meio desse estudo não é possível se concluir a eficácia isolada da propólis frente à COVID-19, uma vez que o extrato administrado era constituído por uma mistura complexa de espécies botânicas.



**Figura 18. Mecanismos antivirais da propólis.** A propólis apresenta atividade antiviral também descrita na literatura, resultando em diversos mecanismos celulares e moleculares estudados *in vitro*, podendo-se incluir: inibição da replicação viral, inibição da entrada do vírus nas células hospedeiras e inibição de proteínas do envelope viral. **Fonte:** AUTOR, 2021.

**Tabela 2-** Ensaios clínicos que avaliam a efetividade da propólis frente aos desfechos da COVID-19.

<b>Estudo</b>	<b>Autores</b>	<b>Design</b>	<b>Tratamento</b>	<b>Desfechos</b>	<b>Resultados</b>
Efficacy of brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: a randomized , controlled clinical trial	SILVEIRA <i>et al</i>	Grupo controle (n=42)	Tratamento padrão	Tempo para a melhora clínica	Tempo de hospitalização menor em ambos os grupos de propólis
		Grupo propólis 1 (400 mg/dia) (n=40)	Extrato seco de propólis verde (100 mg- 4x ao dia)	Tempo utilizando ventilação mecânica	Não houve diferença significativa relacionada à necessidade de ventilação mecânica entre ambos os grupos em relação ao controle
		Grupo propólis 2 (800 mg/ dia) (n=42)	Extrato seco de propólis verde ( 2 cápsulas- 4x ao dia)	Taxa de dano renal	O grupo que recebeu 800 mg/ dia de propólis apresentou menor taxa de lesão renal em comparação ao controle
				Necessidade de tratamento intensivo	Ambos os grupos que receberam propólis tiveram menor necessidade do uso de drogas vasoativas em comparação ao controle
The effect of propolis plus <i>Hyoscyamus niger</i> L. methanolic extract on clinical symptoms in patients with acute respiratory syndrome suspected to COVID-19: a clinical trial	KOSARI <i>et al</i>	Grupo placebo (n=25)	Tratamento padrão+ placebo	Sintomas da COVID-19 (febre, dor muscular, anorexia, tosse, dor abdominal)	Não houve diferença estatisticamente considerável entre os grupos no início do tratamento, porém no dia 4 e 6 do tratamento essa foi mais significativa
		Grupo extrato (n=25)	Extrato metanólico de propólis + <i>Hyoscyamus niger</i> (10 mL 3x ao dia por 6 dias)		

Fonte: Autor, 2021.

### **2.2.3.7 Atividade cardioprotetora**

Ainda são escassos na literatura os estudos que descrevam as atividades da propólis frente ao sistema cardiovascular (SILVA *et al.*, 2021). No entanto, sabe-se que são diversos os constituintes químicos desse produto capazes de apresentar atividades cardioprotetoras, principalmente quando administrados na forma de extratos etanólicos, hidroalcoólicos e alcoólicos (SILVA *et al.*, 2021).

As atividades cardioprotetoras da propólis podem ser subdivididas em categorias, as quais incluem: atividade anti-aterosclerótica, atividade anti-hipertensiva, atividade anti-hemostática, atividade anti-angiogênica e atividade

protetora do miocárdio (SILVA *et al.*, 2021). Os mecanismos envolvem diferentes vias de sinalização intracelular, bem como diferentes fitoquímicos, incluindo-se principalmente os compostos fenólicos (SILVA *et al.*, 2021).

#### **2.2.3.7.1 Atividade anti-aterosclerótica**

A aterosclerose é uma manifestação fisiopatológica resultante do acúmulo de lipoproteínas de alta densidade (LDL) na túnica íntima da parede dos vasos sanguíneos (BERGHEANU, S. C.; BODDE, M. C.; JUKEMA, J. W., 2017). Esses lipídeos são oxidados no espaço subendotelial, levando a um aumento da expressão de moléculas adesivas na superfície das células endoteliais, acarretando em recrutamento de células do sistema imune, principalmente monócitos (BERGHEANU, S. C.; BODDE, M. C.; JUKEMA, J. W., 2017). Essas, por sua vez, englobam as partículas oxidadas de LDL, tornando-se células espumosas, as quais sofrem processo de lise celular, levando a liberação de citocinas pró-inflamatórias e espécies reativas de oxigênio que ocasionam em lesão a todas as camadas dos vasos sanguíneos, principalmente o tecido conjuntivo e o tecido muscular liso vascular (BERGHEANU, S. C.; BODDE, M. C.; JUKEMA, J. W., 2017). Como consequência disso, toda a hemodinâmica é afetada, levando a diminuição da perfusão sanguínea, bem como ao aumento na possibilidade do desenvolvimento de eventos trombóticos (BERGHEANU, S. C.; BODDE, M. C.; JUKEMA, J. W., 2017).

A atividade anti-aterosclerótica da propólis se dá por meio da modulação plasmática dos elevados níveis de LDLs, bem como da expressão de moléculas adesivas pelas células endoteliais (XUAN *et al.*, 2014). Xuan e colaboradores (2014) utilizaram extratos etanólicos de propólis verde brasileira e de propólis vermelha, com o objetivo de se verificar a atividade anti-aterosclerótica da mesma, por meio de modelos *in vitro*. Foi possível observar por meio desse estudo que os extratos de propólis foram capazes de inibir uma fosfolipase C dependente de fosfatidilcolina, reduzir as concentrações de EROs e inibir a via do NF-Kb.

Em outro estudo, Daleprane e colaboradores (2017) avaliaram *in vivo* a atividade anti-aterosclerótica de extratos etanólicos de propólis verde, marrom e vermelha por meio da utilização de uma linhagem de camundongos *knockout* para o gene do receptor de LDL (R-LDL), os quais receberam uma dieta rica em colesterol, objetivando-se o desenvolvimento de lesões endoteliais. Foi possível observar que o grupo de camundongos tratados com extrato de propólis apresentou menor número de lesões ateroscleróticas, por meio da regulação de fatores inflamatórios e

angiogênicos, tendo sido esses efeitos mais acentuados no grupo que recebeu propólis vermelha.

#### **2.2.3.7.2 Atividade anti-hipertensiva**

A hipertensão arterial sistêmica é uma manifestação clínica decorrente de alguns eventos que podem levar a extensivo dano cardiovascular (WENZEL *et al.*, 2017). O aumento da resistência vascular periférica atrelado à hiperativação do Sistema Nervoso Simpático levam a um aumento da tensão de cisalhamento arterial acarretando assim em dano endotelial, o qual é responsável pelo desenvolvimento de microhemorragias e microinfartos que podem evoluir, levando à disfunção múltipla de diferentes órgãos (WENZEL *et al.*, 2017).

Alguns estudos têm descrito o potencial anti-hipertensivo da propólis em modelos animais, por meio de diferentes mecanismos, incluindo a regulação do tônus vascular, diminuição da ativação simpática, mecanismos anti-inflamatórios e antioxidantes (SILVEIRA *et al.*, 2019).

De acordo com revisão realizada por Silva e colaboradores (2021), cinco estudos encontrados na literatura descrevem a atividade anti-hipertensiva dos diferentes extratos da propólis, apresentando resultados promissores. Desses, três avaliam extratos etanólicos da propólis brasileira, os quais demonstraram que esse produto foi capaz de reduzir a pressão arterial de camundongos, por diferentes mecanismos, incluindo-se dentre eles aquele mediado pela acetilcolina (KUBOTA *et al.*, 2004; AOI *et al.*, 2013; TELES *et al.*, 2015).

A atividade anti-hipertensiva da propólis, por sua vez, se dá principalmente pela presença dos ácidos cafeoilquínicos, cujo mecanismo principal se dá através do vasorelaxamento induzido por sua ação anti-inflamatória (MISHIMA *et al.*, 2005). Além disso, esses fitoquímicos apresentam alguma afinidade por receptores muscarínicos da acetilcolina, o que contribui para a potencialização do efeito vasodilatador da propólis (MISHIMA *et al.*, 2005).

#### **2.2.3.7.3 Atividade anti-hemostática**

A hemostasia compreende o conjunto de processos que são realizados pelo organismo com o objetivo de se reverter uma lesão causada a um vaso sanguíneo e que causou ruptura ao mesmo (XU *et al.*, 2016). Envolve uma cascata de mediadores celulares e moleculares, podendo-se incluir as plaquetas, o tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), o difosfato de adenosina (ADP) e as prostaciclina, resultando na formação de uma matriz de fibrina, mantendo a circulação sanguínea e a homeostasia (XU *et al.*, 2016).

Quando há um desequilíbrio entre a produção de mediadores pró-trombóticos e mediadores fibrinolíticos, há o desenvolvimento de trombos, os quais podem causar problemas aos vasos sanguíneos, tendo em vista que estes podem obstruir a passagem de sangue e até mesmo se desprender das paredes dos vasos e obstruírem vasos de pequeno calibre, como os capilares pulmonares, levando a um quadro de embolia pulmonar (XU *et al.*, 2016).

A propólis apresenta alguns compostos que são capazes de inibir essa expressão exacerbada de mediadores pró-trombóticos, apresentando assim atividade anti-hemostática (SILVA *et al.*, 2021). De acordo com uma revisão realizada por Silva e colaboradores (2021), cinco estudos encontrados na literatura descrevem essa atividade da propólis, sendo que três deles descrevem os efeitos da propólis brasileira.

Os mecanismos farmacológicos mais descritos pela literatura em relação à atividade anti-hemostática da propólis são: supressão da secreção de TNF- $\alpha$  mediada pelo inibidor do ativador de plasminogênio 1, atenuação da secreção mediada por lipopolissacarídeo do inibidor do ativador de plasminogênio 1 e diminuição do efeito agregante induzido pelo ADP (OKHURA *et al.*, 2012; OKHURA *et al.*, 2016; BOJIC *et al.*, 2018).

Apesar dos resultados potencialmente promissores, a maioria dos estudos são pré-clínicos (*in vitro* e *in vivo*), demandando a realização de estudos de evidência científica mais robusta, de forma a se comprovar de maneira mais fidedigna o potencial clínico desse produto frente aos distúrbios hemostáticos (SILVA *et al.*, 2021).

#### **2.2.3.7.4 Atividade anti-angiogênica**

A angiogênese é o processo de crescimento de novos vasos sanguíneos a partir dos já existentes, sendo mediado por diversas substâncias (TIWARI, A.; MUKHERJEE, B.; DIXIT, M., 2018). É altamente complexo e está diretamente envolvido com o reparo e desenvolvimento tecidual (TIWARI, A.; MUKHERJEE, B.; DIXIT, M., 2018). Algumas situações, como a isquemia, na qual o suprimento sanguíneo tecidual diminui, leva a uma condição de hipoxemia tecidual, a qual acarreta na ativação de alguns fatores celulares citoplasmáticos sensíveis à hipóxia, como o HIF1 $\alpha$  (Fator 1- $\alpha$  induzido por hipóxia) (TAHERGORABI, Z.; KHAZAEI, M., 2012). Esse fator transcricional, por sua vez, se transloca para o núcleo das células, ligando-se a regiões promotoras de genes que estão envolvidos com a angiogênese, como por exemplo o gene do VEGF (Fator de Crescimento Endotelial vascular), o qual

está envolvido com a proliferação das células epiteliais pavimentosas do endotélio, bem como a migração (TAHERGORABI, Z.; KHAZAEI, M., 2012).

Uma desregulação desse processo está relacionada com diversas patologias, principalmente as neoplasias e a aterosclerose (TAHERGORABI, Z.; KHAZAEI, M., 2012). Devido a isso, esse evento fisiopatológico tem sido alvo de estudos, com o intuito de se descobrirem potenciais substâncias bioativas capazes de modulá-lo (TAHERGORABI, Z.; KHAZAEI, M., 2012).

Alguns estudos descrevem a atividade dos extratos da propólis frente à angiogênese. Em um destes estudos, conduzido por Chikaraishi e colaboradores (2010), foi avaliado o potencial anti-angiogênico de um extrato aquoso de propólis (100 mg/mL) verde brasileira frente à linhagem celular HUVEC (Células endoteliais de veia umbilical humana), tendo sido observado uma supressão da proliferação e migração dessas células, bem como uma supressão da expressão de VEGF no grupo tratado com propólis. Esses efeitos foram atribuídos aos ácidos cafeoilquínicos presente na propólis, cujas atividades cardiovasculares já são bem descritas na literatura.

Neste mesmo estudo, conduzido por Chikaraishi e colaboradores (2010), foi verificado o potencial antiangiogênico deste mesmo extrato de propólis, em uma concentração de 300 mg/kg/dia em um modelo *in vivo*, utilizando-se ratos da linhagem C57BL/6, tendo sido observado também um efeito antiangiogênico, mediado pelos ácidos cafeoilquínicos.

#### **2.2.3.7.5 Atividade protetora do miocárdio**

O miocárdio é a camada medial que constitui o coração, sendo também conhecido como músculo cardíaco (GLASHAN *et al.*, 2018). É constituído por células denominadas de cardiomiócitos e que em conjunto formam o tecido muscular estriado cardíaco (GLASHAN *et al.*, 2018). Essas células são essenciais para a contração cardíaca, tendo em vista que é o estímulo a esses que vai gerar toda a cascata de sinalização intracelular que resultará no aumento da concentração citoplasmática de cálcio, a qual será responsável pelo processo de deslizamento entre a actina e a miosina (MOHRMAN, D.E.; HELLER, L.J.; ROJAS, A.M.G., 2007).

Diversos mediadores regulam a atividade do miocárdio, apresentando função protetora deste, sendo um desses o óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador endógeno (SILVA *et al.*, 2021). Esse mediador pode ser produzido pelos próprios cardiomiócitos, como também pelas células endoteliais e pelos neurônios colinérgicos

pós-sinápticos (SILVA *et al.*, 2021). O NO induz a vasodilatação e permite que haja o fluxo sanguíneo necessário para o adequado funcionamento do miocárdio (SILVA *et al.*, 2021).

Algumas disfunções cardiovasculares, como a Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC), Insuficiência Cardíaca Aguda (ICA) e Doença Coronariana (DC), levam à disfunção miocárdica, caracterizada por estresse oxidativo e degradação de proteínas de matriz, acarretando em perda da arquitetura e fisiologia do coração (GOULD *et al.*, 2013).

Alguns constituintes da propólis como o CAPE e o cafeato de benzila já apresentaram atividade protetora miocárdica descritas na literatura (SUN *et al.*, 2017). Isso se dá pelo potencial de captura de radicais livres que esses compostos apresentam, diminuindo o estresse oxidativo presente nessas condições patológicas e contribuindo assim para a homeostasia do coração (SUN *et al.*, 2017). Os mecanismos antioxidantes do CAPE envolvem: aumento da expressão da Superóxido dismutase (SOD), aumento da expressão da Glutathione peroxidase (GSH), redução dos níveis intracelulares de cálcio e prevenção frente à morte celular por apoptose (SUN *et al.*, 2017).

Um estudo *in vivo*, conduzido por Ahmed e colaboradores (2017), avaliou a atividade protetora miocárdica da propólis em um modelo animal de Infarto Agudo do Miocárdio induzido por isoproterenol, tendo sido observado que no grupo pré-tratado com propólis a concentração plasmática de marcadores cardíacos foi muito menor em comparação ao grupo controle, sendo isso resultante da atividade antioxidante dos compostos oriundos da propólis.

### **2.3 DOCKING MOLECULAR**

O docking molecular é um processo no qual micromoléculas são ancoradas a macromoléculas (alvos biológicos) de forma a se determinar parâmetros físico-químicos de interação entre receptor e ligante (MORRIS; LIM-WILBY., 2008) (Figura 19). A partir dessas análises é possível se determinar quais os ligantes que apresentam melhor perfil de ligação com seus alvos e conseqüentemente se desenvolverem moléculas com potencial atividade farmacológica (MORRIS; LIM-WILBY., 2008). Os principais objetivos da realização de um docking são prever as interações moleculares, entender os padrões dessas interações, obter valores de energia e constante de ligação e posteriormente se determinar a afinidade de um ligante frente a um alvo macromolecular (MORRIS; LIM-WILBY., 2008). Para isso, são



utilizados *softwares* específicos que determinam todos os padrões necessários para essas interações (MORRIS; LIM-WILBY., 2008). Os programas mais utilizados para esse fim são o Autodock (<http://autodock.scripps.edu>), o DOCK (<http://dock.compbio.ucsf.edu>), o FlexX (<http://www.biosolveit.de/FlexX>), o GOLD (<http://www.ccdc.cam.ac.uk/products/lifesciences/gold/>) e o ICM (<http://www.molsoft.com/docking.html>) (MORRIS; LIM-WILBY., 2008).

O docking pode ser dividido em dois tipos: aquele que ocorre entre uma micromolécula e uma macromolécula e aquele que ocorre entre macromoléculas, como por exemplo proteínas (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). A maior parte dos estudos descritos na literatura apresentam dockings do tipo micromolécula-macromolécula, apesar de se observar uma tendência de aumento quanto às análises de interações entre macromoléculas (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013).

O princípio básico de qualquer docking se baseia em algumas etapas, podendo essas serem divididas em: a) seleção do alvo e do ligante; b) preparação do alvo e do ligante; c) caracterização do docking; d) análise dos resultados (Figura 20) (MORRIS; LIM-WILBY., 2008) .

A seleção do alvo pode ser feita por meio de buscas em algumas bases eletrônicas, como por exemplo o ProteinaDataBank (PDB), o qual contém a estrutura cristalográfica em 3D de diversos alvos bioquímicos, incluindo proteínas e enzimas (MORRIS; LIM-WILBY., 2008). A seleção do ligante, por sua vez, é realizada tendo como parâmetros propriedades como massa molecular, solubilidade, disponibilidade comercial e propriedades farmacocinéticas, incluindo-se absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME) (MORRIS; LIM-WILBY., 2008).

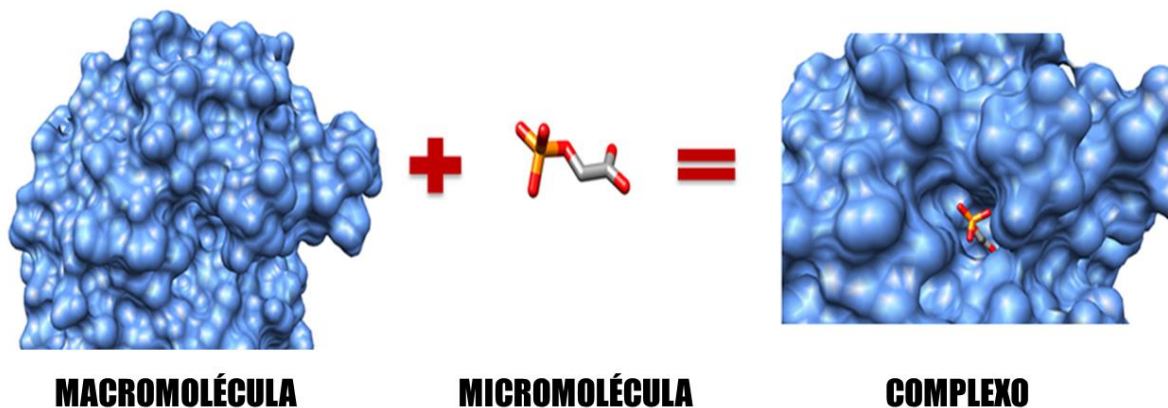
A etapa subsequente (preparação do alvo e do ligante) depende principalmente do software que se vai utilizar consistindo no ajuste dos ligantes e alvos de forma a se definir as melhores conformações e propriedades físico-químicas destes. Podem ser realizadas as adições de hidrogênios, mudanças nos ângulos de rotação, bem como nas torções angulares dos compostos (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013).

