

**Avaliação do potencial virucida de extratos de folhas de goiabeira  
(*Psidium guajava*) frente ao vírus MHV-3 (Coronavírus murino)<sup>1</sup>**

***Evaluation of the virucidal potential of guava leaf extracts (*Psidium guajava*)  
against the MHV-3 virus (Murine Coronavirus)***

Ana Beatriz Rubert<sup>2</sup>

Anelise Maria Stürmer Kerber<sup>3</sup>

Paola del Vecchio<sup>4</sup>

Ana Luiza Ziulkoski<sup>5</sup>

## Resumo

Devido à pandemia do SARS-CoV-2, foi evidenciada a urgência de buscar meios de combate ao vírus. O MHV-3 é um modelo viral alternativo aos estudos empregando SARS-CoV-2, devido à sua biossegurança. Tem-se como objetivo investigar a composição fitoquímica de extratos de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) e seu potencial *in vitro* frente ao vírus MHV-3. Foram produzidos extratos com água, acetato de etila e álcool etílico. A triagem fitoquímica identificou cumarinas, taninos, flavonoides e saponinas. Ensaio de citotoxicidade indicaram as concentrações não tóxicas dos extratos, que foram utilizadas no ensaio virucida. Os resultados indicaram que o extrato de etanol, na concentração de 1%, e o aquoso, nas concentrações de 1; 2,5; 5; e 10%, apontaram efeito virucida pleno nas duas concentrações virais testadas. Portanto, foi comprovado o potencial virucida dos extratos de goiabeira de etanol e, em especial, o extrato aquoso.

**Palavras-chave:** Goiabeira. MHV-3. Virucida.

## Abstract

*Due to the SARS-CoV-2 pandemic, the urgency of finding ways to combat the virus was highlighted. MHV-3 is an alternative viral model to studies using SARS-CoV-2, due to its biosafety. The objective is to investigate the phytochemical composition of guava tree leaves extracts (*Psidium guajava*) and their *in vitro* potential against the MHV-3 virus. Extracts were produced with water, ethyl acetate and ethanol. Phytochemical screening identified coumarins, tannins, flavonoids and saponins. Cytotoxicity assays indicated non-toxic concentrations of the extracts, which were used in the virucidal assay. The results indicated that the ethanol extract, at a concentration of 1%, and the aqueous extract, at concentrations of 1; 2.5; 5; and 10%, showed full virucidal effect in the two viral concentrations tested. Therefore, the virucidal potential of ethyl alcohol guava-tree extracts and, in particular, the aqueous extract, was proven.*

**Keywords:** Guava-tree. MHV-3. Virucidal.

<sup>1</sup>Artigo apresentado como Trabalho de Conclusão no Curso Técnico de Química da Fundação Liberato Salzano Vieira da Cunha (FETLSVC), Novo Hamburgo, RS, Brasil.

<sup>2</sup>Aluna do Curso Técnico de Química da Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha (FETLSVC), Novo Hamburgo, RS, Brasil. E-mail: anabrubert@gmail.com

<sup>3</sup>Graduanda em Farmácia pela Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil. E-mail: anysturmer@gmail.com

<sup>4</sup>Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e professora na Fundação Escola Técnica Liberato Salzano Vieira da Cunha (FETLSVC), Novo Hamburgo, RS, Brasil. E-mail: paola.vecchio@liberato.com.br

<sup>5</sup>Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), coordenadora do Laboratório de Citotoxicidade e professora titular na Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil. E-mail: analuiza@feevale.br

## 1 Introdução

O enfoque do trabalho fixa-se em investigar a composição fitoquímica de extratos de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) e seu potencial *in vitro* no combate ao vírus MHV-3. A goiabeira tem um histórico de uso, na medicina tradicional, para o tratamento de várias doenças. É utilizada como anti-inflamatório, para o tratamento de diabetes, hipertensão, cáries, feridas, doenças bacterianas e febre (Gutiérrez; Mitchell; Solis, 2008). As folhas de *Psidium guajava* têm, em sua composição, diversos compostos fenólicos, incluindo flavonoides, taninos e terpenoides (Marques *et al.*, 2020).