A caracterização do docking, por sua vez, se baseia em definir os parâmetros de interação, incluindo a energia, a constante de ligação, valores de ângulos de ligação, conformações moleculares e distância intermolecular, de forma a se chegar aos resultados finais que podem ser favoráveis ou não (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). O docking é realizado em uma área predeterminada de um determinado alvo e

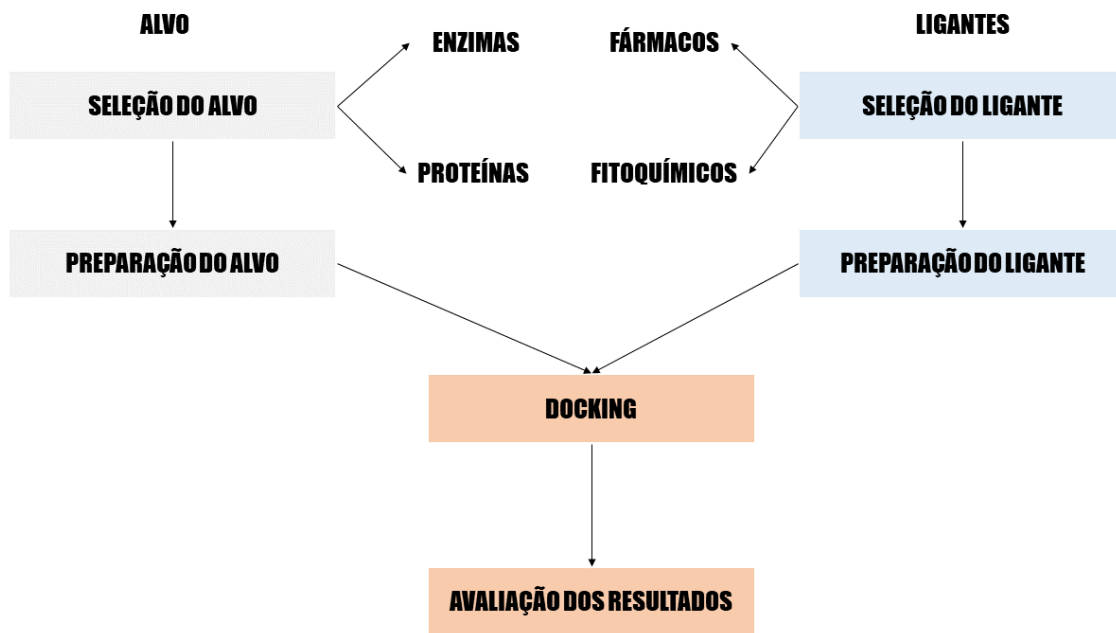
que tem maior probabilidade de ocorrerem interações com a micromolécula (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013).

A análise dos resultados de um docking deve levar em conta a complementariedade das interações envolvidas entre o ligante e a respectiva proteína (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). O próprio software verifica o número de interações realizadas, quais as interações, os resíduos de aminoácidos envolvidos e a energia livre envolvida para cada interação e a energia livre total, de forma que quanto menor for a energia de interação e a distância intermolecular, maior a possibilidade de que a molécula se ligue ao ligante e de forma termodinamicamente favorável (MORRIS; LIM-WILBY., 2008).

## DOCKING MOLECULAR



**Figura 19. Elementos básicos de um docking molecular.** Para que o docking molecular seja realizado, é necessário que seja selecionado um alvo e uma micromolécula para que a partir deles se avalie a possibilidade da formação de um complexo macro-micromolécula e que se caracterizem os parâmetros físico-químicos desse complexo. **Fonte:** ADAPTADO de HERNÁNDEZ-SANTOYO *et al*, 2013.



**Figura 20. Fluxograma típico de um estudo de docking molecular.** O docking molecular pode ser realizado por meio de diferentes softwares e metodologias, porém, segue como fluxograma básico a seleção do alvo e sua preparação, a seleção do ligante e sua preparação, seguidos de avaliação dos resultados obtidos. **Fonte:** ADAPTADO de MORRIS; LIM-WILBY, 2008.

### 2.3.1 Cálculo da energia envolvida

Cada método de docking avalia as formas de interação e a energia envolvida de uma maneira específica (MORRIS; LIM-WILBY., 2008). Apesar disso, a base termodinâmica utilizada para os cálculos da energia livre de interação é a mesma (MORRIS; LIM-WILBY., 2008; ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008). Dessa forma, considera-se que a variação de energia livre de ligação é igual a energia necessária para a formação do complexo menos a energia conservada do ligante e a da proteína (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008). Assim:

$$\Delta G_{\text{ligação}} = G_{\text{complexo}} - G_{\text{ligante}} - G_{\text{proteína/enzima}}$$

Sabe-se, pela Segunda Lei da Termodinâmica que a variação de energia livre de um sistema é igual à variação de entalpia de um sistema subtraída da temperatura vezes a variação de entropia desse sistema, sendo a entropia um parâmetro que quantifica o nível de desorganização de um sistema, ou seja:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

Outros fatores devem ser levados em consideração, incluindo a energia livre das moléculas na fase gasosa ( $\Delta E_{\text{MM}}$ ), a qual se subdivide em energia livre eletrostática ( $\Delta G_{\text{ele}}$ ) e em energia livre de van der waals ( $\Delta G_{\text{vw}}$ ). Ainda deve-se

considerar a energia de solvatação ( $\Delta G_{sol}$ ), subdividida em energia livre do solvente polar ( $\Delta G_{GB}$ ) e energia livre do solvente não polar ( $\Delta G_{SA}$ )

Dessa forma:

$$\Delta E_{MM} = \Delta G_{ele} + \Delta G_{vw} \text{ e } \Delta G_{sol} = \Delta G_{GB} + \Delta G_{SA}$$

Levando-se isso em consideração, tem-se que:

$$\Delta G_{ligação} = \Delta H + \Delta G_{solvatação} - T \cdot \Delta S$$

$$\Delta G_{ligação} = \Delta E_{MM} + \Delta G_{GB} + \Delta G_{SA} - T \cdot \Delta S$$

$$\Delta G_{ligação} = \Delta G_{ele} + \Delta G_{vw} + \Delta G_{GB} + \Delta G_{SA} - T \cdot \Delta S$$

Destarte, essa equação comprova que a energia total de interação entre micro e macromolécula é resultante das energias individuais das interações, bem como de fatores como entropia e temperatura (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008).

O termo entropia ( $\Delta S$ ) advém do grego (*trope*) e tem como definição básica o nível de desorganização de um sistema (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; DECHOUM., 2003; PASSOS., 2009). Matematicamente a entropia apresenta uma definição mais complexa, sendo representada pela equação:

$$dS \geq \frac{dQ}{T}$$

Sendo **S** a representação da entropia, **Q** a representação do calor trocado entre o sistema e a vizinhança e **T** a representação de temperatura (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; DECHOUM., 2003; PASSOS., 2009). O termo d é indicativo de uma variação infinitesimal, considerando-se as grandezas como microscópicas (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; DECHOUM., 2003; PASSOS., 2009). Em processos de variações infinitesimais, considera-se que a temperatura é constante e dessa forma, a variação de entropia é diretamente proporcional a quantidade de calor trocado entre sistema e vizinhança (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; DECHOUM., 2003; PASSOS., 2009).

De acordo com a Segunda Lei da Termodinâmica, a entropia do universo mantém-se sempre constante num processo reversível, e sempre aumenta num processo irreversível. Ou seja, para processos reversíveis, a entropia é nula, enquanto que para os irreversíveis ela irá variar de acordo com a quantidade de calor e com a temperatura (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; DECHOUM., 2003; PASSOS., 2009).

Dessa forma, para sistemas envolvendo micro e macromoléculas, a organização do sistema é determinada principalmente pela solvatação realizada pelas

moléculas de água (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; BARREIRO; FRAGA., 2014). Ou seja, a superfície de uma proteína é constituída principalmente por aminoácidos hidrofílicos que são solvatados por moléculas de água, garantindo estabilidade à estrutura dessas (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; BARREIRO; FRAGA., 2014). Antes de interagir com a proteína, a micromolécula realiza uma perturbação no sistema, sendo essa caracterizada por perda entálpica ( $\Delta H < 0$ ) e ganho entrópico ( $\Delta S > 0$ ), ou seja, ocorre um processo de dessolvatação, no qual as moléculas de água se dispersam pelo sistema, desorganizando-o e possibilitando a interação micromolécula-macromolécula (BARREIRO; FRAGA., 2014). Por ser um evento exotérmico, de acordo com a 2ª Lei da Termodinâmica, e considerando-se a temperatura constante, o valor de  $\Delta G$  será determinado principalmente pelo  $\Delta S$ , e por esse evento ser caracterizado por apresentar entropia positiva, consequentemente o  $\Delta G$  será negativo, indicando assim que esse evento é espontâneo (ATKINS; DE PAULA; FRIEDMAN., 2008; BARREIRO; FRAGA., 2014).

Partindo-se desses princípios, ao se analisar os resultados de um docking molecular, pode-se prever se uma determinada molécula é capaz de interagir com o seu alvo proteico (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). Sabe-se por princípios da mecânica que a energia tende a ser conservada e que há a tendência de as moléculas atingirem os menores limiares energéticos possíveis para que permaneçam estáveis (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). Dessa forma, correlacionando com o docking molecular, quanto menor for o valor da energia de interação, ou seja, quanto mais negativo for esse valor, maior a possibilidade de interação entre esses compostos e quanto menos negativo for esse valor, menor a possibilidade de interação (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). Caso o valor de energia seja positivo, a ligação micromolécula-macromolécula é improvável (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013). Além disso, tratando-se de Constante de Interação ( $K_i$ ), quanto maior o valor dessa, maior a probabilidade de se formar um complexo termodinamicamente estável (HERNÁNDEZ-SANTOYO., 2013).

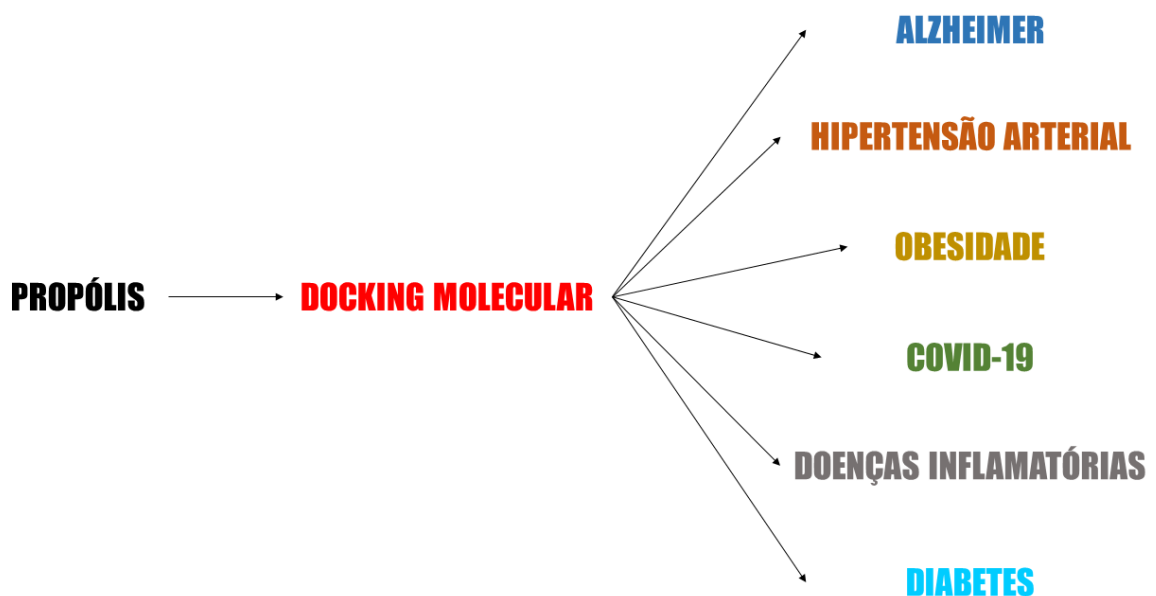
### **2.3.2 Aplicações**

Os estudos de docking molecular apresentam diversas aplicações, porém grande parte delas é voltada para o desenvolvimento de compostos bioativos (KAUR *et al.*, 2019). Isso porque esse método se mostra como altamente viável, sensível, econômico, não demanda muito tempo e apresenta resultados extremamente

satisfatórios, servindo de triagem para a seleção de moléculas que subseqüentemente venham a se tornar futuros fármacos (KAUR *et al.*, 2019).

Podem ser utilizados também em estudos ambientais, com o intuito de se verificar potenciais interações entre compostos e poluentes, aplicações agroindustriais, na engenharia de materiais, dentre outras diversas áreas (KAUR *et al.*, 2019).

Em relação aos estudos de docking molecular que avaliem constituintes presentes na propólis é possível encontrar uma diversidade desses na literatura, principalmente avaliando as interações dos ácidos fenólicos e flavonoides frente à diferentes alvos biológicos. Podem ser encontrados estudos que avaliem interações de compostos da propólis frente às proteínas envolvidas com o câncer de mama, com a COVID-19, com a hipertensão arterial sistêmica, com doenças inflamatórias, infecções, diabetes e Alzheimer (FATRIANSYAH *et al.*, 2021; SARI *et al.*, 2021; SHAHINOZZAMAN *et al.*, 2018; PAROLIA *et al.*, 2021) (Figura 21).



**Figura 21. Aplicações de estudos de docking voltados para a propólis.** Diversos são os estudos de docking molecular que avaliam as interações intermoleculares entre os compostos presentes na propólis e diversos alvos bioquímicos, incluindo marcadores de Alzheimer, Hipertensão arterial, Obesidade, COVID-19, Doenças inflamatórias (Artrite reumatoide), Diabetes, dentre outras.

**Fonte:** Autor, 2021.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral**

Realizar um levantamento bibliográfico acerca dos principais constituintes da Propólis com atividade antiviral frente ao SARS-CoV-2, seus perfis físico-químicos e características farmacológicas.

#### **2.2 Específicos**

- Caracterizar os principais constituintes químicos da Propólis a partir de estudos de docking molecular;
- Correlacionar os constituintes da Propólis com atividade anti-COVID-19;
- Caracterizar os tipos de interações dos constituintes da propólis com os principais alvos bioquímicos do SARS-CoV-2;
- Identificar e caracterizar os principais resíduos de aminoácidos envolvidos nas interações entre os principais constituintes da propólis e seus respectivos alvos;
- Identificar o padrão energético das interações intermoleculares.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Desenho do estudo**

O estudo representa uma Revisão Narrativa da Literatura feita por meio da análise de artigos publicados entre os anos de 2010 e 2021, utilizando-se as bases de dados eletrônicas PUBMED, Elsevier's Science Direct, Periódicos da CAPES, e Taylor & Francis Springer-Nature database. As bibliografias dos artigos selecionados foram analisadas para a busca de referências próximas às desejadas. O Medical Subject Headings (MeSH) foi utilizado para os descritores: "propolis" e "covid-19" junto com o operador booleano "AND". Em todas as bases de dados, foram utilizados os mesmos termos, sendo todos em inglês, tendo sido selecionados apenas artigos escritos em inglês, português e espanhol.

#### **3.2 Estratégia do estudo**

Foi utilizada uma estratégia de estudo baseada em uma pergunta norteadora: Quais os principais constituintes químicos da propólis correlacionados com atividade antiviral frente ao SARS-CoV-2?

De acordo com a pergunta foram estabelecidos os critérios necessários para a seleção de artigos, tendo sido os artigos selecionados de acordo com a relevância para este trabalho, principalmente em relação ao tema abordado.

Dessa forma, inicialmente foram digitadas as palavras-chave “propolis” e “covid-19” nas bases de dados e observada a quantidade de artigos disponíveis. Após isso, esses artigos foram analisados quanto aos títulos: caso os títulos estivessem em concordância com a busca, esses artigos eram selecionados para que fosse realizada a leitura de seus resumos; caso os títulos estivessem em discordância com a busca, os mesmos eram descartados.

Após a seleção dos artigos pelos títulos, os resumos de cada artigo foram lidos e aqueles que se apresentavam dentro dos objetivos eram separados para que fosse realizada a sua leitura na íntegra. Já aqueles cujos resumos estavam em discordância com o estudo, foram descartados e não foram lidos na íntegra (Imagem 22).

Todos os artigos selecionados nesta última fase foram completamente lidos e seus títulos, autores, ano de publicação e tipo de estudo foram registrados e foram organizados em uma tabela (Tabela 3). É importante salientar que os artigos encontrados de forma duplicada nas diferentes bases de dados foram subtraídos da quantidade total de artigos encontrada.

### **3.3 Critérios de inclusão**

Foram incluídos estudos que tivessem correlação com o tema abordado por este trabalho, independentemente do tipo de estudo (revisão sistemática, revisão narrativa, metanálise, ensaios pré-clínicos e ensaios clínicos) que descrevessem os produtos e compostos químicos derivados da propólis que apresentassem atividade antiviral frente à COVID-19. Dos estudos pré-clínicos *in silico*, foram avaliados os principais e mais promissores compostos com atividade anti-COVID-19 e foram caracterizados os seus perfis, tipos de interação, resíduos de aminoácidos e energias envolvidas.

Artigos que apresentaram opiniões de especialistas, relatos de caso, cartas editoriais e comentários foram excluídos da análise. Foram considerados elegíveis os artigos escritos em inglês, português e em espanhol.

### **3.4 Dados**

Os dados obtidos foram resumidos e sintetizados dos artigos encontrados e integrados de forma a se obter as informações necessárias para o estudo em questão de forma objetiva e clara.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Após a busca nas diferentes bases de dados utilizando os descritores, foram encontrados inicialmente 217 artigos, os quais, após análise na íntegra de acordo com



os critérios de elegibilidade resultaram em 23 artigos, assim como representado na Figura 19.

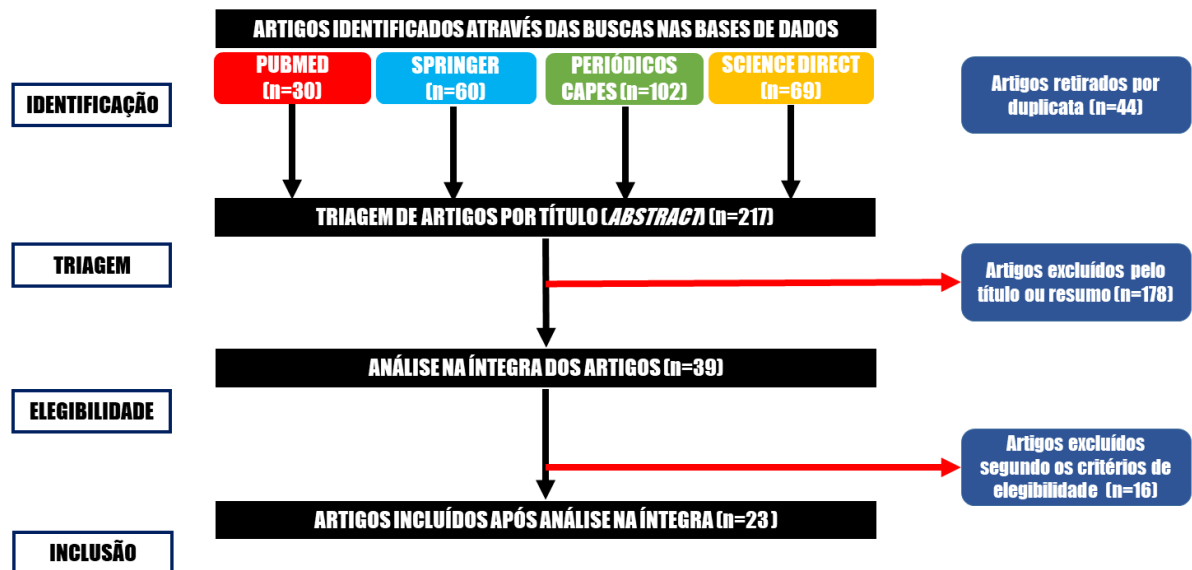


Figura 22. Artigos selecionados nas bases de dados seguindo os critérios de elegibilidade. Fonte: AUTOR, 2021.

Destes artigos incluídos após análise na íntegra, 14 se caracterizavam como revisões narrativas (61%), 1 se caracterizava como revisão sistemática (4%), 5 se caracterizavam como estudos de *docking* molecular (22%), 2 se caracterizavam como ensaios clínicos randomizados (9%) e 1 se caracterizou como estudo experimental (4%) (Tabela 3) (Gráfico 1). Grande parte dos estudos descritos nas revisões narrativas eram estudos pré-clínicos que avaliavam extratos aquosos, metanólicos e hidroalcoólicos e compostos isolados da propólis mediante alvos farmacológicos. Os estudos *in silico* foram predominantes, seguidos dos ensaios *in vitro* e subsequentemente de ensaios *in vivo* utilizando modelos animais, como camundongos.

Em relação aos alvos bioquímicos avaliados pelos estudos de *docking* molecular, foi visto que os mais descritos foram a M<sup>pro</sup> (43%), a ECA2 (29%), a RdRp (14%) e a Proteína Spike (14%) (Gráfico 2) (Tabela 4). Destes, por sua vez, o grupo de moléculas mais estudadas foram os flavonóides e um ácido fenólico, o CAPE. Dos flavonóides, foram encontrados estudos descrevendo as interações para o Brousoflavonol F, para a Gliasperina A, para o Sulabiroins A, para o Ácido Elágico, Hesperidina, Kaempferol, Artepilina C, Metilopiopogonoma, 3-metoxidaidzeína, Genisteína, Rutina, Miricetina, (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona e Isoramnetina. Destes flavonóides, 5 apresentaram as melhores interações frente aos

alvos bioquímicos do SARS-CoV-2 ((2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona, Isoramnetina, Hesperidina, Rutina, Kaempferol) e 1 ácido fenólico (CAPE), e a partir disso uma nova busca foi realizada na literatura com o intuito de se descrever melhor as interações realizadas entre estes e as proteínas do vírus, o que está sumarizado na Tabela 5. As interações intermoleculares mais descritas foram interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas (principalmente interações do tipo cátion- $\pi$ ).

Diversos aminoácidos foram caracterizados, sendo os mais citados a Treonina (17 citações), a Histidina (16 citações), a Fenilalanina (13), o Glutamato (13) e a Cisteína (13) (Gráfico 3). Aminoácidos como a Lisina, a Isoleucina e a Valina foram poucos citados, mostrando que esses componentes não são tão importantes frente às interações entre os flavonóides e os alvos bioquímicos do SARS-CoV-2. É importante salientar que as interações com a cisteína foram descritas principalmente entre os fitoquímicos, a ECA2 e a M<sup>pro</sup>, sendo esse aminoácido essencial para a estabilização termodinâmica do complexo formado, uma vez que os grupamentos oxigenados dos flavonóides (principalmente as carbonilas) atuam como bases de Lewis formando complexos com o enxofre cisteínico dos domínios catalíticos dessas enzimas.

A treonina foi o aminoácido que mais apresentou interações descritas pelos estudos, tendo sido identificadas interações em grande parte dos alvos proteicos do vírus. Essa molécula faz parte do grupo 1 dos aminoácidos, ou aminoácidos polares/hidrofílicos, os quais se localizam na superfície das proteínas, interagindo com as moléculas de águas (NELSON; COX., 2018). Após ocorrer o processo de dessolvatação, os compostos interagem primariamente com esses aminoácidos antes de atingirem as cavidades mais internas dos sítios catalíticos das enzimas (NELSON; COX., 2018). Isso pode explicar o motivo de a treonina ter sido a mais citada nos estudos de docking avaliados. Além disso, esse aminoácido apresenta grupamentos que podem facilmente realizar interações de hidrogênio com os flavonóides, podendo-se citar a hidroxila, o grupamento amino e até mesmo o grupamento carboxila.

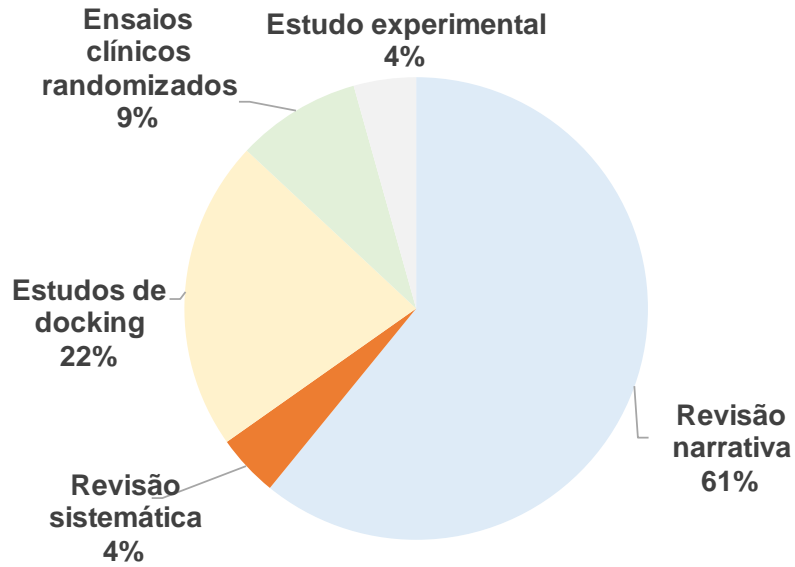
A histidina, por sua vez, faz parte do grupo 3 dos aminoácidos, que são aminoácidos que apresentam grupamentos R positivamente carregados (NELSON; COX., 2018). No caso da histidina o grupamento R é representado por um carbono ligado a um anel imidazólico, o qual apresenta caráter levemente básico, principalmente devido ao efeito de ressonância das ligações  $\pi$ . Esse anel contribui com diferentes tipos de interações entre os flavonóides, o que também pode explicar o grande número de citações nos artigos avaliados.

**Tabela 3** – Estudos encontrados nas bases de dados

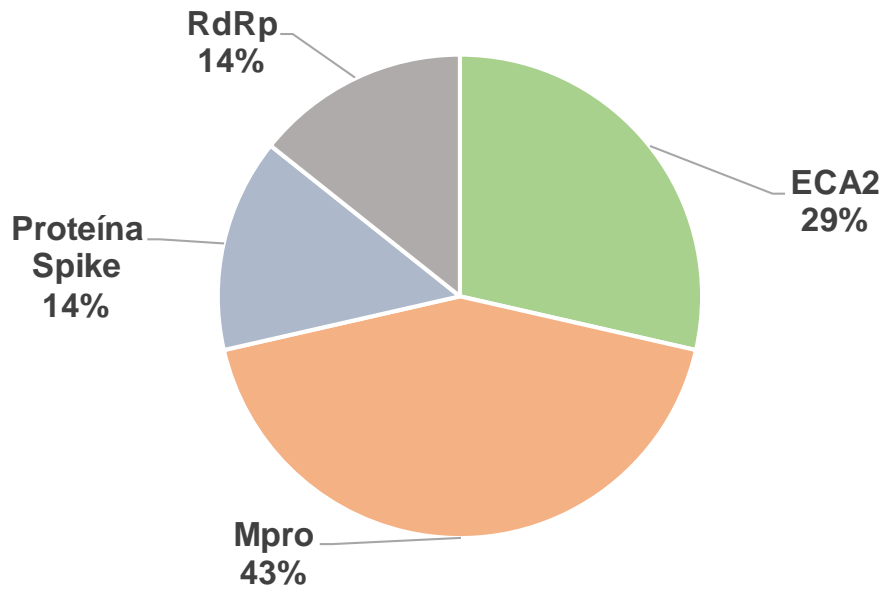
<b>Artigo</b>	<b>Autores</b>	<b>Ano</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>Objetivo</b>
Propolis against SARS-CoV-2 infection and COVID-19	BERETTA <i>et al</i>	2020	Revisão narrativa	Descrever os alvos biológicos da propólis frente à COVID-19
Back to basics: Propolis and COVID-19	BACHEVSKI <i>et al</i>	2020	Revisão narrativa	Revisar os efeitos da propólis como um inibidor do SARS-CoV-2
Micronutrients and bioactive substances: their potential roles in combating COVID-19	KEFLIE; BIESALSKI	2020	Revisão narrativa	Revisar os papéis dos micronutrientes e substâncias bioativas como opções terapêutica frente à COVID-19
Optimization and evaluation of própolis liposomes as a promising therapeutic approach for COVID-19	REFAAT <i>et al</i>	2020	Estudo experimental	Desenvolver uma formulação lipossomal para aumentar a atividade antiviral da propólis frente ao SARS-CoV-2
Propolis antiviral and immunomodulatory activity: a review and perspectives for COVID-19 treatment	RIPARI <i>et al</i>	2021	Revisão narrativa	Revisar a segurança, efeitos imunomoduladores e antivirais da propólis
Propolis, Bee Honey, and their componentes protect against Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): a review of <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> and clinical studies	ALI; KUNUGI	2021	Revisão narrativa	Descrever a atividade anti-SARS-CoV-2 dos componentes da propólis mediante revisão de estudos <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> e ensaios clínicos
Molecular interaction analysis of Sulawesi propolis compounds with SARS-CoV-2 main protease as preliminary study for COVID-19 drug discovery	SAHLAN <i>et al</i>	2021	Estudo de docking molecular	Avaliar se os principais componentes da propólis de Sulawesi são capazes de inibir a principal protease do SARS-CoV-2
Anti-viral and immunomodulatory properties of propolis: chemical diversity, pharmacological properties, preclinical and clinical applications, and <i>in silico</i> potencial against SARS-CoV-2	YOSRI <i>et al</i>	2021	Revisão narrativa	Descrever os efeitos antivirais e imunomoduladores dos principais componentes da propólis mediante a revisão de estudos pré-clínicos e clínicos
Efficacy of brazilian green propolis (EPP-AF®) as café adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: a randomized , controlled clinical trial	SILVEIRA <i>et al</i>	2021	Ensaio clínico randomizado	Avaliar os efeitos clínicos da propólis verde brasileira frente a alguns desfechos da COVID-19
The effect of propolis plus <i>Hyoscyamus niger</i> L. methanolic extract on clinical symptoms in patients with acute respiratory syndrome suspected to COVID-19: a clinical trial	KOSARI <i>et al</i>	2021	Ensaio clínico randomizado	Avaliar os efeitos do extrato etanólico da própolis e o da <i>Hyoscyamus niger</i> L. frente a desfechos clínicos da COVID-19
Fighting against the second wave of COVID-19 : can honeybee products help protect against the pandemic?	NAGGAR <i>et al</i>	2021	Revisão narrativa	Descrever os efeitos promissores de vários produtos oriundos de abelhas frente à COVID-19, incluindo-se a propólis
New insights into potential benefits of bioactive compounds of bee products on COVID-19 : a review and assesment of 83otente research	ELMAHALLAWY <i>et al</i>	2021	Revisão narrativa	Descrever a fisiopatologia da COVID-19 e o potencial de produtos naturais como potenciais tratamentos frente a essa doença

<i>In silico</i> screening of potent bioactive compounds from honeybee products against COVID-19 target enzymes	SHALDAM <i>et al</i>	2021	Estudo de docking molecular	Avaliar a interação de 14 compostos presentes na propólis frente à proteases essenciais para a replicação do SARS-CoV-2
Natural products and phytochemicals as potential anti-SARS-CoV-2 drugs	MERARCHI <i>et al</i>	2021	Revisão narrativa	Descrever os produtos naturais identificados como anti-SARS-CoV-2 baseados em estudos <i>in silico</i> , bem como descrever os mecanismos moleculares atrelados a esses
<i>In silico</i> investigation of potential inhibitors to main protease and spike protein of SARS-CoV-2 in propolis	HARISNA <i>et al</i>	2021	Estudo de docking molecular	Avaliar a interação de alguns compostos isolados da propólis frente à principal protease do SARS-CoV-2 e frente à subunidade S2 da proteína spike do mesmo vírus
Investigation of potential inhibitor properties of ethanolic propolis extracts against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by molecular docking study	GULER <i>et al</i>	2021	Estudo de docking molecular	Avaliar a interação de alguns flavonóides e compostos fenólicos da propólis frente à ECA-II, o receptor de entrada do SARS-CoV-2 às células hospedeiras
Evaluating the potency of Sulawesi propolis compounds as ACE-2 inhibitors through molecular docking for COVID-19 drug discovery preliminary study	KHAYRANI <i>et al</i>	2021	Estudo de docking molecular	Avaliar a interação de alguns compostos isolados da propólis frente à ECA-II
Honeybee products for the treatment and recovery from viral respiratory infections including SARS-CoV-2: a rapid systematic review	ARENTZ <i>et al</i>	2021	Revisão sistemática	Revisão de ensaios clínicos que descrevam a atividade de produtos derivados de abelhas nos desfechos da Síndrome Respiratória Aguda Grave
Approaches to nutritional screening in patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)	ALI; KUNUGI	2021	Revisão narrativa	Examinar os dados disponíveis na literatura acerca das diferentes estratégias para o controle nutricional de pacientes com COVID-19
Possible potential effects of honey and its main components against COVID-19 infection	ABEDI <i>et al</i>	2020	Revisão narrativa	Descrever os principais mecanismos de compostos presentes no mel de abelha e que exibem potencial efeito frente ao SARS-CoV-2
Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: a review	ZULHENDRI <i>et al</i>	2021	Revisão narrativa	Descrever as atividades antiviral, antibacteriana, antifúngica e antiparasitária, bem como os mecanismos de ação atrelados a propólis
The SARS-CoV-2 pandemic and the role of honey and its products as café emerging therapeutic regime: a review	ZAHRA <i>et al</i>	2020	Revisão narrativa	Descrever as características biológicas e clínicas do SARS-CoV-2, bem como o potencial antiviral do mel e da propólis
Micronutrients and bioactive compounds in the immunological	MONNERAT <i>et al</i>	2020	Revisão narrativa	Descrever quais os micronutrientes e compostos bioativos capazes de inibir as

Fonte: Autor, 2021.

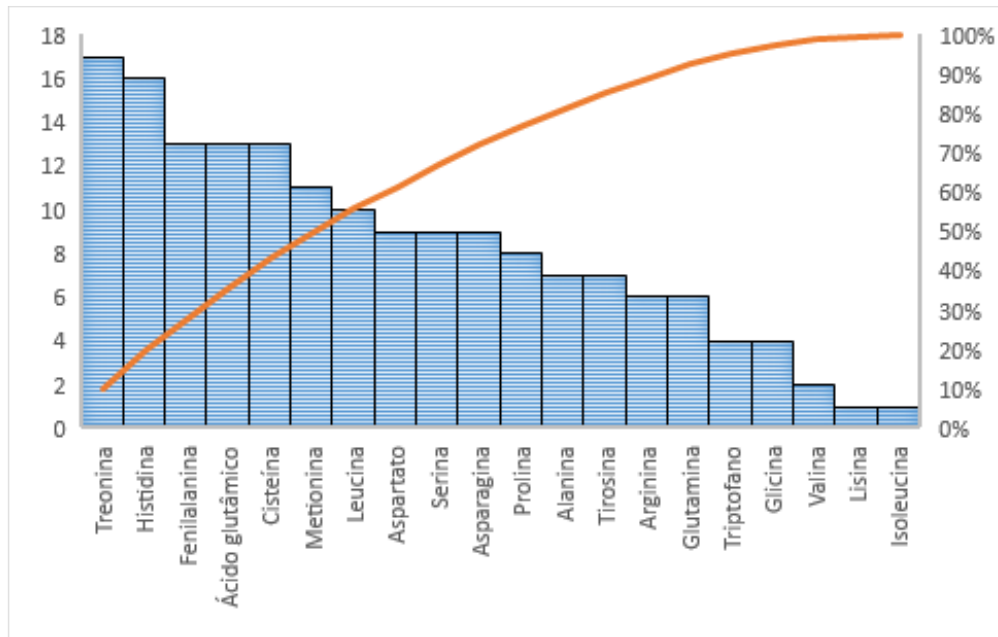
**Gráfico 1-** Distribuição e tipos de estudos encontrados nas bases de dados

Fonte: Autor, 2021.

**Gráfico 2-** Alvos bioquímicos citados pelos estudos

Fonte: Autor, 2021.

**Gráfico 3-** Quantidade de citações dos principais aminoácidos identificados nos estudos de docking molecular



Fonte: Autor, 2021.

#### 4.1 Flavonóides

Em relação aos estudos de docking molecular, o grupo de compostos isolados da propólis e que apresentaram potencial atividade anti-SARS-CoV-2 foram os flavonóides, sendo os alvos mais comumente descritos pelos estudos a 3CL<sup>pro</sup> e a ECA2, essenciais para a virulência do SARS-CoV-2.

Os flavonóides são compostos polifenólicos, apresentando anéis aromáticos interligados por diferentes orientações, conferindo certa hidrofobicidade a esses (SIMÕES *et al.*, 2016; LOPES *et al.*, 2010). Podem ser encontrados na forma de agliconas (isolados) e de glicosídeos (ligados a moléculas de açúcares) (SIMÕES *et al.*, 2016; KUMAR; PANDEY., 2014). Esses compostos são produzidos por meio do metabolismo secundário de espécies vegetais, não sendo encontrados no organismo humano, tendo em vista que os seres humanos não expressam as enzimas necessárias para a sua síntese endógena (SIMÕES *et al.*, 2016). São produzidos por meio de uma via mista, incluindo a via do ácido chiquímico, uma via importante para a síntese de diferentes compostos fenólicos, como o ácido cinâmico e o ácido ferúlico e a via do acetato-malato (SIMÕES *et al.*, 2016). A via do ácido chiquímico apresenta como característica principal a produção de moléculas com grupamentos oxigenados organizados de forma proximal, ou seja, com orientação em orto, enquanto que a via do acetato-malato ou via dos policetídeos se caracteriza pela produção de intermediários com oxigênios alternados, ou seja, em orientação meta (SIMÕES *et al.*, 2016). Para que os flavonóides sejam formados, é necessário que um dos

intermediários da via do ácido chiquímico se condense com um tricetídeo de 6 átomos de carbono advindos da via do acetato-malato, produzindo assim o precursor de todos os flavonóides, com um total de 15 átomos de carbono (SIMÕES *et al.*, 2016).

A organização química estrutural básica de um flavonóide se baseia na presença de dois anéis aromáticos (anel A e B) que são separados por um anel pirano central, sendo também conhecida como esqueleto C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (DORNAS *et al.*, 2010). O pirano é diretamente condensado ao anel A por meio do carbono 6 (C-6) e faz uma ligação sigma ( $\sigma$ ) de hibridização sp<sup>3</sup> com o anel B na posição C-2 (DORNAS *et al.*, 2010). As diferenças entre os subgrupos de flavonoides (flavonas, flavononas, isoflavonóides, flavonóis e antocianinas) se dão pela presença de diferentes grupamentos funcionais nos diferentes anéis (DORNAS *et al.*, 2010).

#### 4.1.1 Hesperidina

Em um dos estudos de docking avaliados, foi visto que a hesperidina (hesperetina-5-ramnoglicosídeo) se apresentou como o flavonóide com boa atividade inibitória da 3CL<sup>pro</sup>, com energia de ligação próxima a -7,4 kcal/mol. A hesperidina é um glicosídeo flavanônico, constituída pela hesperetina (3,5,7-trihidroxi-4-metóxi-flavonona) (aglicona) e pela rutinose (um carboidrato dissacarídico) (SIMÕES *et al.*, 2016). O dissacarídeo é constituído pela ligação de uma molécula de glicose a uma de ramnose, podendo assumir diferentes formas isoméricas (SIMÕES *et al.*, 2016).

Alguns estudos na literatura já descrevem a atividade isolada desse composto frente ao SARS-CoV-2, principalmente através de mecanismos de inibição de invasão viral, bem como da ML<sup>pro</sup>. Em um destes, Joshi e colaboradores (2021) observaram que a hesperidina apresentou a menor energia de ligação entre os compostos testados (-9,02 kcal/mol) frente à inibição da ML<sup>pro</sup>, por meio da interação com diversos aminoácidos do domínio de ligação, podendo-se incluir: Hr<sup>24</sup>, Thr<sup>25</sup>, Thr<sup>45</sup>, His<sup>4</sup>, Ser<sup>46</sup>, Cys<sup>145</sup>. Esse flavonóide interage principalmente por meio de ligações de hidrogênio da carbonila do anel C e da hidroxila fenólica do anel A.

Em outro estudo, Wu e colaboradores (2020) avaliaram o potencial de algumas substâncias naturais frente a alguns alvos do SARS-CoV-2, mais especificamente a atividade inibitória desses compostos ao se ligarem ao RBD da proteína S. Por meio deste, foi visto que a hesperidina se complexou à superfície da proteína, mediante o grupamento diidroflavona que assumiu uma conformação paralela estável com a folha  $\beta$ -6 do RBD, enquanto o grupamento glicosídico do composto se direcionou ao bolsão

hidrofóbico da ECA2, identificado pela presença de alguns aminoácidos hidrofóbicos, incluindo-se Tyr<sup>436</sup>, Try<sup>440</sup>, Leu<sup>442</sup>, Phe<sup>443</sup>, Phe<sup>476</sup>, Try<sup>475</sup>, Try<sup>481</sup> e Tyr<sup>49</sup>, o que gerou repulsão eletrostática. Dessa forma, o complexo spike-hesperidina foi capaz de impedir a ligação da proteína S à ECA2, inibindo assim a entrada do SARS-CoV-2 às células hospedeiras.

Além dos efeitos diretamente antivirais, a hesperidina é capaz de induzir uma diminuição do estresse oxidativo gerado pela presença do SARS-CoV-2, ou seja, apresentar atividade antioxidante (PARK; KANG; PARK., 2019). A própria estrutura química da hesperidina proporciona a captura de radicais livres, devido à presença de ligações  $\pi$  conjugadas presentes nos anéis aromáticos A e B (BELLAVITE; DONZELLI., 2020). No entanto, além da atividade antioxidante mediada pela captura de radicais livres, também é descrito na literatura o potencial da hesperidina em ativar vias de sinalização antioxidantes em células imunológicas, principalmente a via Erk/Nrf2 (ROOHBAKHSH et al., 2015).

Apesar da atividade promissora *in silico*, estudos mais aprofundados devem ser realizados de forma a se determinar a disponibilidade desse composto nos extratos de propólis, a concentração encontrada nos extratos, a concentração eficaz e a concentração tóxica, com o objetivo de se avançar nas pesquisas e se desenvolverem rotas de síntese para esse composto, bem como ensaios clínicos que comprovem sua efetividade.