A pandemia de SARS-CoV-2 evidenciou a urgência de estudar e buscar novos meios de combate ao vírus (Caetano *et al.*, 2021). O vírus MHV-3 é um vírus causador da hepatite murina e pertence ao grupo II dos coronavírus (Grippo, 2006). Estudos com vírus MHV-3 são uma alternativa a estudos empregando o SARS-CoV-2 devido ao seu menor nível de biossegurança, cujos experimentos podem ser realizados em laboratórios de nível 2. Visto que os vírus MHV-3 e SARS-CoV-2 fazem parte do mesmo gênero, espera-se que os resultados de estudos com MHV-3 possam prever os resultados obtidos para SARS-CoV-2 (Oliveira; Kroon, 2021).

Somado a isto, percebe-se uma nova tendência da população em consumir produtos naturais, sustentáveis, que causem menos prejuízos ao meio ambiente (Venâncio; Pandolfi, 2020). Portanto, se comprovada sua eficiência, esses extratos poderiam ser empregados em produtos naturais sanitizantes de baixo custo e menor impacto ambiental.

## 2 Referencial teórico

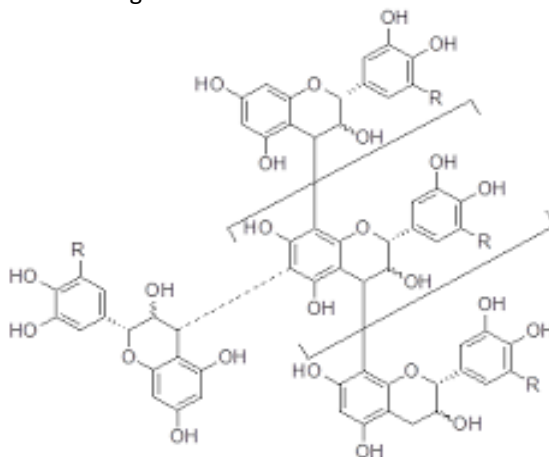
### 2.1 *Psidium guajava*

A *Psidium guajava* L, popularmente conhecida como goiabeira, faz parte da família *Myrtaceae*, uma das mais importantes famílias de angiospermas do Brasil. Originou-se no norte da América do Sul e se disseminou para todas as regiões tropicais (Risterucci *et al.*, 2005). A árvore de goiabeira é classificada como de médio porte e pode atingir no máximo 10 metros de altura. As folhas da goiabeira são simples, ou seja, não apresentam o limbo dividido, têm cerca de 8-12 cm de comprimento e 3-6 cm de largura e apresentam textura coriácea (Gutiérrez; Mitchell; Solis, 2008). Na composição de suas folhas, há compostos fenólicos, triterpenoides, taninos, óleos essenciais, saponinas, cumarinas, isoflavonoides e flavonoides, como a quercetina (Kumar, M. *et al.*, 2021). Estudos comprovam que os compostos fenólicos podem apresentar efeitos de ação anti-inflamatória, antimicrobiana, hipolipidêmica, anticarcinogênica e atividade antioxidante (Haida *et al.*, 2015).

Saponinas apresentam, em sua estrutura, uma parte lipofílica, denominada aglicona ou sapogenina, e uma parte hidrofílica, constituída por um ou mais açúcares e outras moléculas, principalmente proteínas e polissacarídeos (Schenkel; Gosmann; Athayde, 2001).

Taninos (figura 1) são divididos em dois grupos: hidrolisáveis e condensados. Taninos hidrolisáveis, como o tanino gálico e o tanino elágico, apresentam um grupo poliol central e hidroxilas esterificadas pelo ácido gálico, que formam a parte fenólica. Os taninos condensados têm variação em sua estrutura, mas no geral são constituídos de anéis aromáticos e hidroxilas (Monteiro *et al.*, 2005).

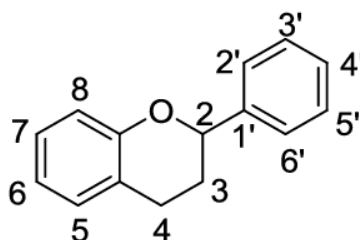
Figura 1 – Taninos condensados



Fonte: Castejon (2011).

A classe dos flavonoides (figura 2) apresenta como estrutura básica um núcleo fundamental, com 15 átomos de carbono arranjados em três anéis fenólicos (Dornas *et al.*, 2007).

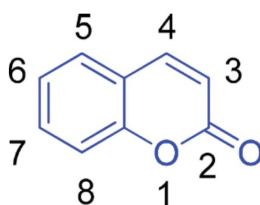
Figura 2 – Estrutura dos flavonoides



Fonte: Martins e Costa. (2011).

Constituídas de heterociclos orgânicos caracterizados como 1,2 benzopirona, as cumarinas (figura 3) consistem em um anel pirano fundido a benzeno com a carbonila da pirona na posição 2 (Franco *et al.*, 2021).

Figura 3 – Estrutura química das cumarinas



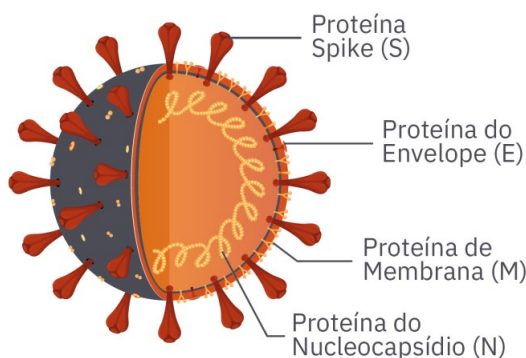
Fonte: Franco (2021).

## 2.2 SARS-CoV-2 e MHV-3

No final de 2019, em Wuhan, na China, foi descoberto o SARS-CoV-2, que é o coronavírus causador da síndrome respiratória aguda grave 2. Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) caracterizou a doença infecciosa covid-19 como pandemia devido aos altos níveis de contaminação pelo SARS-CoV-2, disseminação, gravidade da doença e poucas ações de combate (Sequinel; Lenz; Silva, 2020).

Os coronavírus, de acordo com o Comitê Internacional da Taxonomia de Vírus, pertencem à ordem Nidovirales, família *Coronaviridae*, subfamília *Coronavirinae*. Essa subfamília é subdividida em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* (Sun *et al.*, 2020). Os coronavírus são vírus com envelopes glicolipídicos, pleomórficos ou esféricos e apresentam cerca de 80-220 nm de diâmetro. O genoma do vírus é constituído por uma molécula de RNA de fita simples linear de sentido positivo (Li *et al.*, 2020), conforme ilustra a figura 4.

Figura 4 – Estrutura do coronavírus



Fonte: Taniguti (2023).

O contágio ocorre da seguinte maneira: a proteína *Spike* do SARS-CoV-2 reconhece a enzima conversora de angiotensina humana II como um receptor de entrada e infecta as células epiteliais pulmonares. O domínio de ligação ao receptor da proteína *Spike* se liga ao receptor ACE2, e, em seguida, a protease TMPRSS2 do hospedeiro quebra a proteína *Spike* para expor os peptídeos de fusão capazes de fundir as membranas viral e celular. O receptor de entrada do SARS-CoV-2 é o ACE2. Ela é expressa em pulmões, intestino delgado, rins, coração e tecido adiposo (Velavan; Meyer, 2020).

A transmissão direta do SARS-CoV-2 por meio de aerossóis é a via de infecção mais importante, embora existam outras formas de transmissão (Silva, 2023). O vírus contido em pequenas gotículas pode depositar-se em superfícies inertes e manter sua capacidade infecciosa. Estudos indicam que os coronavírus podem sobreviver de duas horas a nove dias em superfícies como metal, plástico e vidro. A presença de SARS-CoV-2 foi detectada em áreas hospitalares, em objetos de unidades de terapia intensiva e em banheiros (Barrera-Nunez *et al.*, 2021).

O vírus da hepatite murina (MHV) pertence ao mesmo gênero que o SARS-CoV-2 e é um betacoronavírus de RNA de fita simples de sentido positivo e envelopado (Mahida; Vaughan; Boswell, 2013). Enquanto o SARS-CoV-2 pode ser manipulado somente em laboratórios de biossegurança 3, o MHV-3 pode ser manipulado em um laboratório de nível de biossegurança 2, já que não é patogênico para seres humanos. O MHV é o melhor substituto para a utilização em experimentos visando à substituição do SARS-CoV-2, pois os dois apresentam as mesmas características físico-químicas (Zhou *et al.*, 2020).