#### **4.1.2 Rutina**

A rutina (3,3',4',5,7- pentahidroxi flavona- 3 rutinosídeo) é um biflavonóide cujas atividades protetoras do endotélio vascular, anti-inflamatória, antivaricosa e anticelulítica já são descritas pela literatura (PATHAK *et al.*, 1991).

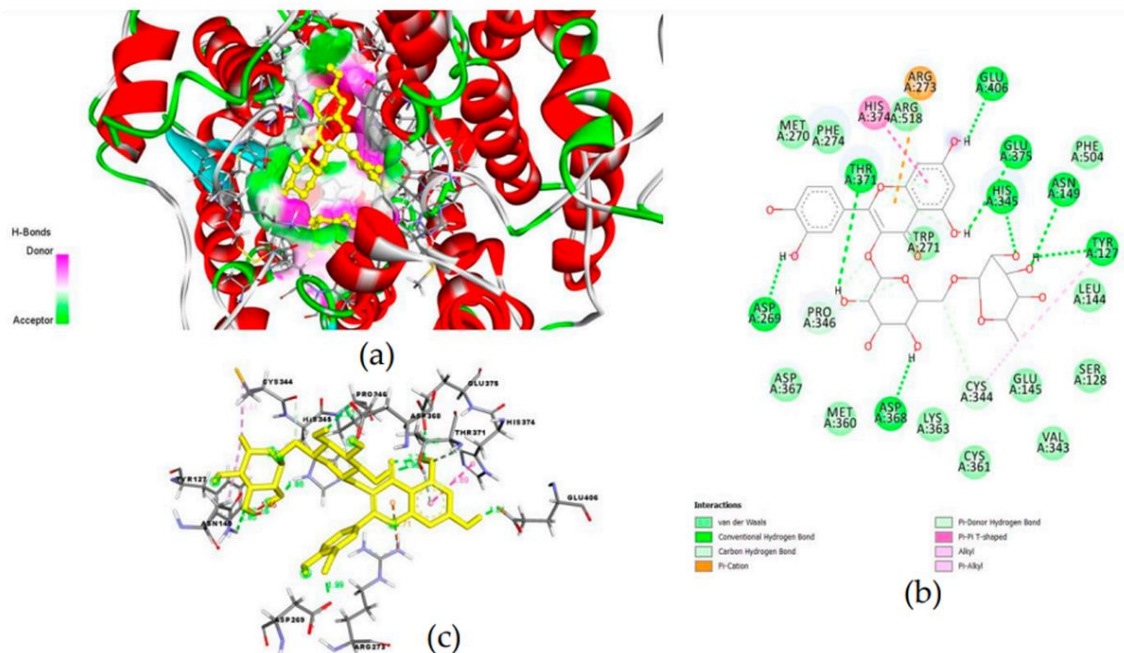
Em um dos estudos de docking realizados por Guler e colaboradores (2021) foi visto que esse composto apresentou excelente atividade inibidora da ECA2 com energia de ligação próxima à -8,04 kcal/mol. Esse mesmo estudo, por sua vez, demonstrou que a rutina foi capaz de interagir potencialmente com os resíduos de dedos de zinco da ECA2, com uma energia próxima à -8,97 kcal/mol e com uma constante de inibição (Ki) de 0,261  $\mu$ M mediante diversas interações com diferentes resíduos de aminoácidos. Dentre os resíduos de aminoácidos, foram descritas interações de hidrogênio entre a rutina e os aminoácidos Asn<sup>149</sup>, Asp<sup>269</sup>, Asp<sup>368</sup>, His<sup>345</sup>, Glu<sup>375</sup>, Glu<sup>406</sup>, Tyr<sup>127</sup> e Thr<sup>371</sup>. Outras interações também foram descritas, incluindo-se interações do tipo  $\pi$ - $\pi$  com o resíduo 374 de uma histidina, interações cátion-  $\pi$  com



o resíduo 273 de uma arginina e interações hidrofóbicas com o resíduo 344 de uma cisteína (Figura 20). Tudo isso corrobora com uma maior estabilização do complexo formado entre o fitoquímico e a enzima, demonstrando a efetividade e estabilidade físico-química.

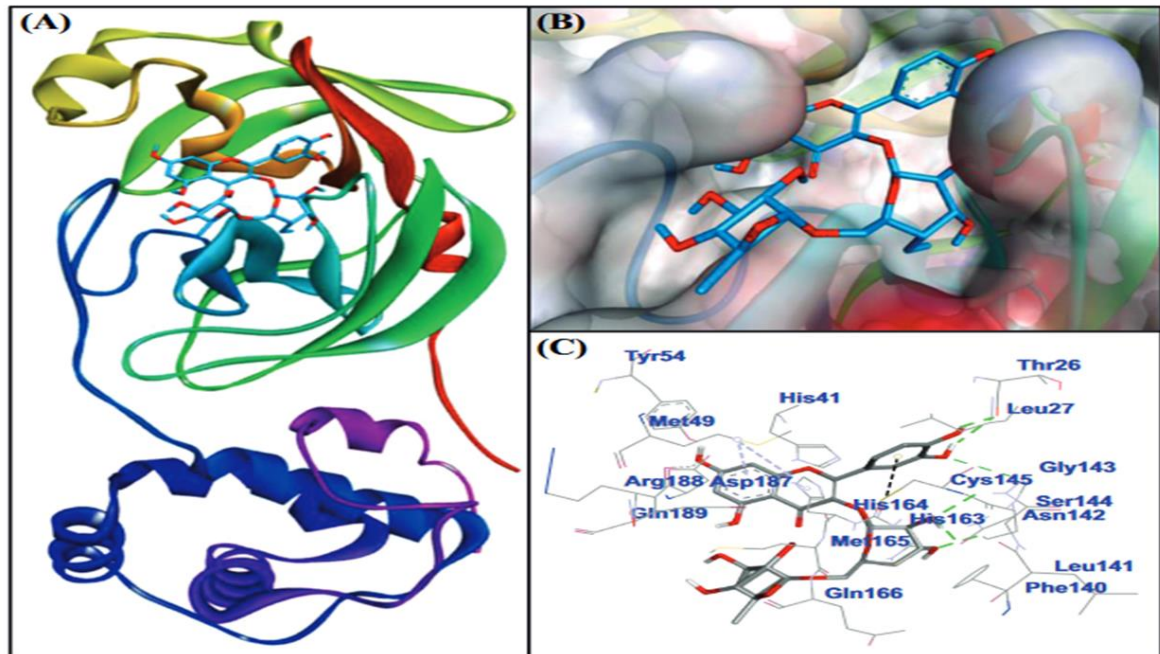
A rutina também apresenta potencial inibitório da subunidade S1 da proteína S, assim como demonstrado por um estudo publicado por Refaat e colaboradores (2020), onde foi visto que o remdemsevir e a rutina apresentaram as menores energias de ligação frente à S1, com grande afinidade por essa enzima.

Alguns estudos também descrevem a atividade inibitória da 3CL<sup>pro</sup> mediada pela rutina. Em um destes, Rehman, AlAjmi e Hussain (2021) avaliaram o potencial inibitório de alguns compostos sintéticos e naturais frente a ML<sup>pro</sup>, tendo sido a rutina um desses. Foi visto que a rutina se liga ao sítio ativo da enzima com uma energia de -9,4 kcal/mol e com uma constante de afinidade de  $7,8 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ , comprovando assim o potencial farmacológico dessa substância. As interações entre a rutina e a enzima são principalmente ligações de hidrogênio com os resíduos Asn<sup>142</sup>, His<sup>163</sup>, Gly<sup>143</sup>, Ser<sup>144</sup> e Thr<sup>26</sup>, interações  $\pi$ -enxofre com o resíduo Cys<sup>145</sup> e interações hidrofóbicas com resíduos de metionina na posição 49 (Figura 21). Essa enzima apresenta bolsões hidrofóbicos que acomodam os grupamentos volumosos (anéis aromáticos) da rutina, facilitando assim a estabilidade do complexo formado (REHMAN; ALAJMI; HUSSAIN., 2021).



**Figura 23. Docking molecular da interação entre a rutina e a ECA2.** Em (a) há a representação da interação da rutina com o sítio catalítico da ECA em 2D e (c) em 3D, bem como os tipos de interação e os resíduos de aminoácidos envolvidos em (b).

Fonte: GULER *et al*, 2021.



**Figura 24. Docking molecular da interação entre a rutina e a 3CL<sup>pro</sup>.** Em (A) há a representação da interação entre a molécula e o sítio catalítico da enzima em 2D, em (B) há a representação da interação da rutina com o sítio catalítico em 3D, enquanto que em (C) há a representação dos diferentes tipos de interações e os resíduos de aminoácidos específicos envolvidos.

Fonte: REHMAN, ALAJMI, HUSSAIN, 2021.

#### 4.1.3 Kaempferol

O Kaempferol (KPF, 3,5,7-tri-hidroxi-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopirano-4-ona) é um flavonoide que pode ser isolado de diferentes espécies vegetais, sendo encontrado na cebola, no feijão, na cenoura, brócolis, morangos, uvas, dentre outros alimentos (CALDERON-MONTANO *et al.*, 2011).

Quimicamente, esse composto apresenta um esqueleto típico de um flavonoide caracterizado pela presença de um difenilpropano (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) (SIMÕES *et al.*, 2016). É sintetizado por meio do metabolismo secundário dos vegetais, por meio da condensação de três moléculas de malonil-CoA (C<sub>6</sub>) com uma molécula de 4-cumaril-CoA (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>), sendo essa reação catalisada pela chalcona sintase (SIMÕES *et al.*, 2016). Essa reação resulta na formação da Naringenina chalcona que é convertida em Naringenina por meio da ação da enzima chalcosa isomerase, a qual realiza o fechamento do anel C, mediante a retirada de uma ligação de hibridização sp<sup>2</sup> (SIMÕES *et al.*, 2016). O anel C, por sua vez, é hidroxilado pela ação da flavonona 3-

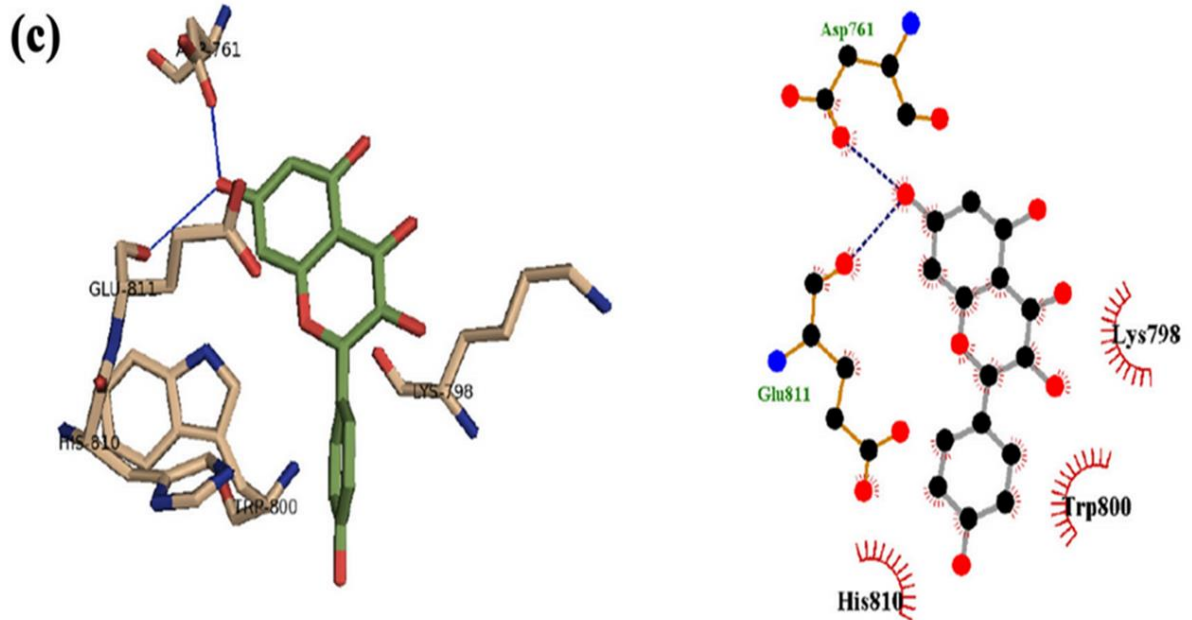
dioxigenase, produzindo assim o dihidrokaempferol que, posteriormente é transformado em kaempferol por meio da ação da kaempferol sintase, enzima responsável pela adição de uma nova ligação de hibridização  $sp^2$  entre C2 e C3 no anel C (SIMÕES *et al.*, 2016).

Esse composto também pode ser encontrado na forma de glicosídeo, ligando-se principalmente às moléculas de glicose, ramnose, rutinose e galactose (CALDERON-MONTANO *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2016). Os glicosídeos aumentam a solubilidade aquosa do kaempferol, devido à presença de inúmeras hidroxilas nas estruturas químicas desses açúcares, o que possibilita um maior número de interações de hidrogênio com a água e conseqüentemente melhor estabilização físico-química (CALDERON-MONTANO *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2016). Os glicosídeos do kaempferol podem ser encontrados na forma de C-glicosídeos ou O-glicosídeos, sendo o principal glicosídeo encontrado na natureza o kaempferol-3-O-glicosídeo, tendo em vista que a enzima responsável pela produção deste é altamente expressa pelas células das diferentes espécies vegetais que produzem esse metabólito secundário (CALDERON-MONTANO *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2016).

Em um estudo de docking molecular realizado por Rehman, Alajmi e Hussain (2021), foi avaliado o potencial inibitório do kaempferol frente à 3CL<sup>pro</sup>, tendo sido obtidos resultados promissores: uma energia de ligação de -7,8 kcal/mol e uma constante de afinidade de  $5,2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ . Esse composto interage diretamente com o sítio catalítico da enzima por meio de interações de hidrogênio, interações  $\pi$ -enxofre e interações hidrofóbicas. O complexo composto-enzima formado é termodinamicamente favorável, mostrando que esse composto pode ser um futuro tratamento para a COVID-19.

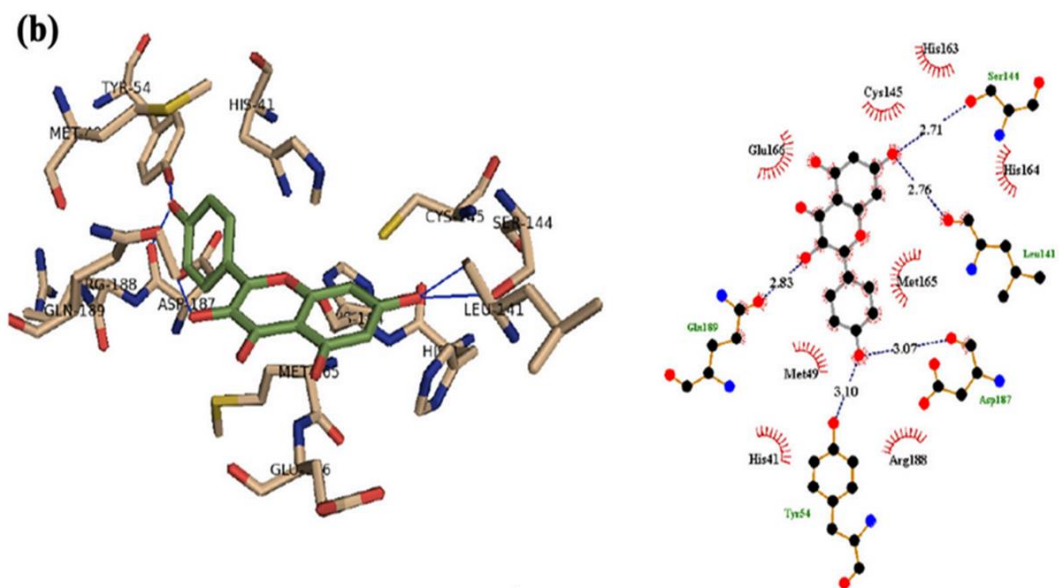
Em outro estudo de docking, realizado por Shaldam e colaboradores (2021), foi avaliado o potencial inibitório de diversas moléculas frente à diferentes alvos do SARS-CoV-2, tendo sido observado que o kaempferol foi capaz de inibir duas enzimas importantes do vírus: a RdRp e a ML<sup>pro</sup> com valores de energia de ligação de -6,2 kcal e -7,8 kcal/mol, respectivamente. As principais interações do kaempferol com a RdRp descritas e observadas foram: ligações de hidrogênio com os resíduos de Trp<sup>617</sup>, Asp<sup>760</sup>, Asp<sup>761</sup> e Glu<sup>811</sup>; interações cátion- $\pi$  dos anéis aromáticos com os resíduos de Lys<sup>798</sup>. Tratando-se de ML<sup>pro</sup>, foi visto que o kaempferol realiza ligações de

hidrogênio com os resíduos Tyr<sup>54</sup>, Leu<sup>141</sup>, Ser<sup>144</sup>, Asp<sup>187</sup> e Gln<sup>189</sup>, bem como interações hidrofóbicas do tipo cátion- $\pi$  com os resíduos Met<sup>165</sup> ou Glu<sup>166</sup>.



**Figura 25. Docking molecular da interação entre o kaempferol e a RdRp.** À esquerda há a representação em 3D da interação entre o kaempferol e a RdRp, sendo as linhas azuis indicativas de interações de hidrogênio. À direita há a representação da interação em 2D, sendo as linhas tracejadas azuis indicativas de interações de hidrogênio.

Fonte: SHALDAM *et al*, 2021.



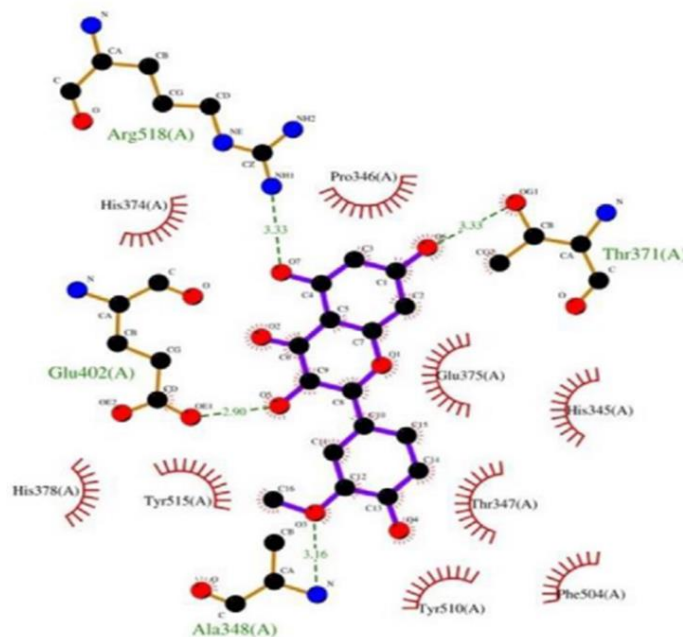
**Figura 26. Docking molecular da interação entre o kaempferol e a M<sup>pro</sup> do SARS-CoV-2.** À esquerda há a representação em 3D das interações entre o kaempferol e a M<sup>pro</sup> do SARS-CoV-2, sendo as linhas azuis indicativas de interações de hidrogênio. À direita há a representação das interações em 2D, sendo as linhas tracejadas azuis indicativas de interações de hidrogênio.

Fonte: SHALDAM *et al*, 2021.

#### 4.1.4 Isoramnetina

A isoramnetina (3-metilquercetina-  $C_{16}H_{12}O_7$ ) também faz parte do grupo dos flavonóides, podendo ser encontrada na forma de aglicona e de glicosídeo em diferentes espécies vegetais. Seus efeitos antioxidantes, antiinflamatórios, antineoplásicos e antivirais já são descritos na literatura, sendo atualmente um alvo de estudo objetivando-se o desenvolvimento de fármacos anti-SARS-CoV-2.

Em um desses estudos, realizado por Khayrani e colaboradores (2021) foi avaliado o perfil, energia de ligação e outros parâmetros físico-químicos da interação desse composto frente à ECA2, tendo sido obtido um resultado de energia igual a -9,2 kcal/mol para a isoramnetina, equivalente ao inibidor padrão. Esse valor mostra que o composto apresenta potencial de ligação à enzima, de forma termodinamicamente favorável, ou seja, com  $\Delta G$  (Energia livre de Gibbs) menor que 0 ( $\Delta G < 0$ ), resultando em uma interação dita espontânea. Essa energia é resultante dos diversos tipos de interação que ocorrem de forma sinérgica entre a molécula e o receptor, principalmente interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. A isoramnetina realiza 13 interações com a enzima, sendo 4 interações de hidrogênio com os resíduos de Thr<sup>371</sup>, Ala<sup>348</sup>, Glu<sup>402</sup> e Arg<sup>518</sup> e 9 interações hidrofóbicas com os resíduos de His<sup>345</sup>, Pro<sup>346</sup>, Thr<sup>347</sup>, His<sup>374</sup>, Glu<sup>375</sup>, His<sup>378</sup>, Phe<sup>504</sup>, Tyr<sup>510</sup> e Tyr<sup>515</sup>, caracterizados por seus perfis altamente lipofílicos (Figura 26).