### 3 Materiais e métodos

#### 3.1 Colheita e secagem das folhas

As folhas utilizadas no presente trabalho foram colhidas no município de Ivoti, Rio Grande do Sul, Brasil, na seguinte localização: -29.62227553569907°N, -51.155567104737926°E. Após a colheita, as folhas foram higienizadas com água à temperatura ambiente e detergente e

posteriormente foram colocadas em estufa a 60°C por 24 horas para secar. Depois de secas, as folhas foram moídas em liquidificador. As folhas secas e trituradas foram armazenadas em frascos fechados e protegidos da luz até o momento da produção dos extratos.

### 3.2 Produção dos extratos

A partir das folhas secas da planta, foram produzidos três extratos utilizando como solventes água purificada, acetato de etila (Grupo química<sup>®</sup>) e álcool etílico absoluto (Êxodo científica<sup>®</sup>). Todos os extratos foram obtidos através do método de maceração.

O extrato aquoso foi produzido na proporção de 7,5% (p/v), utilizando água a 90°C, com o tempo de maceração de 15 minutos. Após, o extrato foi filtrado por filtração simples, utilizando papel filtro de 80g/m<sup>2</sup> e armazenado em tubo de polipropileno na geladeira.

Os extratos de álcool etílico e acetato de etila foram preparados na concentração de 25% (p/v). Os solventes ficaram em contato com as folhas por cinco dias e, após o tempo de maceração, os extratos foram filtrados e posteriormente colocados em rotaevaporador, onde os solventes foram evaporados a 80°C sob 500 mmHg de pressão negativa.

Para secagem completa do material extraído no rotaevaporador, os extratos de álcool etílico e de acetato de etila foram mantidos por 24 h em estufa a 50°C. Depois de secos, os extratos foram ressuspensos em 6 mL de água e 1 mL de dimetilsulfóxido (DMSO, Synth<sup>®</sup>) utilizando um banho de ultrassom aquecido a 45°C. Em seguida, foram armazenados em tubos plásticos na geladeira.

### 3.3 Triagem fitoquímica

A triagem fitoquímica qualitativa de todos os extratos foi realizada conforme adaptação do protocolo descrito por Radi e Terrones (2007), com o objetivo de verificar a presença de metabólitos secundários. Foram analisadas as classes de saponinas, taninos, flavonoides e cumarinas.

Flavonoides: a 1mL do extrato, adicionaram-se 5 mL de água destilada e 4 gotas de cloreto férrico 2% em água.

Taninos: a 2 mL do extrato, adicionaram-se 10 mL de água destilada e duas gotas de solução de cloreto férrico 1% em metanol.

Saponinas: a 2 mL do extrato, adicionaram-se 5 mL de água destilada fervente. Após o resfriamento, agitou-se, vigorosamente, deixando em repouso por 20 minutos.

Cumarinas: tubos de ensaios contendo 2 mL de extrato foram cobertos por papel de filtro embebidos em NaOH 10% e, em seguida, fervidos em banho maria a 100°C por 10 minutos. O papel foi analisado sob luz UV.

### 3.4 Cultivo das células

Foram utilizadas células L929, provindas do tecido adiposo de camundongos (*Mus musculus*), mantidas em atmosfera umedecida e controlada a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub>. A linhagem celular foi escolhida por ser permissiva à replicação *in vitro* do vírus MHV-3 (Oliveira; Kroon, 2021). A linhagem celular foi originalmente obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ) e faz parte do acervo do Laboratório de Citotoxicidade da Universidade Feevale. Para o cultivo, as células foram incubadas em frasco estéril de poliestireno de 75 cm<sup>2</sup> contendo o meio de

cultura Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Gibco<sup>®</sup>) suplementado com 7,5% de Soro Fetal Bovino (SFB, Gibco<sup>®</sup>).

Para obtenção de subculturas e realização dos experimentos, foi realizada a tripsinização, processo que consiste na remoção do meio de cultivo do frasco e adição da enzima tripsina, a qual hidrolisa cadeias polipeptídicas e promove a desagregação celular (Guimarães *et al.*, 2010).

Após a adição da tripsina, foi realizado o processo de desagregação mecânica do tapete celular, e as células foram adicionadas em tubos contendo o dobro de meio de cultivo em relação à quantidade de enzima adicionada. O tubo foi centrifugado a 1000 RPM por 10 minutos. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado de células foi ressuscitado em DMEM. Então, a fração da suspensão necessária para manutenção do cultivo foi transferida de volta para o frasco de cultivo, contendo 20 mL de DMEM.

### 3.5 Plaqueamento

Para realizar os testes de citotoxicidade e virucida, foi necessário realizar o plaqueamento das células. Elas foram tripsinizadas e contadas em câmara de Neubauer. Foram feitas placas de 96 poços, e a densidade celular para ambos os testes foi de 100.000 células por poço. Para ocorrer a adesão das células nas placas, elas foram incubadas em estufa a 37°C em atmosfera padrão por 24h antes da realização dos ensaios.

### 3.6 Diluição dos extratos para teste de citotoxicidade

Para os testes de citotoxicidade, os três extratos foram previamente filtrados com filtros de seringa de 0,22 µm e, em seguida, diluídos de forma sequencial em DMEM. As concentrações utilizadas foram de 25; 10; 7,5; 5; 2,5; 1; e 0,1%.

### 3.7 Teste de citotoxicidade

A exposição dos extratos às células iniciou 24h após a realização do plaqueamento. Para exposição das células aos extratos, o meio de cultivo foi retirado dos poços por inversão, e sobre as culturas de células L929 foram adicionados 200 µL das concentrações de 25; 10; 7,5; 5; 2,5; 1; e 0,1% de cada um dos três extratos, de forma individual, e todas as concentrações foram avaliadas em quadruplicatas.

Para os controles, foram adicionados 200 µL do meio DMEM tanto positivo, quanto negativo, ao invés da adição da diluição dos extratos puros. Para o controle positivo, foram adicionados 75 µL de peróxido de hidrogênio 10 V na última hora de incubação. As placas foram incubadas a 37°C em atmosfera padrão. O período de incubação foi de 48 h, tendo em vista que esse é o tempo necessário para visualizar o efeito citopático sobre as monocamadas celulares.

### 3.8 Ensaio MTT

O ensaio de redução do MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2-il tetrazólio) é utilizado para avaliar a viabilidade celular. É baseado no fato de que as enzimas desidrogenase mitocondriais, que estão presentes apenas em células metabolicamente viáveis, reduzem o sal MTT em formazan, o qual é insolúvel em água e se acumula nas células. Posteriormente as células viáveis são quantificadas por espectrofotometria (Bisetto, 2020).

O ensaio foi executado de acordo com a metodologia descrita por Mosmann (1983). Para realização do teste, após 48 h de exposição às diferentes concentrações dos extratos, o meio foi removido, e os poços foram lavados cinco vezes com solução tampão fosfato. Após, adicionou-se a cada poço 200 µL de solução de DMEM contendo 4% de MTT 5 mg/mL (Sigma®), ao abrigo da luz, pois o MTT é fotossensível. Após 2 h de incubação a 37°C em atmosfera padrão, o meio foi substituído por 200 µL de DMSO (Synth®). As amostras foram homogeneizadas utilizando micropipeta multicanal, e o conteúdo da placa foi transferido para uma placa de leitura. Por fim, a leitura foi realizada em espectrofotômetro em 570 nm. Os valores de absorbância foram transformados em porcentagens de viabilidade celular (X%) em relação ao controle negativo (CN), que equivale a 100% de viabilidade, de acordo com a seguinte equação:

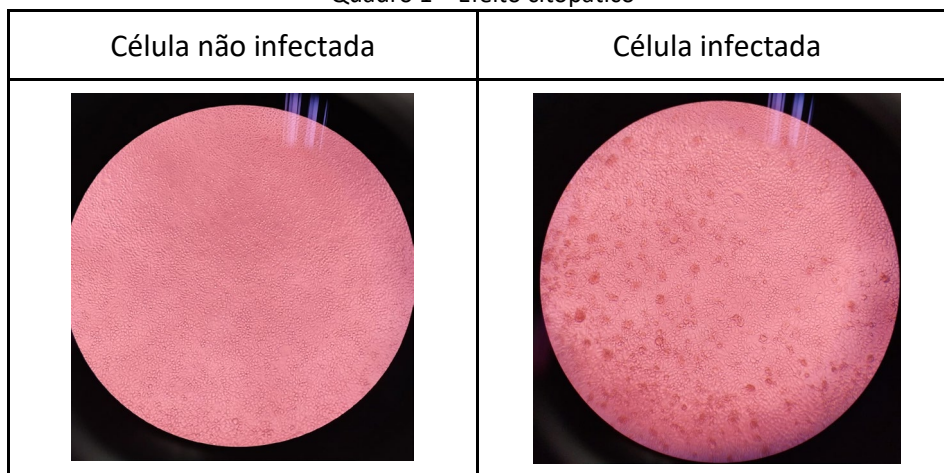
$$X\% = \frac{\text{Absorbância do extrato} \times 100}{\text{Absorbância do CN}}$$

### 3.9 Teste virucida

O teste iniciou-se 24 h após a realização do plaqueamento em placas de 96 poços e foi feito em duplicata. As concentrações selecionadas dos extratos foram baseadas nos resultados dos testes de citotoxicidade. Com os extratos diluídos no meio de cultivo, adicionou-se inóculo do vírus MHV-3 em duas proporções, 1:10 e 1:20. A partir dessas concentrações, foram feitas diluições seriadas de 10<sup>-2</sup>; 10<sup>-3</sup>; 10<sup>-4</sup>; 10<sup>-5</sup>; 10<sup>-6</sup> (método TCID<sub>50</sub>). Antes de serem colocados nas placas, os extratos com vírus foram incubados por 30 minutos em banho a 37°C. Além disso, culturas em que foi adicionado somente DMEM constituíram o controle negativo (para confirmar ausência de citotoxicidade), enquanto os controles de infecção viral consistiram em poços com células em que foi adicionado o inóculo viral em suas duas concentrações. Em seguida, foram adicionados 50 µL das diluições do vírus nas placas e elas foram incubadas a 37°C por 1 hora. Depois desse tempo, o inóculo viral foi retirado, foram adicionados aos poços 200 µL de DMEM, e as placas foram incubadas em estufa a 37°C em atmosfera padrão por 48 h.

Depois do tempo de incubação, as placas foram visualizadas em microscópio invertido, para verificar o efeito citopático, ou seja, as alterações degenerativas causadas pelos vírus em células infectadas, já que há desagregação do tapete celular. Quando as células não são afetadas pelo vírus, sua estrutura é preservada, conforme ilustra o quadro 1.

Quadro 1 – Efeito citopático



Fonte: As autoras (2023).

Depois da análise no microscópio, as placas foram coradas com o corante cristal violeta da seguinte forma: foram adicionados nas placas 20 µL de formaldeído, para ocorrer a adesão do tapete celular no fundo dos poços, sendo mantidas em agitação orbital a 5 RPM por 30 minutos. Em seguida, o conteúdo das placas foi descartado e foram adicionados 50 µL de cristal violeta 0,4%, com agitação orbital por mais 30 minutos. Para calcular a redução do título viral (Y%), foi utilizada a seguinte equação:

$$Y\% = 100 - \frac{n^\circ \text{ de poços infectados} \times 100}{n^\circ \text{ total de poços}}$$

## 4 Resultados e discussões

### 4.1 Triagem fitoquímica

O extrato aquoso apresentou maior evidência de saponinas, taninos e flavonoides; o etanólico, de flavonoides, taninos e cumarinas; e o de acetato de etila, de taninos, conforme tabela 1. Os extratos podem ter composições diferentes devido às suas diferenças de polaridade, sendo o aquoso o mais polar e o de acetato de etila, o menos polar.

Tabela 1 – Triagem fitoquímica

	Flavonoides	Taninos	Cumarinas	Saponinas
Aquoso	++	++	-	++
Álcool etílico	++	++	++	+
Acetato de etila	+	++	+	-

Legenda: (++) maior evidência; (+) evidência; (-) não evidência

Fonte: As autoras (2023).

### 4.2 Ensaio de citotoxicidade

Na tabela 2, estão apresentados os resultados do ensaio MTT, após exposição de 48h dos três extratos em diferentes concentrações em linhagem celular L929.