**Figura 27. Docking molecular da interação entre a isoramnetina e o sítio catalítico da ECA2.** No centro da imagem há a representação em 2D da molécula de isoramnetina e ao redor dessa os aminoácidos e tipos de interações envolvidas.



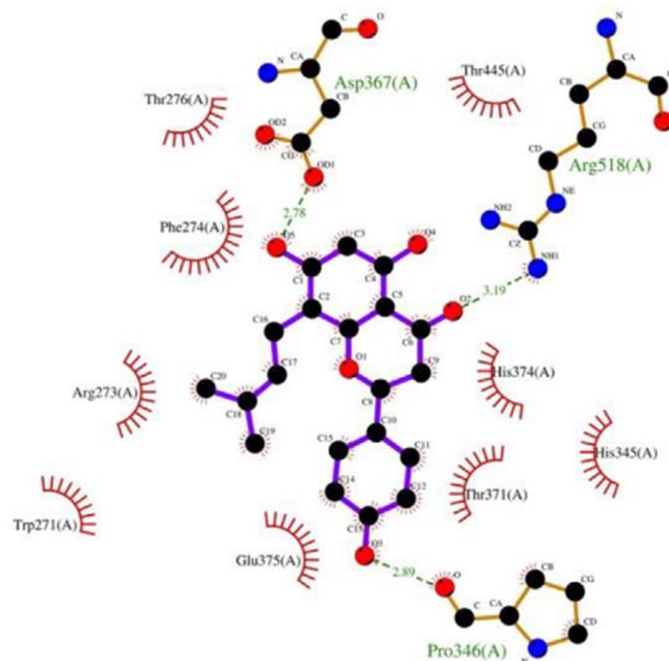
Fonte: KHAYRANI *et al*, 2021.

#### 4.1.5 (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona

A (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona (C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>5</sub>) é uma flavonona prenilada, ou seja, apresenta cadeias oriundas da via dos terpenos, ou seja, constituídas por unidades de isopreno, o que dá a esse composto maior lipofilicidade em comparação a outras flavononas (KHAYRANI *et al.*, 2021).

No mesmo estudo realizado por Khayrani e colaboradores (2021), verificou-se que a (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona foi capaz de inibir a ECA2, com energia de ligação próxima a -9,3 kcal/mol, com boa afinidade. O composto realiza 12 interações com a enzima, sendo 3 delas interações de hidrogênio com os resíduos Pro<sup>346</sup>, Asp<sup>367</sup>, Arg<sup>518</sup>. As outras 9 interações foram do tipo hidrofóbicas, entre os resíduos Trp<sup>271</sup>, Arg<sup>273</sup>, Phe<sup>274</sup>, Thr<sup>276</sup>, His<sup>345</sup>, Thr<sup>371</sup>, His<sup>374</sup>, Glu<sup>375</sup> e Thr<sup>445</sup> (Figura 27).

Apesar dos resultados promissores, tanto para a isoramnetina como para a (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona é necessário que novas análises sejam realizadas, principalmente por meio de estudos *in vitro* e *in vivo* para avaliar se a inibição acarretada por esses compostos também se dá na presença do SARS-CoV-2, bem como em condições fisiológicas, respectivamente.



**Figura 28. Docking molecular da interação entre a (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona e o sítio catalítico da ECA2.** No centro da imagem há a representação em 2D da molécula de (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona e ao redor dessa os aminoácidos e tipos de interações envolvidas.

Fonte: KHAYRANI *et al*, 2021

## 4.2 Ácido fenólico

### 4.2.1 Éster fenilético do ácido cafeico (CAPE)

O Éster fenilético do ácido cafeico (CAPE) é um derivado mais lipossolúvel do ácido cafeico (presença de dois anéis aromáticos interligados por uma cadeia de 5 carbonos) encontrado e produzido por algumas espécies vegetais (SIMÕES *et al.*, 2016). Esse composto faz parte da classe dos ácidos hidroxicinâmicos, sendo produzido pelas células vegetais a partir da via do chiquimato (SIMÕES *et al.*, 2016). É caracterizado por seu elevado potencial antioxidante, sendo suas atividades anti-inflamatória, antitumoral, anti-fibrótica e antiviral bem descritas pela literatura (PRASAD *et al.*, 2010). Pode ser encontrado em diversas frutas consumidas diariamente pelos humanos, incluindo uvas, maçãs e tomates (JAGANATHAN, MANDAL., 2009; SALOMÃO *et al.*, 2010). Também pode ser encontrado e isolado a partir dos diferentes extratos de propólis, bem como no mel de abelha (JAGANATHAN, MANDAL., 2009; SALOMÃO *et al.*, 2010). Devido a sua característica mais lipossolúvel, o CAPE interage melhor com as membranas das células, o que pode explicar a sua excelente atividade farmacológica *in vitro* (PARACATU., 2012).

Alguns estudos já descrevem o potencial anti-COVID-19 desse composto, sendo a maioria destes estudos *in vitro* e *in silico*. Em um destes, Kumar e colaboradores (2021) avaliaram o potencial de interação de 3 compostos naturais frente à M<sup>pro</sup> do SARS-CoV-2 (Witanona-A- Wi-N, Witaferina-A –Wi-A e CAPE), tendo sido observado que tanto a Witanona-A como o CAPE foram capazes de interagir com o sítio catalítico da enzima, de uma forma energeticamente favorável. A energia de ligação para a para Wi-N foi de -4,42 kcal/mol, enquanto que para o CAPE foi de -4,79 kcal/mol. Apesar da Wi-A apresentar estrutura molecular semelhante à Wi-N, foi observado pelos autores que a mesma não apresentou potencial inibitório, tendo sido isso resultante da presença de uma torção conformacional no carbono 20 (C20), fazendo com que a molécula assumisse uma conformação desfavorável frente à enzima.

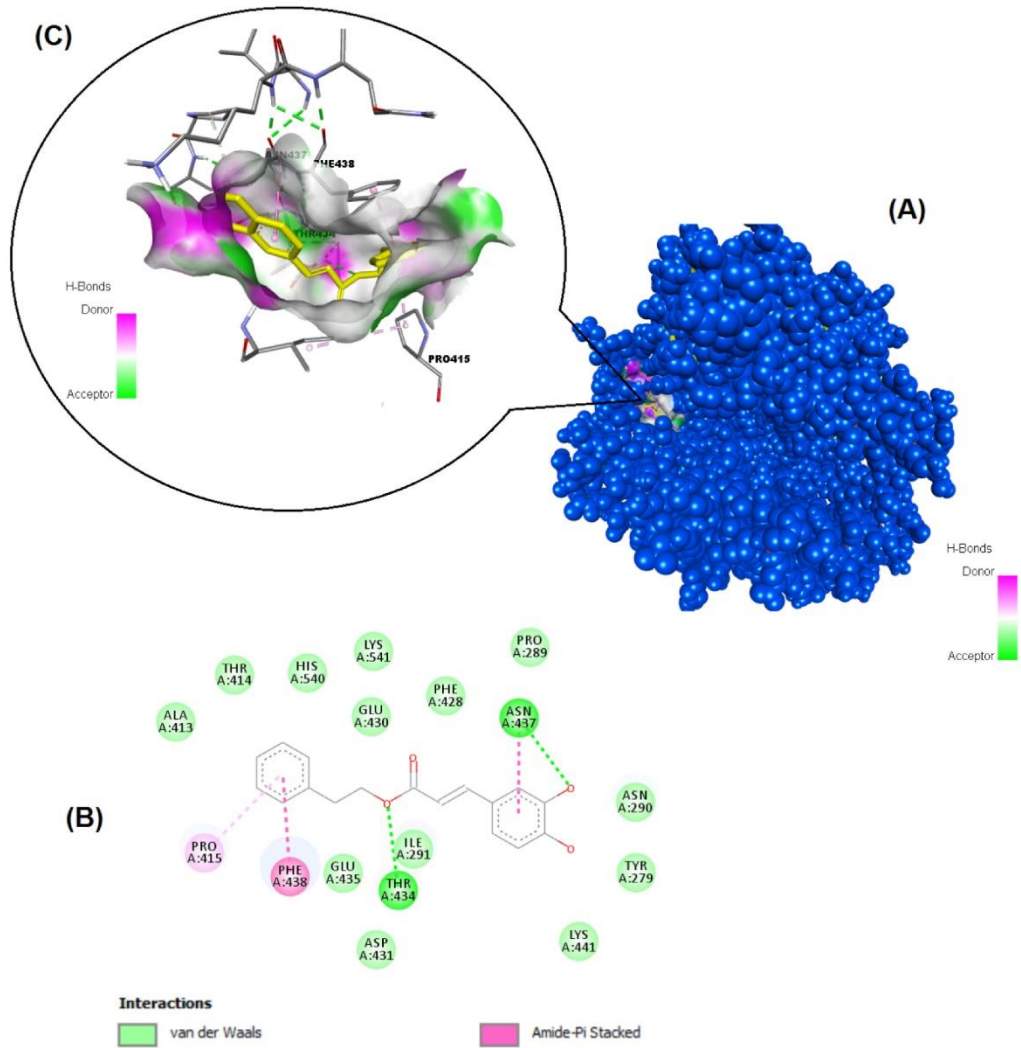
A Wi-N interage com diversos aminoácidos do sítio catalítico da enzima, podendo-se incluir: Cys<sup>145</sup>, Thr<sup>26</sup>, His<sup>41</sup>, Cys<sup>44</sup>, Asn<sup>119</sup>, Asn<sup>142</sup>, Gly<sup>143</sup>, Gln<sup>189</sup>, Thr<sup>190</sup>, Gln<sup>192</sup> (interações de hidrogênio) e Thr<sup>24</sup>, Thr<sup>25</sup>, Thr<sup>26</sup>, Leu<sup>27</sup>, His<sup>41</sup>, Met<sup>49</sup>, Tyr<sup>54</sup>, Asn<sup>142</sup>, Gly<sup>143</sup>, His<sup>164</sup>, Met<sup>165</sup>, Glu<sup>166</sup>, Arg<sup>188</sup>, Asp<sup>188</sup>, Gln<sup>189</sup>, Gln<sup>19</sup>, Thr<sup>24</sup>, Thr<sup>25</sup>, Thr<sup>26</sup>, His<sup>41</sup>, Cys<sup>44</sup>, Thr<sup>45</sup>, Ser<sup>46</sup>, Glu<sup>47</sup>, Met<sup>49</sup>, Pro<sup>52</sup>, Tyr<sup>54</sup>, Asn<sup>119</sup>, Asn<sup>142</sup>, Gly<sup>143</sup>, Ser<sup>144</sup>, Cys<sup>145</sup>,

His<sup>164</sup>, Met<sup>165</sup>, Glu<sup>166</sup>, Leu<sup>167</sup>, Pro<sup>168</sup>, Gly<sup>170</sup>, Asp<sup>187</sup>, Arg<sup>188</sup>, Gln<sup>189</sup>, Thr<sup>190</sup>, Gln<sup>192</sup> (interações hidrofóbicas e  $\pi$ - $\pi$  stacking) (KUMAR *et al.*, 2021).

O CAPE, por sua vez, interage com os seguintes resíduos de aminoácidos: Asn<sup>142</sup>, Glu<sup>166</sup>, Thr<sup>25</sup>, Cys<sup>44</sup>, Ser<sup>46</sup>, Phe<sup>140</sup>, Asn<sup>142</sup>, Cys<sup>145</sup>, Glu<sup>166</sup>, His<sup>172</sup>, Gln<sup>189</sup>, Thr<sup>190</sup>, Ala<sup>191</sup>, Gln<sup>192</sup> (interações de hidrogênio) e Leu<sup>27</sup>, Cys<sup>44</sup>, Met<sup>49</sup>, Pro<sup>52</sup>, Tyr<sup>54</sup>, Phe<sup>140</sup>, Leu<sup>141</sup>, Ser<sup>144</sup>, Cys<sup>145</sup>, His<sup>163</sup>, His<sup>164</sup>, Met<sup>165</sup>, Glu<sup>166</sup>, His<sup>172</sup>, Asp<sup>187</sup>, Arg<sup>188</sup>, Gln<sup>189</sup>, Thr<sup>24</sup>, Thr<sup>25</sup>, Thr<sup>26</sup>, Pro<sup>39</sup>, His<sup>41</sup>, Cys<sup>44</sup>, Thr<sup>45</sup>, Ser<sup>46</sup>, Glu<sup>47</sup>, Met<sup>49</sup>, Leu<sup>50</sup>, Asn<sup>51</sup>, Cys<sup>85</sup>, Phe<sup>140</sup>, Leu<sup>141</sup>, Asn<sup>142</sup>, Gly<sup>143</sup>, Ser<sup>144</sup>, Cys<sup>145</sup>, His<sup>164</sup>, Met<sup>165</sup>, Glu<sup>166</sup>, Leu<sup>167</sup>, Pro<sup>168</sup>, His<sup>172</sup>, Phe<sup>181</sup>, Val<sup>186</sup>, Asp<sup>187</sup>, Arg<sup>188</sup>, Gln<sup>189</sup>, Thr<sup>190</sup>, Ala<sup>191</sup>, Gln<sup>192</sup>, Ala<sup>193</sup>, Ala<sup>194</sup> (interações hidrofóbicas e  $\pi$ - $\pi$  stacking) (KUMAR *et al.*, 2021).

Em outro estudo, realizado por Guler e colaboradores (2021), foi avaliado o potencial inibitório do CAPE e de outros fitoquímicos presentes na propólis mediante o RBD da proteína S do SARS-CoV-2, bem como frente à ECA2. Para isso foram utilizadas técnicas *in vitro* e *in silico*, podendo-se incluir a técnica de ELISA e o docking molecular, respectivamente. Dessa forma, por meio da análise por docking, foi visto que 4 compostos apresentaram as menores energia de ligação frente ao RBD da spike e à ECA2, sendo eles: pinocembrina, crisina, CAPE e hesperetina, sendo todos estes flavonóides, com exceção do CAPE (um ácido fenólico). O CAPE apresentou energia de ligação de -8,42 kcal/mol, sendo maior apenas que a crisina (-8,47 kcal/mol) e a pinocembrina (-8,58 kcal/mol) para inibição da ECA2. Em relação à inibição da spike, o CAPE apresentou energia de ligação de -7,17 kcal/mol, maior apenas que a hesperetina (-7,28 kcal/mol), crisina (-7,48 kcal/mol) e a pinocembrina (-7,54 kcal/mol). As interações do CAPE com a ECA2 ocorrem principalmente com os resíduos de aminoácidos Asn<sup>437</sup>, Ile<sup>291</sup>, Thr<sup>434</sup>, Phe<sup>438</sup> e Pro<sup>415</sup>, sendo as principais interações envolvidas as de van der waals e  $\pi$ - $\pi$  stacking (Figura 23). Já com a proteína S, o CAPE interage com os resíduos Leu<sup>335</sup>, Phe<sup>338</sup>, Val<sup>367</sup>, Trp<sup>436</sup>, Gly<sup>339</sup> e Cys<sup>336</sup> mediante interações de van der waals, interações de hidrogênio,  $\pi$ - $\pi$  stacking e  $\pi$ -alquil (Figura 24).





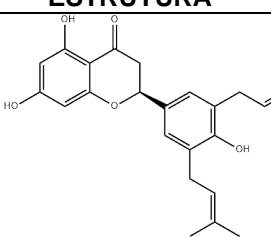
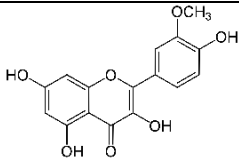
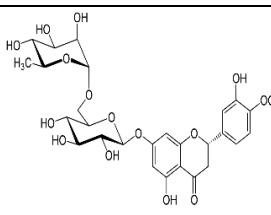
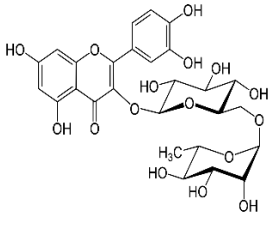
**Figura 29. Docking molecular da interação entre o CAPE e a ECA2.** Em (A) há a representação do posicionamento do CAPE no sítio catalítico da ECA2, enquanto que em (B) e (C) há a representação das interações entre o CAPE e ACE2 em 2D e 3D, respectivamente.  
**Fonte:** GULER *et al*, 2021.

**Tabela 4-** Estudos de docking molecular e as respectivas moléculas com potencial anti-SARS-CoV-2.

<b>Estudo</b>	<b>Molécula (s)</b>	<b>Classe química</b>	<b>Alvo (s) biológico (s)</b>	<b>Ki</b>
Molecular interaction analysis of Sulawesi propolis compounds with SARS-CoV-2 main protease as 98otent98ar study for COVID-19 drug discovery	Brousoflavonol F (-7,8 kcal/mol)	Flavonóide	Principal protease do SARS-CoV-2 (ML <sup>pro</sup> )	Não calculada
	Gliasperina A (-7,8 kcal/mol)	Flavonóide		
	Sulabirinóides (-7,6 kcal/mol)	Derivado da podofilotoxina		
<i>In silico</i> screening of 98otent bioactive compounds from honeybee products against COVID-19 target enzymes	Ácido elágico (-6,4 kcal/mol e -7,5 kcal/mol)	Flavonóides	RNA polimerase RNA-dependente (RdRp)	Não calculada
	Hesperidina (-6,3 kcal/mol e -7,4 kcal/mol)		Principal protease do SARS-CoV-2 (ML <sup>pro</sup> )	
	Kaempferol (-6,2 kcal e -7,8 kcal/mol)			
	Artepilina C (-5,9 kcal/mol e -7,5 kcal/mol)			
<i>In silico</i> investigation of potential inhibitors to main protease and spike protein of SARS-CoV-2 in propolis	Metilopogonoma A (-7,6 kcal/mol e -8,2 kcal/mol)	Flavonoides	Principal protease do SARS-CoV-2 (ML <sup>pro</sup> )	0,9969 e 0,9967 M
	3-metoxidaidzeína (-7,7 kcal/mol e -8,3 kcal/mol)		Subunidade S2 da spike	
	Genisteína (-7,6 kcal/mol e -8,3 kcal/mol)			
Investigation of potential inhibitor properties of ethanolic propolis extracts against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by molecular docking study	Rutina (-8,04 kcal/mol)	Flavonóide	Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA- II)	1,29 µM
	Miricetina (-7,59 kcal/mol)	Flavonóide		2,74 µM
	Hesperidina (-7,45 kcal/mol)	Flavonóide		3,46 µM
	CAPE (-7,58 kcal/mol)	Ácido fenólico		2,79 µM
Evaluating the potency of Sulawesi propolis compounds as ACE-2 inhibitors through molecular docking for COVID-19 drug discovery preliminar study	(2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona (-9,3 kcal/mol)	Flavonóides	Enzima Conversora de Angiotensina II (ECA- II)	Não calculada
	Isoharmnetina (-9,2 kcal/mol)			

Fonte: Autor, 2021.

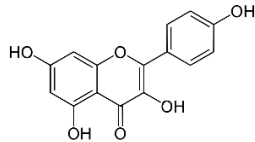
**Tabela 5-** Caracterização das interações dos principais fitoquímicos com potencial anti-SARS-CoV-2 encontrados na propólis

COMPOSTO	ESTRUTURA	ALVOS	ENERGIA	INTERAÇÕES	AMINOÁCIDOS
(2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona		ECA2	-9,3 kcal/mol	L.H	Pro <sup>346</sup> , Asp <sup>367</sup> , Arg <sup>518</sup>
Isoramnetina		ECA2	-9,2 kcal/mol	L.H	Thr <sup>371</sup> , Ala <sup>348</sup> , Glu <sup>402</sup> e Arg <sup>518</sup>
				I.H	Trp <sup>271</sup> , Arg <sup>273</sup> , Phe <sup>274</sup> , Thr <sup>276</sup> , His <sup>345</sup> , Thr <sup>371</sup> , His <sup>374</sup> , Glu <sup>375</sup> e Thr <sup>445</sup>
Hesperidina		3CL <sup>pro</sup>	-7,4 kcal/mol	L.H e Cátion- $\pi$	Gly <sup>143</sup> , Met <sup>165</sup> e Glu <sup>166</sup>
				L.H e I.H	Hr <sup>24</sup> , Thr <sup>25</sup> , Thr <sup>45</sup> , His <sup>4</sup> , Ser <sup>46</sup> , Cys <sup>445</sup>
		Proteína Spike	-9,02 kcal/mol	L.H e I.H	Tyr <sup>436</sup> , Try <sup>440</sup> , Leu <sup>442</sup> , Phe <sup>443</sup> , Phe <sup>476</sup> , Try <sup>475</sup> , Try <sup>481</sup> e Tyr <sup>49</sup>
Rutina		ECA2	-8,04 kcal/mol	L.H, $\pi$ - $\pi$ , Cátion- $\pi$ e I.H	Tyr <sup>127</sup> , Leu <sup>144</sup> , Glu <sup>145</sup> , Asn <sup>149</sup> , Glu <sup>150</sup> , Met <sup>152</sup> , Ala <sup>153</sup> , Asp <sup>269</sup> , Met <sup>270</sup> , Trp <sup>271</sup> , Phe <sup>274</sup> , Thr <sup>276</sup> , Cys <sup>344</sup> , His <sup>345</sup> , Pro <sup>346</sup> , Met <sup>360</sup> e Cys <sup>361</sup>
					Asn <sup>149</sup> , Asp <sup>269</sup> , Asp <sup>368</sup> , Hist <sup>345</sup> , Glu <sup>375</sup> , Glu <sup>406</sup> , Tyr <sup>127</sup> , Thr <sup>371</sup> , His <sup>374</sup> , Arg <sup>273</sup> e Cys <sup>344</sup>
		3CL <sup>pro</sup>	-9,40 kcal/mol	L.H	Asn <sup>142</sup> , His <sup>163</sup> , Gly <sup>143</sup> , Ser <sup>144</sup> e Thr <sup>26</sup>

Cys<sup>145</sup> $\pi$ -SMet<sup>49</sup>

I.H

Kaempferol

3CL<sup>pro</sup>-7,8  
kcal/mol

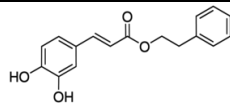
L.H

Tyr<sup>54</sup>, Leu<sup>141</sup>, Ser<sup>144</sup>,  
Asp<sup>187</sup> e Gln<sup>189</sup>

RdRp

-6,2  
kcal/molCátion-  $\pi$   
L.HMet<sup>165</sup> ou Glu<sup>166</sup>  
Trp<sup>617</sup>, Asp<sup>760</sup>, Asp<sup>761</sup>  
e Glu<sup>811</sup>Cátion-  $\pi$ Lys<sup>798</sup>

CAPE

3CL<sup>pro</sup>-4,79  
kcal/mol

L.H

Asn<sup>142</sup>, Glu<sup>166</sup>, Thr<sup>25</sup>,  
Cys<sup>44</sup>, Ser<sup>46</sup>, Phe<sup>140</sup>,  
Asn<sup>142</sup>, Cys<sup>145</sup>,  
Glu<sup>166</sup>, His<sup>172</sup>, Gln<sup>189</sup>,  
Thr<sup>190</sup>, Ala<sup>191</sup>, Gln<sup>192</sup>

I.H

Leu<sup>27</sup>, Cys<sup>44</sup>, Met<sup>49</sup>,  
Pro<sup>52</sup>, Tyr<sup>54</sup>, Phe<sup>140</sup>,  
Leu<sup>141</sup>, Ser<sup>144</sup>,  
Cys<sup>145</sup>, His<sup>163</sup>, His<sup>164</sup>,  
Met<sup>165</sup>, Glu<sup>166</sup>, His<sup>172</sup>,  
Asp<sup>187</sup>, Arg<sup>188</sup>, Gln<sup>189</sup>,  
Thr<sup>24</sup>, Thr<sup>25</sup>, Thr<sup>26</sup>,  
Pro<sup>39</sup>, His<sup>41</sup>, Cys<sup>44</sup>,  
Thr<sup>45</sup>, Ser<sup>46</sup>, Glu<sup>47</sup>,  
Met<sup>49</sup>, Leu<sup>50</sup>, Asn<sup>51</sup>,  
Cys<sup>85</sup>, Phe<sup>140</sup>, Leu<sup>141</sup>,  
Asn<sup>142</sup>, Gly<sup>143</sup>, Ser<sup>144</sup>,  
Cys<sup>145</sup>, His<sup>164</sup>, Met<sup>165</sup>,  
Glu<sup>166</sup>, Leu<sup>167</sup>, Pro<sup>168</sup>,  
His<sup>172</sup>, Phe<sup>181</sup>, Val<sup>186</sup>,  
Asp<sup>187</sup>, Arg<sup>188</sup>, Gln<sup>189</sup>,  
Thr<sup>190</sup>, Ala<sup>191</sup>, Gln<sup>192</sup>,  
Ala<sup>193</sup>, Ala<sup>194</sup>Asn<sup>437</sup>, Ile<sup>291</sup>, Thr<sup>434</sup> e  
Pro<sup>415</sup>Phe<sup>438</sup>

---

ECA2	-7,17 kcal/mol	V.W	Ala <sup>363</sup> , Pro <sup>337</sup> , Ser <sup>373</sup> , Asn <sup>343</sup> , Ser <sup>371</sup> , Phe <sup>342</sup> , Phe <sup>374</sup> , Leu <sup>368</sup> , Asp <sup>364</sup>
		$\pi$ - $\pi$ stacking	Phe <sup>338</sup> e Trp <sup>436</sup>
Proteína Spike	-8,42 kcal/mol	V.W	Cys <sup>363</sup> e Gly <sup>339</sup> Leu <sup>335</sup> e Val <sup>367</sup>
		$\pi$ - $\pi$ stacking	
		L.H	
		$\pi$ -alquil	

---

## 5 CONCLUSÃO

Dessa forma, foi possível observar que a propólis apresenta em sua constituição diversas substâncias químicas de diversas classes fitoquímicas com elevado potencial anti-SARS-CoV-2. No entanto, nem todos esses se mostraram termodinamicamente favoráveis após a realização do levantamento de estudos físico-químicos de interações intermoleculares.

Das classes fitoquímicas de moléculas presentes na propólis, a que se mostrou com maior potencial inibitório viral foi a dos flavonóides, sendo as principais moléculas a rutina, a hesperidina, o kaempferol, a isoramnetina e o (2S)-5,7-dihidroxi-4'-metoxi-8-prenilflavonona. Dos ácidos fenólicos, o mais efetivo e com maior número de citações e estudos de análise físico-química foi o CAPE. Em relação às interações, as mais descritas foram interações de hidrogênio e interações hidrofóbicas.

Apesar de se mostrarem promissoras substâncias a serem utilizadas no tratamento da COVID-19, são diversas as variantes que podem interferir negativamente na eficácia dessas, podendo-se incluir: baixa absorção por via gastrointestinal, tendo em vista que em um extrato de propólis a quantidade de moléculas é excessiva, as quais podem se complexar, o que inibe a absorção; concentração desses compostos abaixo do limiar necessário para uma atividade farmacológica; escassez de estudos clínicos que comprovem a atividade desses

compostos isolados e em conjunto frente aos desfechos, bem como na profilaxia da COVID-19.

## REFERÊNCIAS

ABREU, Andreza Miranda *et al.* Effect of topical application of different substances on fibroplasia in cutaneous surgical wounds. **International Scholarly Research Notices**, v. 2012, 2012.

ABU-SEIDA, Ashraf M. Effect of propolis on experimental cutaneous wound healing in dogs. **Veterinary medicine international**, v. 2015, 2015.

AHMED, R. *et al.* Antioxidant properties and cardioprotective mechanism of Malaysian propolis in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v.2017, 2017.

AGA, Hajime *et al.* Isolation and identification of antimicrobial compounds in Brazilian propolis. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 58, n. 5, p. 945-946, 1994.

AGOSTINI, Maria L. *et al.* Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease. **MBio**, v. 9, n. 2, p. e00221-18, 2018.

AKHTAR, Hubba *et al.* COVID-19 (SARS-CoV-2) infection in pregnancy: a systematic review. **Gynecologic and Obstetric Investigation**, v. 85, n. 4, p. 295-306, 2020.

AKILANDESWARI, K.; RUCKMANI, K. Synergistic antibacterial effect of apigenin with  $\beta$ -lactam antibiotics and modulation of bacterial resistance by a possible membrane effect against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. **Cellular and Molecular Biology**, v. 62, n. 14, p. 74-82, 2016.

AOI, Wataru *et al.* Improvement of insulin resistance, blood pressure and interstitial pH in early developmental stage of insulin resistance in OLETF rats by intake of propolis extracts. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 432, n. 4, p. 650-653, 2013.

AMOROS, M. *et al.* Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. **Journal of Natural Products**, v. 55, n. 12, p. 1732-1740, 1992.

ARREOLA, Rodrigo *et al.* Immunomodulation and anti-inflammatory effects of garlic compounds. **Journal of immunology research**, v. 2015, 2015.

ASHOUR, Hossam M. *et al.* Insights into the recent 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) in light of past human coronavirus outbreaks. **Pathogens**, v. 9, n. 3, p. 186, 2020.

BAKKERS, Mark JG *et al.* Betacoronavirus adaptation to humans involved progressive loss of hemagglutinin-esterase lectin activity. **Cell host & microbe**, v. 21, n. 3, p. 356-366, 2017.

BALANDRIN, Manuel F. *et al.* Natural plant chemicals: sources of industrial and medicinal materials. **Science**, v. 228, n. 4704, p. 1154-1160, 1985.

BANKOVA, Vassya S.; DE CASTRO, Solange L.; MARCUCCI, Maria C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, n. 1, p. 3-15, 2000.

BANKOVA, Vassya S.; DE CASTRO, Solange L.; MARCUCCI, Maria C. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, n. 1, p. 3-15, 2000.

BANSKOTA, Arjun H. *et al.* Chemical constituents of Brazilian propolis and their cytotoxic activities. **Journal of Natural Products**, v. 61, n. 7, p. 896-900, 1998.

BAO, Yan *et al.* Identification of IFN- $\gamma$ -producing innate B cells. **Cell research**, v. 24, n. 2, p. 161-176, 2014.

BÁRCENA, Montserrat *et al.* Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: Insights into the structure of the coronavirus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 2, p. 582-587, 2009.

BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos Alberto Manssour. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed Editora, 2014.

BAYAN, Leyla; KOULIVAND, Peir Hossain; GORJI, Ali. Garlic: a review of potential therapeutic effects. **Avicenna journal of phytomedicine**, v. 4, n. 1, p. 1, 2014.



BEGNINI, Karine Rech *et al.* Brazilian red propolis induces apoptosis-like cell death and decreases migration potential in bladder cancer cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

BELLAVITE, Paolo; DONZELLI, Alberto. Hesperidin and SARS-CoV-2: new light on the healthy function of citrus fruits. **Antioxidants**, v. 9, n. 8, p. 742, 2020.

BERGHEANU, S. C.; BODDE, M. C.; JUKEMA, J. W. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis. **Netherlands Heart Journal**, v. 25, n.4, p.231-242, 2017.

BHATTACHARYYA, Mau *et al.* Systemic production of IFN- $\alpha$  by garlic (*Allium sativum*) in humans. **Journal of Interferon & Cytokine Research**, v. 27, n. 5, p. 377-382, 2007.

BOJIĆ, Mirza *et al.* Propolis ethanolic extracts reduce adenosine diphosphate induced platelet aggregation determined on whole blood. **Nutrition journal**, v. 17, n. 1, p. 1-8, 2018.

BOLOURI, Abbas Javadzadeh *et al.* Preventing and therapeutic effect of propolis in radiotherapy induced mucositis of head and neck cancers: a triple-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Iranian journal of cancer prevention**, v. 8, n. 5, 2015.

BOOZARI, Motahareh; HOSSEINZADEH, Hossein. Natural products for COVID-19 prevention and treatment regarding to previous coronavirus infections and novel studies. **Phytotherapy Research**, v. 35, n. 2, p. 864-876, 2021.

BOSCH, Berend Jan *et al.* The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. **Journal of virology**, v. 77, n. 16, p. 8801-8811, 2003.

BOULWARE, David R. *et al.* A randomized trial of hydroxychloroquine as postexposure prophylaxis for Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 6, p. 517-525, 2020.

BRIANT, Laurence *et al.* The protein tyrosine kinase p56 lck is required for triggering NF- $\kappa$ B activation upon interaction of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp120 with cell surface CD4. **Journal of virology**, v. 72, n. 7, p. 6207-6214, 1998.

BUENO-SILVA, Bruno *et al.* Brazilian red propolis effects on peritoneal macrophage activity: nitric oxide, cell viability, pro-inflammatory cytokines and gene expression. **Journal of ethnopharmacology**, v. 207, p. 100-107, 2017.

BUKHARI, Mulazim Hussain; MAHMOOD, Khalid; ZAHRA, Syeda Ailia. Over view for the truth of COVID-19 pandemic: A guide for the Pathologists, Health care workers and community'. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 36, n. COVID19-S4, p. S111, 2020.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). **Food and Chemical toxicology**, v. 36, n. 4, p. 347-363, 1998.

CALLEJO, A. *et al.* Propolis, a new bee-related allergen. **Allergy**, v. 56, n. 6, p. 579, 2001.

CAMPO FERNÁNDEZ, Mercedes *et al.* GC-MS determination of isoflavonoids in seven red Cuban propolis samples. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 21, p. 9927-9932, 2008.

CARDOSO, Rosemari Laura *et al.* Antimicrobial activity of propolis extract against Staphylococcus coagulase positive and Malassezia pachydermatis of canine otitis. **Veterinary Microbiology**, v. 142, n. 3-4, p. 432-434, 2010.

CARTER, Linda J. *et al.* **Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis**. 2020.

CASCELLA, Marco *et al.* Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19). **StatPearls**, 2021.

CASTALDO, Stefano; CAPASSO, Francesco. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, p. S1-S6, 2002.

CAVALCANTI, Alexandre B. *et al.* Hydroxychloroquine with or without azithromycin in mild-to-moderate Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 21, p. 2041-2052, 2020.

CAVENDISH, Rodrigo Lima *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory effects of Brazilian red propolis extract and formononetin in rodents. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 173, p. 127-133, 2015.

CHAI, Xiaoqiang *et al.* Specific ACE2 expression in cholangiocytes may cause liver damage after 2019-nCoV infection.  **biorxiv**, 2020.

CHEN, Chia-Nan *et al.* Inhibition of SARS-CoV 3C-like protease activity by theaflavin-3, 3'-digallate (TF3). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2, n. 2, p. 209-215, 2005.

CHEN, F. *et al.* In vitro susceptibility of 10 clinical isolates of SARS coronavirus to selected antiviral compounds. **Journal of clinical virology**, v. 31, n. 1, p. 69-75, 2004.

CHEN, Jun *et al.* A pilot study of hydroxychloroquine in treatment of patients with moderate COVID-19. **Journal of Zhejiang University (Medical Science)**, v. 49, n. 2, p. 215-219, 2020.

CHEN, Li-Rung *et al.* Synthesis and evaluation of isatin derivatives as effective SARS coronavirus 3CL protease inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 12, p. 3058-3062, 2005.

CHEN, Tao *et al.* Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. **BMJ**, v. 368, 2020.

CHEN, Yue-Wen *et al.* Antibacterial activity of propolins from Taiwanese green propolis. **journal of food and drug analysis**, v. 26, n. 2, p. 761-768, 2018.

CHEN, Yue-Wen *et al.* Antibacterial activity of propolins from Taiwanese green propolis. **journal of food and drug analysis**, v. 26, n. 2, p. 761-768, 2018.

CHENG, Ai-Xia *et al.* Plant terpenoids: biosynthesis and ecological functions. **Journal of integrative plant biology**, v. 49, n. 2, p. 179-186, 2007.

CHIKARAISHI, Yuichi *et al.* Angiostatic effects of Brazilian green propolis and its chemical constituents. **Molecular nutrition & food research**, v. 54, n. 4, p. 566-575, 2010.

CHIVESE, Tawanda *et al.* Efficacy of chloroquine and hydroxychloroquine in treating COVID-19 infection: A meta-review of systematic reviews and an updated meta-analysis. **Travel Medicine and Infectious Disease**, p. 102135, 2021.

CHU, C. M. *et al.* Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. **Thorax**, v. 59, n. 3, p. 252-256, 2004.

CINATL, J. *et al.* Glycyrrhizin, an active component of liquorice roots, and replication of SARS-associated coronavirus. **The Lancet**, v. 361, n. 9374, p. 2045-2046, 2003.

CONTE, Fernanda Lopes *et al.* Propolis increases Foxp3 expression and lymphocyte proliferation in HIV-infected people: A randomized, double blind, parallel-group and placebo-controlled study. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 142, p. 111984, 2021.

COULERIE, Paul *et al.* Structure-activity relationship study of biflavonoids on the Dengue virus polymerase DENV-NS5 RdRp. **Planta medica**, v. 79, n. 14, p. 1313-1318, 2013.

COWLING, Benjamin J.; LEUNG, Gabriel M. Epidemiological research priorities for public health control of the ongoing global novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 6, p. 2000110, 2020.

CUGNO, Massimo *et al.* Complement activation in patients with COVID-19: a novel therapeutic target. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 146, n. 1, p. 215, 2020.

DAI, Wei-cai *et al.* CT imaging and differential diagnosis of COVID-19. **Canadian Association of Radiologists Journal**, v. 71, n. 2, p. 195-200, 2020.

DALEPRANE, Julio Beltrame *et al.* Anti-atherogenic and anti-angiogenic activities of polyphenols from propolis. **The Journal of nutritional biochemistry**, v. 23, n. 6, p. 557-566, 2012.

DATIASHVILI, Ramazi O.; YUEH, Janet H. Management of complicated wounds of the extremities with scapular fascial free flaps. **Journal of reconstructive microsurgery**, v. 28, n. 08, p. 521-528, 2012.

DAUGSCH, Andreas *et al.* Brazilian red propolis—chemical composition and botanical origin. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 5, n. 4, p. 435-441, 2008.

DE AGUIAR, Sílvia Cristina *et al.* Antimicrobial activity of Brazilian propolis extracts against rumen bacteria in vitro. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 10, p. 1951-1959, 2013.

DECHOUM, K. Facilitando a compreensão da segunda lei da termodinâmica. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 25, p. 359-363, 2003.

DE HAAN, Cornelis AM *et al.* Coronavirus particle assembly: primary structure requirements of the membrane protein. **Journal of virology**, v. 72, n. 8, p. 6838-6850, 1998.

DE PAULO RODRIGUES, Francisco Adelvane *et al.* Gingerol suppresses sepsis-induced acute kidney injury by modulating methylsulfonylmethane and dimethylamine production. **Scientific reports**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2018.

DE WILDE, Adriaan H. *et al.* Screening of an FDA-approved compound library identifies four small-molecule inhibitors of Middle East respiratory syndrome coronavirus replication in cell culture. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 8, p. 4875-4884, 2014.

DEEGAN, Kathleen Ramos *et al.* Susceptibility of malassezia pachydermatis clinical isolates to allopathic antifungals and Brazilian red, green, and brown propolis extracts. **Frontiers in veterinary science**, v. 6, p. 460, 2019.

Devices, V.M., 2020. **Roche Coronavirus Test Receives Emergency Use Authorisation from FDA**. Verdict Media Limited.

DORNAS, W. C. *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, 2007.

DOTA, Kelen Fátima Dalben *et al.* Antifungal activity of Brazilian propolis microparticles against yeasts isolated from vulvovaginal candidiasis. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

ERNST, Edzard. The prevalence of complementary/alternative medicine in cancer: a systematic review. **Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society**, v. 83, n. 4, p. 777-782, 1998.

EROGLU, Nazife *et al.* Amino acid and vitamin content of propolis collected by native caucasian honeybees. **Journal of Apicultural Science**, v. 60, n. 2, p. 101-110, 2016.

EYNG, C. *et al.* Immune responses in broiler chicks fed propolis extraction residue-supplemented diets. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 28, n. 1, p. 135, 2015.

HUNG, Ivan Fan-Ngai *et al.* SARS-CoV-2 shedding and seroconversion among passengers quarantined after disembarking a cruise ship: a case series. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 9, p. 1051-1060, 2020.

FARNESI, A. P. *et al.* Effects of stingless bee and honey bee propolis on four species of bacteria. **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 2, p. 635-640, 2009.

FASOLO, Daniel *et al.* Determination of benzophenones in lipophilic extract of Brazilian red propolis, nanotechnology-based product and porcine skin and mucosa: Analytical and bioanalytical assays. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 124, p. 57-66, 2016.

FATRIANSYAH, Jaka Fajar *et al.* Molecular docking and dynamics studies on propolis sulabiroin-A as a potential inhibitor of SARS-CoV-2. **Journal of King Saud University-Science**, p. 101707, 2021.

FERNANDES, Fábio H. *et al.* Evaluation of mutagenic and antimicrobial properties of brown propolis essential oil from the Brazilian Cerrado biome. **Toxicology reports**, v. 2, p. 1482-1488, 2015.

FERREIRA, Joselena M. *et al.* New propolis type from north-east Brazil: chemical composition, antioxidant activity and botanical origin. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 11, p. 3552-3558, 2017.

FERREIRA, Juliana C. *et al.* Baccharin and p-coumaric acid from green propolis mitigate inflammation by modulating the production of cytokines and eicosanoids. **Journal of Ethnopharmacology**, p. 114255, 2021.

FINKEL, Yaara et al. The coding capacity of SARS-CoV-2. **Nature**, v. 589, n. 7840, p. 125-130, 2021.

FIOLET, Thibault *et al.* Effect of hydroxychloroquine with or without azithromycin on the mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: a systematic review and meta-analysis. **Clinical microbiology and infection**, v. 27, n. 1, p. 19-27, 2021.

FRANCHIN, Marcelo *et al.* Cinnamoyloxy-mammeisin isolated from geopropolis attenuates inflammatory process by inhibiting cytokine production: involvement of MAPK, AP-1, and NF- $\kappa$ B. **Journal of natural products**, v. 79, n. 7, p. 1828-1833, 2016.

FRANCHIN, Marcelo *et al.* Neovestitol, an isoflavonoid isolated from Brazilian red propolis, reduces acute and chronic inflammation: involvement of nitric oxide and IL-6. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 1-12, 2016.

FRANCHIN, Marcelo *et al.* The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European journal of medicinal chemistry**, v. 153, p. 49-55, 2018.

FREIRES, Irlan Almeida *et al.* Chemical composition and antifungal potential of Brazilian propolis against *Candida* spp. **Journal de mycologie medicale**, v. 26, n. 2, p. 122-132, 2016.

GAITANIS, Georgios *et al.* The *Malassezia* genus in skin and systemic diseases. **Clinical microbiology reviews**, v. 25, n. 1, p. 106-141, 2012.

GARCIA, Macarena et al. Centers for Disease Control and Prevention 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) information management: addressing national health-care and public health needs for standardized data definitions and codified vocabulary for data exchange. **Journal of the American Medical Informatics Association**, v. 27, n. 9, p. 1476-1487, 2020.

GAY, Bernard *et al.* pH-dependent entry of chikungunya virus into *Aedes albopictus* cells. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 6, p. 1275-1281, 2012.

GLASHA, A. *et al.* Whole human heart histology to validate electroanatomical voltage mapping in patients with non-ischaemic cardiomyopathy and ventricular tachycardia. **European heart journal**, v.39, n.31, p. 2867-2875, 2018.

GOMES, Maria FF *et al.* In vitro biological activity of brown propolis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 4, p. 279-282, 2016.

GOULD, Neal *et al.* Regulation of protein function and signaling by reversible cysteine S-nitrosylation. **Journal of Biological Chemistry**, v. 288, n. 37, p. 26473-26479, 2013.

GU, Jinyang; HAN, Bing; WANG, Jian. COVID-19: gastrointestinal manifestations and potential fecal–oral transmission. **Gastroenterology**, v. 158, n. 6, p. 1518-1519, 2020.

GULER, Halil Ibrahim *et al.* Investigation of potential inhibitor properties of ethanolic propolis extracts against ACE-II receptors for COVID-19 treatment by Molecular Docking Study. **Archives of microbiology**, p. 1-8, 2021.

GULER, Halil Ibrahim *et al.* Targeting CoV-2 Spike RBD and ACE-2 Interaction with Flavonoids of Anatolian Propolis by in silico and in vitro Studies in terms of possible COVID-19 therapeutics. **BioRxiv**, 2021.

GUO, J.; HUANG, Z.; LIN, Li. (COVID-19) and Cardiovascular Disease: A Viewpoint on the Potential Influence of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors/Angiotensin Receptor Blockers on Onset and Severity of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. **J Am Heart Assoc.**, v. 2020, p. 9, 2019.

GUO, J.; HUANG, Z.; LIN, Li. (COVID-19) and Cardiovascular Disease: A Viewpoint on the Potential Influence of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors/Angiotensin Receptor Blockers on Onset and Severity of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. **J Am Heart Assoc.**, v. 2020, p. 9, 2019.

GUZMAN, Juan David. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19292-19349, 2014.

HAMILTON, John A. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. **Nature Reviews Immunology**, v. 8, n. 7, p. 533-544, 2008.

HARRISON, Andrew G.; LIN, Tao; WANG, Penghua. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. **Trends in immunology**, 2020.



HASAN, Muhammed Y.; TEO, Rachel; NATHER, Aziz. Negative-pressure wound therapy for management of diabetic foot wounds: a review of the mechanism of action, clinical applications, and recent developments. **Diabetic foot & ankle**, v. 6, n. 1, p. 27618, 2015.

HAUSEN, B. M. *et al.* Propolis allergy.(II). The sensitizing properties of 1, 1-dimethylallyl caffeic acid ester. **Contact Dermatitis**, v. 17, n. 3, p. 171-177, 1987.

HAUSEN, Björn M. Evaluation of the main contact allergens in propolis (1995 to 2005). **Dermatitis**, v. 16, n. 3, p. 127-129, 2005.

HELENO, Sandrina A. *et al.* Antimicrobial and demelanizing activity of Ganoderma lucidum extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. **Food and chemical toxicology**, v. 58, p. 95-100, 2013.

HENSHAW, Frances R. *et al.* Topical application of the bee hive protectant propolis is well tolerated and improves human diabetic foot ulcer healing in a prospective feasibility study. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 28, n. 6, p. 850-857, 2014.

HERNÁNDEZ-SANTOYO, Alejandra *et al.* Protein-protein and protein-ligand docking. **Protein engineering-technology and application**, p. 63-81, 2013.

HERNÁNDEZ TASCÓ, Alvaro José *et al.* Antibacterial and antifungal properties of crude extracts and isolated compounds from *Lychnophora markgravii*. **Natural product research**, v. 34, n. 6, p. 863-867, 2020.

HEYMANN, David L.; SHINDO, Nahoko. COVID-19: what is next for public health?. **The Lancet**, v. 395, n. 10224, p. 542-545, 2020.

HILAL-DANDAN, Randa; BRUNTON, Laurence. **Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman**. AMGH Editora, 2015.

HO, Tin-Yun *et al.* Emodin blocks the SARS coronavirus spike protein and angiotensin-converting enzyme 2 interaction. **Antiviral research**, v. 74, n. 2, p. 92-101, 2007.

HODGSON, Susanne H. *et al.* What defines an efficacious COVID-19 vaccine? A review of the challenges assessing the clinical efficacy of vaccines against SARS-CoV-2. **The lancet infectious diseases**, v. 21, n. 2, p. e26-e35, 2021.

HORI, Juliana I. *et al.* The inhibition of inflammasome by Brazilian propolis (EPP-AF). **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2013, 2013.

HOŞNUTER, Mübin *et al.* The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. **Burns**, v. 30, n. 2, p. 121-125, 2004.

HOU, Yixuan J. *et al.* SARS-CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. **Cell**, v. 182, n. 2, p. 429-446. e14, 2020.

HUANG, Chaolin *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

HUANG, Shuai *et al.* Recent advances in the chemical composition of propolis. **Molecules**, v. 19, n. 12, p. 19610-19632, 2014.

HUNG, Ivan Fan-Ngai *et al.* Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. **The Lancet**, v. 395, n. 10238, p. 1695-1704, 2020.

IBÁÑEZ, Sebastián *et al.* Hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19: should they be used as standard therapy?. **Clinical rheumatology**, v. 39, p. 2461-2465, 2020.

IMAI, Yumiko *et al.* Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. **Cell**, v. 133, n. 2, p. 235-249, 2008.

ISON, Michael G.; WOLFE, Cameron; BOUCHER, Helen W. Emergency use authorization of remdesivir: the need for a transparent distribution process. **JAMA**, v. 323, n. 23, p. 2365-2366, 2020.

IZUTA, Hiroshi *et al.* Bee products prevent VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 9, n. 1, p. 1-10, 2009.

JAGANATHAN, Saravana Kumar; MANDAL, Mahitosh. Antiproliferative effects of honey and of its polyphenols: a review. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2009, 2009.

JENG, S.-N. et al. Antimutagenicity of ethanol extracts of bee glue against environmental mutagens. **Food and chemical toxicology**, v. 38, n. 10, p. 893-897, 2000.

JI, Hong-Long *et al.* Elevated plasmin (ogen) as a common risk factor for COVID-19 susceptibility. **Physiological reviews**, 2020.

JORAY, Mariana Belén *et al.* Antibacterial and cytotoxic activity of compounds isolated from *Flourensia oolepis*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

JOSHI, Rakesh S. *et al.* Discovery of potential multi-target-directed ligands by targeting host-specific SARS-CoV-2 structurally conserved main protease. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 9, p. 3099-3114, 2021.

KAJANI, Raahil *et al.* Neuroleptic malignant syndrome in a COVID-19 patient. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 88, p. 28, 2020.

KANEEDA, J.; NISHINA, T. Safety of propolis: acute toxicity. **Honey Bee Sci**, v. 15, p. 29-33, 1994.

KHAN, Mohsin *et al.* Assessment of in vitro prophylactic and therapeutic efficacy of chloroquine against Chikungunya virus in vero cells. **Journal of medical virology**, v. 82, n. 5, p. 817-824, 2010.

KHARSANY, K. *et al.* The new buzz: Investigating the antimicrobial interactions between bioactive compounds found in South African propolis. **Journal of ethnopharmacology**, v. 238, p. 111867, 2019.

KHAYRANI, Apriliana Cahya *et al.* Evaluating the potency of Sulawesi propolis compounds as ACE-2 inhibitors through molecular docking for COVID-19 drug discovery preliminary study. **Journal of King Saud University-Science**, v. 33, n. 2, p. 101297, 2021.

KHONGTHONG, Phungern; ROSEWEIR, Antonia K.; EDWARDS, Joanne. The NF- $\kappa$ B pathway and endocrine therapy resistance in breast cancer. **Endocrine-related cancer**, v. 26, n. 6, p. R369-R380, 2019.

KIM, So Young *et al.* Suppression of Toll-like receptor 4 activation by caffeic acid phenethyl ester is mediated by interference of LPS binding to MD2. **British journal of pharmacology**, v. 168, n. 8, p. 1933-1945, 2013.

KIMBALL, Anne *et al.* Asymptomatic and presymptomatic SARS-CoV-2 infections in residents of a long-term care skilled nursing facility—King County, Washington, March 2020. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 69, n. 13, p. 377, 2020.

KIMOTO, Tetsuo *et al.* Renal carcinogenesis induced by ferric nitrilotriacetate in mice, and protection from it by Brazilian propolis and artemisinin. **Pathology international**, v. 50, n. 9, p. 679-689, 2000.

KIRTIPAL, Nikhil; BHARADWAJ, Shiv; KANG, Sang Gu. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. **Infection, Genetics and Evolution**, p. 104502, 2020.

KOMASTU, Takashi; IRELAND, Derek DC; REISS, Carol Shoshkes. IL-12 and viral infections. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 9, n. 3-4, p. 277-285, 1998.

KUBA, Keiji *et al.* Trilysin of ACE2: A peptidase in the renin–angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters. **Pharmacology & therapeutics**, v. 128, n. 1, p. 119-128, 2010.

KUBOTA, Yoko *et al.* Anti-hypertensive effects of Brazilian propolis in spontaneously hypertensive rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 31, p. S29-S30, 2004.

KUCHARZEWSKI, M.; KÓZKA, M.; URBANEK, T. Topical treatment of nonhealing venous leg ulcer with propolis ointment. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

KUJUMGIEV, A. *et al.* Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. **Journal of ethnopharmacology**, v. 64, n. 3, p. 235-240, 1999.

KUMAR, Shashank; PANDEY, Abhay K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The scientific world journal**, v. 2013, 2013.

KUMAR, Vijay. Emerging human coronavirus infections (SARS, MERS, and COVID-19): where they are leading us. **International Reviews of Immunology**, v. 40, n. 1-2, p. 5-53, 2021.

KUMAR, Vinay. **Robbins & cotran-patologia bases patológicas das doenças 8a edição**. Elsevier Brasil, 2010.

KUMAR, Vipul *et al.* Withanone and caffeic acid phenethyl ester are predicted to interact with main protease (Mpro) of SARS-CoV-2 and inhibit its activity. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 11, p. 3842-3854, 2021.

KUREK-GÓRECKA, Anna *et al.* Bee products in dermatology and skin care. **Molecules**, v. 25, n. 3, p. 556, 2020.

KURI-CERVANTES, Leticia *et al.* Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. **Science immunology**, v. 5, n. 49, p. eabd7114, 2020.

LAI, Chih-Cheng *et al.* Asymptomatic carrier state, acute respiratory disease, and pneumonia due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Facts and myths. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 53, n. 3, p. 404-412, 2020.

LAI, Christopher KC; LAM, Wilson. Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 538, p. 226-230, 2021.

LAING, Adam G. *et al.* A dynamic COVID-19 immune signature includes associations with poor prognosis. **Nature medicine**, v. 26, n. 10, p. 1623-1635, 2020.

LAMBERT-NICLOT, Sidonie *et al.* Evaluation of a rapid diagnostic assay for detection of SARS-CoV-2 antigen in nasopharyngeal swabs. **Journal of clinical microbiology**, v. 58, n. 8, p. e00977-20, 2020.

LEVI, Marcel *et al.* Metabolic modulation of inflammation-induced activation of coagulation. In: **Seminars in thrombosis and hemostasis**. © Thieme Medical Publishers, 2008. p. 026-032.

LI, Jing *et al.* Sex differences in clinical findings among patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) and severe condition. **MedRxiv**, 2020.

LIAN, Shuijin *et al.* Elevated expression of growth-regulated oncogene-alpha in tumor and stromal cells predicts unfavorable prognosis in pancreatic cancer. **Medicine**, v. 95, n. 30, 2016.

LIM, Yvonne Xinyi *et al.* Human coronaviruses: a review of virus–host interactions. **Diseases**, v. 4, n. 3, p. 26, 2016.

LIMA, Luiza DC *et al.* Brazilian green propolis modulates inflammation, angiogenesis and fibrogenesis in intraperitoneal implant in mice. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2014.

LIPPI, Giuseppe; SIMUNDIC, Ana-Maria; PLEBANI, Mario. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 58, n. 7, p. 1070-1076, 2020.

LIU, Jia *et al.* Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro. **Cell discovery**, v. 6, n. 1, p. 1-4, 2020.

LIU, Ting *et al.* NF- $\kappa$ B signaling in inflammation. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 2, n. 1, p. 1-9, 2017.

LO, Michael K. *et al.* GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit Filo-, Pneumo-, and Paramyxoviruses. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2017.

LONG, Quan-Xin *et al.* Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. **Nature medicine**, v. 26, n. 8, p. 1200-1204, 2020.

LOPES, Renato Matos *et al.* Flavonóides. **Biotecnologia Ciência& Desenvolvimento**, v. 3, n. 14, p. 18-22, 2010.

LOTTI, Cinzia *et al.* Chemical constituents of red Mexican propolis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2209-2213, 2010.

M CALDERON-MONTANO, J. *et al.* A review on the dietary flavonoid kaempferol. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 11, n. 4, p. 298-344, 2011.

MACHADO, Bruna Aparecida Souza *et al.* Chemical composition and biological activity of extracts obtained by supercritical extraction and ethanolic extraction of brown, green and red propolis derived from different geographic regions in Brazil. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0145954, 2016.

MANGALMURTI, Nilam; HUNTER, Christopher A. Cytokine storms: understanding COVID-19. **Immunity**, 2020.

MAO, Q. Q. *et al.* Bin.(2019). Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*zingiber officinale roscoe*).

MARCUCCI, Maria Cristina. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, n. 2, p. 83-99, 1995.

MARQUELE, Franciane D. *et al.* Propolis extract release evaluation from topical formulations by chemiluminescence and HPLC. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 41, n. 2, p. 461-468, 2006.

MCQUILLAN, Geraldine M. *et al.* **Prevalence of herpes simplex virus type 1 and type 2 in persons aged 14-49: United States, 2015-2016**. US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Health Statistics, 2018.

MEYER, Waltraud; ULRICH, W. 'Propolis bees' and their activities. **Bee world**, v. 37, n. 2, p. 25-36, 1956.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Painel Coronavírus, 2021. Página Inicial. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em: 14 de outubro de 2021.

MIRZOEVA, O. K.; CALDER, P. C. The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v. 55, n. 6, p. 441-449, 1996.

MISHIMA, Satoshi *et al.* Antihypertensive effects of Brazilian propolis: identification of caffeoylquinic acids as constituents involved in the hypotension in spontaneously hypertensive rats. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 28, n. 10, p. 1909-1914, 2005.

MIZUMOTO, Kenji *et al.* Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. **Eurosurveillance**, v. 25, n. 10, p. 2000180, 2020.

MOHRMAN, D.E.; HELLER, L.J.; ROJAS, A.M.G. **Fisiologia cardiovascular**. México DF: McGraw-Hill, 2007.

MONTEIRO, Juanita M.; HARVEY, Catherine; TRINCHIERI, Giorgio. Role of interleukin-12 in primary influenza virus infection. **Journal of virology**, v. 72, n. 6, p. 4825-4831, 1998.

MORRIS, Garrett M.; LIM-WILBY, Marguerita. Molecular docking. In: **Molecular modeling of proteins**. Humana Press, 2008. p. 365-382.

MOURA, Sandra Aparecida Lima de *et al.* Brazilian green propolis inhibits inflammatory angiogenesis in a murine sponge model. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

MOUSAVIZADEH, Leila; GHASEMI, Sorayya. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v. 54, n. 2, p. 159-163, 2021.

NASIRIASL, M.; HOSSEINZADEH, H. **Review of antiviral effects of Glycyrrhiza glabra L. and its active component**, glycyrrhizin. 2007.

NATARAJAN, K. *et al.* Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 17, p. 9090-9095, 1996.

NAYAKA, Hanumantappa B. *et al.* Antibacterial attributes of apigenin, isolated from *Portulaca oleracea* L. **International journal of bacteriology**, v. 2014, 2014.



NEGRI, Giuseppina *et al.* Hydrocarbons and monoesters of propolis waxes from Brazil. **Apidologie**, v. 29, n. 4, p. 305-314, 1998.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger-7**. Artmed Editora, 2018.

NETÍKOVÁ, Ladislava; BOGUSCH, Petr; HENEBERG, Petr. Czech ethanol-free propolis extract displays inhibitory activity against a broad spectrum of bacterial and fungal pathogens. **Journal of Food Science**, v. 78, n. 9, p. M1421-M1429, 2013.

NETO, MS Ragueira *et al.* Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. **Food and Chemical Toxicology**, v. 107, p. 572-580, 2017.

NEVES, Michelline Viviane Marques das *et al.* Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 159-166, 2016.

OHKURA, Naoki *et al.* Effects of a diet containing Brazilian propolis on lipopolysaccharide-induced increases in plasma plasminogen activator inhibitor-1 levels in mice. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 5, n. 4, p. 439, 2016.

OHKURA, Naoki *et al.* Propolis and its constituent chrysin inhibit plasminogen activator inhibitor 1 production induced by tumour necrosis factor- $\alpha$  and lipopolysaccharide. **Journal of Apicultural Research**, v. 51, n. 2, p. 179-184, 2012.

OLCZYK, Pawel *et al.* Propolis induces chondroitin/dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

OLCZYK, Pawel *et al.* Propolis modifies collagen types I and III accumulation in the matrix of burnt tissue. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

OLCZYK, Pawel *et al.* Propolis modulates fibronectin expression in the matrix of thermal injury. **BioMed research international**, v. 2014, 2014.

OLCZYK, Paweł *et al.* Propolis modulates vitronectin, laminin, and heparan sulfate/heparin expression during experimental burn healing. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 13, n. 11, p. 932-941, 2012.

OLIVEIRA, Pollyanna Francielli de *et al.* Baccharin prevents genotoxic effects induced by methyl methanesulfonate and hydrogen peroxide in V79 cells. **Journal of food science**, v. 77, n. 8, p. T138-T142, 2012.

OLOFSSON, Sigvard *et al.* Avian influenza and sialic acid receptors: more than meets the eye?. **The Lancet infectious diseases**, v. 5, n. 3, p. 184-188, 2005.

ORANGE, Jordan S.; WOLF, Stanley F.; BIRON, Christine A. Effects of IL-12 on the response and susceptibility to experimental viral infections. **The Journal of Immunology**, v. 152, n. 3, p. 1253-1264, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard, 2021. Página Inicial. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 14 de outubro de 2021.

ORSI, Ricardo O. *et al.* Effects of Brazilian and Bulgarian propolis on bactericidal activity of macrophages against *Salmonella typhimurium*. **International Immunopharmacology**, v. 5, n. 2, p. 359-368, 2005.

ORYAN, Ahmad; ALEMZADEH, Esmat; MOSHIRI, Ali. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 98, p. 469-483, 2018.

OU, Xiuyuan *et al.* Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2020.

PARACATU, Luana Chiquetto. **Ácido cafeico e seus ésteres: inibição do burst oxidativo de neutrófilos e efeito anti-*Helicobacter pylori***. 2012.

PARK, Hyun-Kyung; KANG, Sang Wook; PARK, Min-Su. Hesperidin ameliorates hepatic ischemia-reperfusion injury in Sprague-Dawley rats. In: **Transplantation proceedings**. Elsevier, 2019. p. 2828-2832.

PARK, Yong K. *et al.* Chemical constituents in *Baccharis dracunculifolia* as the main botanical origin of southeastern Brazilian propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1100-1103, 2004.

PARK, Yong K.; ALENCAR, Severino M.; AGUIAR, Claudio L. Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 9, p. 2502-2506, 2002.

PAROLIA, Abhishek *et al.* Effect of Propolis Nanoparticles against *Enterococcus faecalis* Biofilm in the Root Canal. **Molecules**, v. 26, n. 3, p. 715, 2021.

PASCOAL, Ananias *et al.* The role of honey and propolis in the treatment of infected wounds. In: **Microbiology for Surgical Infections**. Academic Press, 2014. p. 221-234.

PASSOS, Júlio César. Os experimentos de Joule e a primeira lei da termodinâmica. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 31, p. 3603.1-3603.8, 2009.

PATAK, D.; PATHAK, K.; SIGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents. **Recent Adv. Fitoterapia**, v. 62, p. 371-385, 1991.

PATEL, Anita *et al.* Initial public health response and interim clinical guidance for the 2019 novel coronavirus outbreak—United States, December 31, 2019–February 4, 2020. **Morbidity and mortality weekly report**, v. 69, n. 5, p. 140, 2020.

PATEL, Seema. Emerging adjuvant therapy for cancer: propolis and its constituents. **Journal of dietary supplements**, v. 13, n. 3, p. 245-268, 2016.

PAULINO, Niraldo *et al.* Anti-inflammatory effects of a bioavailable compound, Artepillin C, in Brazilian propolis. **European Journal of Pharmacology**, v. 587, n. 1-3, p. 296-301, 2008.

PAWELEC, Graham. Age and immunity: what is “immunosenescence”? **Experimental gerontology**, v. 105, p. 4-9, 2018.

PELONERO, Anthony L.; LEVENSON, James L.; PANDURANGI, Anand K. Neuroleptic malignant syndrome: a review. **Psychiatric services**, v. 49, n. 9, p. 1163-1172, 1998.

PICCINELLI, Anna Lisa *et al.* Cuban and Brazilian red propolis: botanical origin and comparative analysis by high-performance liquid chromatography–photodiode array detection/electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6484-6491, 2011.

PONTELLI, Marjorie C. *et al.* Infection of human lymphomononuclear cells by SARS-CoV-2. **BioRxiv**, 2020.

PONTOH, J.; LOW, N. H. Purification and characterization of  $\beta$ -glucosidase from honey bees (*Apis mellifera*). **Insect biochemistry and molecular biology**, v. 32, n. 6, p. 679-690, 2002.

POPOVA, Milena P. *et al.* Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographic origin. **Apidologie**, v. 38, n. 3, p. 306-311, 2007.

PRASAD, N. Rajendra *et al.* Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 349, n. 1, p. 11-19, 2011.

PROHIC, Asja *et al.* Malassezia species in healthy skin and in dermatological conditions. **International journal of dermatology**, v. 55, n. 5, p. 494-504, 2016.

PRZYBYŁEK, Izabela; KARPIŃSKI, Tomasz M. Antibacterial properties of propolis. **Molecules**, v. 24, n. 11, p. 2047, 2019.

RAHMANI, Arshad H. *et al.* Active ingredients of ginger as potential candidates in the prevention and treatment of diseases via modulation of biological activities. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 6, n. 2, p. 125, 2014.

RAMLALL, Vijendra *et al.* Immune complement and coagulation dysfunction in adverse outcomes of SARS-CoV-2 infection. **Nature medicine**, v. 26, n. 10, p. 1609-1615, 2020.

RASKIN, Salmo. Genetics of COVID-19. **Jornal de pediatria**, v. 97, p. 378-386, 2021.

REFAAT, Hesham *et al.* Optimization and evaluation of propolis liposomes as a promising therapeutic approach for COVID-19. **International journal of pharmaceutics**, v. 592, p. 120028, 2021.

REHMAN, Md *et al.* Natural compounds as inhibitors of SARS-CoV-2 main protease (3CLpro): A molecular docking and simulation approach to combat COVID-19. **Current Pharmaceutical Design**, 2021.

RIPARI, Nicolas *et al.* Propolis antiviral and immunomodulatory activity: a review and perspectives for COVID-19 treatment. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 73, n. 3, p. 281-299, 2021.

ROMANO, Maria *et al.* A structural view of SARS-CoV-2 RNA replication machinery: RNA synthesis, proofreading and final capping. **Cells**, v. 9, n. 5, p. 1267, 2020.

ROOHBAKHSH, Ali *et al.* Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. **Life sciences**, v. 124, p. 64-74, 2015.

RUCH, Travis R.; MACHAMER, Carolyn E. The coronavirus E protein: assembly and beyond. **Viruses**, v. 4, n. 3, p. 363-382, 2012.

SAHRAEI, Zahra *et al.* Aminoquinolines against coronavirus disease 2019 (COVID-19): chloroquine or hydroxychloroquine. **Int Journal of Antimicrobial Agents**, v. 55, n. 4, p. 105945, 2020.

SALOMAO, Kelly *et al.* Brazilian propolis: correlation between chemical composition and antimicrobial activity. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 5, n. 3, p. 317-324, 2008.

SAN CHANG, Jung *et al.* Fresh ginger (*Zingiber officinale*) has anti-viral activity against human respiratory syncytial virus in human respiratory tract cell lines. **Journal of ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 146-151, 2013.

SANTOS, Laerte M. *et al.* Propolis: types, composition, biological activities, and veterinary product patent prospecting. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 4, p. 1369-1382, 2020.

SARI, Anissa Nofita *et al.* Combination of withaferin-A and CAPE provides superior anticancer potency: Bioinformatics and experimental evidence to their molecular targets and mechanism of action. **Cancers**, v. 12, n. 5, p. 1160, 2020.

SARTORI, Gláubia *et al.* Protective effect of brown Brazilian propolis against acute vaginal lesions caused by herpes simplex virus type 2 in mice: involvement of antioxidant and anti-inflammatory mechanisms. **Cell Biochemistry and Function**, v. 30, n. 1, p. 1-10, 2012.

SATTLER, Arne *et al.* SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. **The Journal of clinical investigation**, v. 130, n. 12, 2020.

SAWICKA, D.; CAR, H.; BORAWSKA, M. H. Nikli nski, J. The anticancer activity of propolis. **Folia Histochem. Cytobiol**, v. 50, n. 1, p. 25, 2012.

SCHNITZLER, Paul *et al.* Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. S1, p. S20-S28, 2010.

SCHOEMAN, Dewald; FIELDING, Burtram C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. **Virology journal**, v. 16, n. 1, p. 1-22, 2019.

SCHREZENMEIER, Eva; DÖRNER, Thomas. Mechanisms of action of hydroxychloroquine and chloroquine: implications for rheumatology. **Nature Reviews Rheumatology**, v. 16, n. 3, p. 155-166, 2020.

SEITZ, Michael *et al.* Gold sodium thiomalate and chloroquine inhibit cytokine production in monocytic THP-1 cells through distinct transcriptional and posttranslational mechanisms. **Journal of clinical immunology**, v. 23, n. 6, p. 477-484, 2003.

SEKINE, Takuya *et al.* Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. **Cell**, v. 183, n. 1, p. 158-168. e14, 2020.

SERKEDJIEVA, J.; MANOLOVA, N.; BANKOVA, V. Anti-influenza virus effect of some propolis constituents and their analogues (esters of substituted cinnamic acids). **Journal of natural products**, v. 55, n. 3, p. 294-297, 1992.

SHAHINOZZAMAN, Md *et al.* Anti-inflammatory, anti-diabetic, and anti-Alzheimer's effects of prenylated flavonoids from Okinawa propolis: an investigation by experimental and computational studies. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2479, 2018.

SHAIK, Khaja Moinuddin *et al.* Regulatory updates and analytical methodologies for nitrosamine impurities detection in sartans, ranitidine, nizatidine, and metformin along with sample preparation techniques. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, p. 1-19, 2020.

SHALDAM, Moataz A. *et al.* In silico screening of potent bioactive compounds from honeybee products against COVID-19 target enzymes. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-8, 2021.

SHANG, Ao *et al.* Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). **Foods**, v. 8, n. 7, p. 246, 2019.

SHARIATPANAHI, Zahra Vahdat *et al.* Ginger extract reduces delayed gastric emptying and nosocomial pneumonia in adult respiratory distress syndrome patients hospitalized in an intensive care unit. **Journal of critical care**, v. 25, n. 4, p. 647-650, 2010.

SHEAHAN, Timothy P. *et al.* Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. **Science translational medicine**, v. 9, n. 396, 2017.

SHIMIZU, Tomomi *et al.* Anti-influenza virus activity of propolis in vitro and its efficacy against influenza infection in mice. **Antiviral Chemistry and Chemotherapy**, v. 19, n. 1, p. 7-13, 2008.

SIGAL, Leonard H.; RON, Yacov (Ed.). **Immunology and inflammation: basic mechanisms and clinical consequences**. McGraw-Hill, Health Professions Divisions, 1993.

SILVA, H. *et al.* The cardiovascular therapeutic potential of propolis—A comprehensive review. **Biology**, v. 10, n. 1, p. 27, 2021.

SILVANI, Simonetta *et al.* Contact dermatitis in psoriasis due to propolis. **Contact dermatitis**, v. 37, n. 1, p. 48-49, 1997.

SILVEIRA, Marcelo Augusto Duarte *et al.* Effects of Brazilian green propolis on proteinuria and renal function in patients with chronic kidney disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **BMC nephrology**, v. 20, n. 1, p. 1-12, 2019.

SILVEIRA, Marcelo Augusto Duarte *et al.* Efficacy of Brazilian green propolis (EPP-AF®) as an adjunct treatment for hospitalized COVID-19 patients: A randomized, controlled clinical trial. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 138, p. 111526, 2021.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira *et al.* **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Artmed Editora, 2016.

SIMONE-FINSTROM, Michael; SPIVAK, Marla. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. **Apidologie**, v. 41, n. 3, p. 295-311, 2010.

SINGH, Awadhesh Kumar *et al.* Remdesivir in COVID-19: a critical review of pharmacology, pre-clinical and clinical studies. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 4, p. 641-648, 2020.

SONG, Jin-Wen *et al.* Omics-driven systems interrogation of metabolic dysregulation in COVID-19 pathogenesis. **Cell metabolism**, v. 32, n. 2, p. 188-202. e5, 2020.

SOROMOU, L. W. *et al.* Subinhibitory concentrations of pinocembrin exert anti-*S taphylococcus aureus* activity by reducing  $\alpha$ -toxin expression. **Journal of applied microbiology**, v. 115, n. 1, p. 41-49, 2013.

SULEMAN, T. *et al.* Antimicrobial activity and chemometric modelling of South African propolis. **Journal of applied microbiology**, v. 119, n. 4, p. 981-990, 2015.

SULTAN, M. Tauseef *et al.* Immunity: plants as effective mediators. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 54, n. 10, p. 1298-1308, 2014.

SUN, Liping *et al.* Potential protective effects of bioactive constituents from Chinese propolis against acute oxidative stress induced by hydrogen peroxide in cardiac H9c2 cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, 2017.

SURH, Young-Joon *et al.* Molecular mechanisms underlying chemopreventive activities of anti-inflammatory phytochemicals: down-regulation of COX-2 and iNOS



through suppression of NF- $\kappa$ B activation. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 480, p. 243-268, 2001.

TABATA, Sakiko *et al.* Clinical characteristics of COVID-19 in 104 people with SARS-CoV-2 infection on the Diamond Princess cruise ship: a retrospective analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 9, p. 1043-1050, 2020.

TAHERGORABI, Z.; KHAZEI, M. A review on angiogenesis and its assays. **Iranian journal of basic medical sciences**, v.15, n.6, p.1110, 2012.

TAN, Yun *et al.* Durability of neutralizing antibodies and T-cell response post SARS-CoV-2 infection. **Frontiers of medicine**, v. 14, n. 6, p. 746-751, 2020.

TANAKA, Mayuri *et al.* Suppression of interleukin 17 production by Brazilian propolis in mice with collagen-induced arthritis. **Inflammopharmacology**, v. 20, n. 1, p. 19-26, 2012.

TELES, Flávio *et al.* Brazilian red propolis attenuates hypertension and renal damage in 5/6 renal ablation model. **PLoS One**, v. 10, n. 1, p. e0116535, 2015.

TEIXEIRA, Érica Weinstein *et al.* Plant origin of green propolis: bee behavior, plant anatomy and chemistry. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 2, n. 1, p. 85-92, 2005.

THAKUR, Vikram; KANTA RATHO, Radha.OMICRON (B. 1.1. 529): A new SARS-CoV-2 Variant of Concern mounting worldwide fear. **Journal of medical virology**, 2021.

THEELEN, Bart *et al.* Malassezia ecology, pathophysiology, and treatment. **Medical mycology**, v. 56, n. suppl\_1, p. S10-S25, 2018.

THOTA, Sai Manohar; BALAN, Venkatesh; SIVARAMAKRISHNAN, Venketesh. Natural products as home-based prophylactic and symptom management agents in the setting of COVID-19. **Phytotherapy Research**, v. 34, n. 12, p. 3148-3167, 2020.

TIAN, Dandan *et al.* The Global Epidemic of the SARS-CoV-2 Delta Variant, Key Spike Mutations and Immune Escape. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 751778-751778, 2021.

TIWARI, A.; MUKHERJEE, B.; DIXIT, M. MicroRNA key to angiogenesis regulation: miRNA biology and therapy. **Current cancer drug targets**, v.18, n.13, p. 266-277, 2018.

TRUSHEVA, Boryana *et al.* Bioactive constituents of Brazilian red propolis. **Evidence-based complementary and alternative medicine**, v. 3, n. 2, p. 249-254, 2006.

TRUSHEVA, Boryana *et al.* New polyisoprenylated benzophenones from Venezuelan propolis. **Fitoterapia**, v. 75, n. 7-8, p. 683-689, 2004.

VAIRA, Luigi Angelo *et al.* Potential pathogenesis of ageusia and anosmia in COVID-19 patients. In: **International forum of allergy & rhinology**. 2020.

VALENTE, Maria J. *et al.* Biological activities of Portuguese propolis: protection against free radical-induced erythrocyte damage and inhibition of human renal cancer cell growth in vitro. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, n. 1, p. 86-92, 2011.

VALENZUELA-BARRA, Gabriela *et al.* Anti-inflammatory activity and phenolic profile of propolis from two locations in Región Metropolitana de Santiago, Chile. **Journal of ethnopharmacology**, v. 168, p. 37-44, 2015.

VEIGA, R. S. *et al.* Artepillin C and phenolic compounds responsible for antimicrobial and antioxidant activity of green propolis and *Baccharis dracunculifolia* DC. **Journal of applied microbiology**, v. 122, n. 4, p. 911-920, 2017.

VENTURA, Deisy de Freitas Lima; AITH, Fernando Mussa Abujamra; RACHED, Danielle Hanna. A emergência do novo coronavírus e a “lei de quarentena” no Brasil. **Revista Direito e Práxis**, v. 12, p. 102-138, 2021.

VIALARD, Claire; LARRIVÉE, Bruno. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets. **Angiogenesis**, v. 20, n. 4, p. 409-426, 2017.

VINCENT, M. J. *et al.* **Virol. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread J**, v. 2, p. 69, 2005.

WALLER, Stefanie B. *et al.* Chemical and cytotoxic analyses of brown Brazilian propolis (*Apis mellifera*) and its in vitro activity against itraconazole-resistant *Sporothrix brasiliensis*. **Microbial pathogenesis**, v. 105, p. 117-121, 2017.

WAN, Liling; PANTEL, Klaus; KANG, Yibin. Tumor metastasis: moving new biological insights into the clinic. **Nature medicine**, v. 19, n. 11, p. 1450-1464, 2013.

WANG, Hongliang *et al.* SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin-and caveolae-independent endocytic pathway. **Cell research**, v. 18, n. 2, p. 290-301, 2008.

WANG, Manli *et al.* Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. **Cell research**, v. 30, n. 3, p. 269-271, 2020.

WANG, Xue *et al.* Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2016.

WANG, Yeming *et al.* Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. **The lancet**, v. 395, n. 10236, p. 1569-1578, 2020.

WEI, Xiling *et al.* Baicalin attenuates angiotensin II-induced endothelial dysfunction. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 465, n. 1, p. 101-107, 2015.

WENZEL, Ulrich O. *et al.* A pathogenic role of complement in arterial hypertension and hypertensive end organ damage. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 312, n. 3, p. H349-H354, 2017.

WEISS, Anne; JELLINGSØ, Mads; SOMMER, Morten Otto Alexander. Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. **EBioMedicine**, v. 58, p. 102916, 2020.

WILLIAMSON, Brandi N. *et al.* Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. **Nature**, v. 585, n. 7824, p. 273-276, 2020.

WOJTYCZKA, Robert D. *et al.* Susceptibility of Staphylococcus aureus clinical isolates to propolis extract alone or in combination with antimicrobial drugs. **Molecules**, v. 18, n. 8, p. 9623-9640, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays.** 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION *et al.* **Coronavirus disease ( COVID-19): weekly epidemiological update.** 2021.

WU, Canrong *et al.* Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 10, n. 5, p. 766-788, 2020.

WU, Fan *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 265-269, 2020.

WU, Yi-Chi; CHEN, Ching-Sung; CHAN, Yu-Jiun. Overview of the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV): the pathogen of severe specific contagious pneumonia (SSCP). **J Chin Med Assoc**, v. 83, n. 3, p. 217-220, 2020.

WU, Zunyou; MCGOOGAN, Jennifer M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **Jama**, v. 323, n. 13, p. 1239-1242, 2020.

XU, Xiaohong Ruby *et al.* Platelets are versatile cells: New discoveries in hemostasis, thrombosis, immune responses, tumor metastasis and beyond. **Critical reviews in clinical laboratory sciences**, v. 53, n. 6, p. 409-430, 2016.

XUAN, Hongzhuan *et al.* Antitumor activity of Chinese propolis in human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

XUAN, Hongzhuan *et al.* Propolis reduces phosphatidylcholine-specific phospholipase C activity and increases annexin a7 level in oxidized-LDL-stimulated human umbilical vein endothelial cells. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2014, 2014.

YANG, Dong; LEIBOWITZ, Julian L. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. **Virus research**, v. 206, p. 120-133, 2015.

YANG, Haitao; BARTLAM, Mark; RAO, Zihe. Drug design targeting the main protease, the Achilles' heel of coronaviruses. **Current pharmaceutical design**, v. 12, n. 35, p. 4573-4590, 2006.

YILMAZ, Sevdan; SOVA, Matej; ERGÜN, Sebahattin. Antimicrobial activity of trans-cinnamic acid and commonly used antibiotics against important fish pathogens and nonpathogenic isolates. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 6, p. 1714-1727, 2018.

ZEESHAN, Rabia; MUTAHIR, Zeeshan. Cancer metastasis-tricks of the trade. **Bosnian journal of basic medical sciences**, v. 17, n. 3, p. 172, 2017.

ZHANG, Bicheng *et al.* Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19. **PloS one**, v. 15, n. 7, p. e0235458, 2020.

ZHANG, Hao *et al.* The digestive system is a potential route of 2019-nCov infection: a bioinformatics analysis based on single-cell transcriptomes. **BioRxiv**, 2020.

ZHANG, Li; ZHOU, Qi. Bevacizumab with dose-dense paclitaxel/carboplatin as first-line chemotherapy for advanced ovarian cancer. **European journal of pharmacology**, v. 837, p. 64-71, 2018.

ZHAO, Wen-Xing *et al.* Caffeic acid phenethyl ester attenuates pro-inflammatory and fibrogenic phenotypes of LPS-stimulated hepatic stellate cells through the inhibition of NF- $\kappa$ B signaling. **International journal of molecular medicine**, v. 33, n. 3, p. 687-694, 2014.

ZHOU, Peng *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020.

ZHU, Lihua *et al.* Association of blood glucose control and outcomes in patients with COVID-19 and pre-existing type 2 diabetes. **Cell metabolism**, v. 31, n. 6, p. 1068-1077. e3, 2020.

ZOU, Xin *et al.* Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. **Frontiers of medicine**, p. 1-8, 2020.