Tabela 2 – Viabilidade celular (%) dos extratos

Concentrações (%)	Acetato de etila	Álcool etílico	Aquoso
CN	100,00 ± 6,03	100,00 ± 6,03	100,00 ± 6,03
0,1	107,35 ± 1,98	121,11 ± 2,54	89,48 ± 1,84
1	98,04 ± 6,63	96,33 ± 3,75	113,78 ± 2,63
2,5	79,96 ± 0,95	66,84 ± 2,52	95,71 ± 5,64
5	62,71 ± 2,21	29,6 ± 5,83	84,62 ± 3,48
7,5	44,29 ± 8,96	24,91 ± 5,75	69,42 ± 4,27
10	18,07 ± 9,11	25,84 ± 3,79	66,50 ± 5,47
25	9,63 ± 6,42	30,11 ± 4,12	27,16 ± 8,58

Resultados expressos em média ± desvio padrão

Fontes: As autoras (2023).



Para dar continuidade aos testes, é necessário estabelecer quais concentrações foram tóxicas, já que o teste virucida só pode ser realizado com concentrações não tóxicas dos extratos. Conforme estabelece a literatura, um composto é considerado tóxico quando a viabilidade celular fica abaixo de 70% (Magalhães; Thá; Leme, 2018); portanto, pode-se inferir que as concentrações de 0,1 e 1% do extrato de álcool etílico, 0,1 a 2,5% do extrato de acetato de etila e todas as concentrações até 10% do extrato aquoso podem ser utilizadas para o ensaio virucida, por atenderem ao percentual mínimo de viabilidade celular, quando considerado o desvio-padrão. Além disso, por meio dos dados da tabela 2, pode-se perceber que o extrato de álcool etílico foi o mais tóxico, visto que acima de 1% o extrato foi tóxico, enquanto o aquoso, o menos tóxico, pois apenas na concentração de 25% apresentou viabilidade celular abaixo de 70%. Ainda, verifica-se que o efeito tóxico é dose-dependente, já que, com o aumento da concentração, ocorre diminuição da viabilidade celular.

#### 4.3 Teste virucida

A análise dos resultados foi feita a partir da identificação das colônias não infectadas com a coloração com cristal violeta. As células que não sofreram o efeito do vírus têm o tapete corado com o cristal violeta, já aquelas que sofreram o efeito não coram. Isso é possível de ser observado, já que há o rompimento na coloração. O extrato aquoso foi capaz de reduzir a adsorção da partícula viral, impedindo a sua entrada nas células, em todas as suas concentrações (2,5; 5; 7,5; 10%) e nas duas concentrações do inóculo viral. O extrato de álcool etílico 1% inibiu a infecção viral também para ambas as concentrações do inóculo viral, e o extrato de álcool etílico 0,1% somente não inibiu o inóculo viral 1:10 em umas das diluições testadas ( $10^{-2}$ ), atingido 80% de redução do título viral. O extrato de acetato de etila não inibiu nem o inóculo 1:10 nem o 1:20. Esses resultados são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Redução do título viral

Redução do título viral (1:10)		Redução do título viral (1:20)	
Ac. Etila 1%	60%	Ac. Etila 1%	60%
Ac. Etila 2,5%	60%	Ac. Etila 2,5%	60%
Álcool 0,1%	80%	Álcool 0,1%	100%
Álcool 1%	100%	Álcool 1%	100%
Aquoso 2,5%	100%	Aquoso 2,5%	100%
Aquoso 5%	100%	Aquoso 5%	100%
Aquoso 7,5%	100%	Aquoso 7,5%	100%
Aquoso 10%	100%	Aquoso 10%	100%

Fonte: As autoras (2023).

O efeito virucida ocorre baseado na interação de uma amostra com o envelope ou proteínas do capsídeo viral, interferindo diretamente na estrutura do vírus e reduzindo a sua infecção (Zhou *et al.*, 2020). No teste virucida, é analisado se há inibição direta das partículas virais antes de ocorrer o contato com as células, por isso que as amostras de vírus com extrato foram incubadas por 30 minutos a 37°C antes de serem adicionadas às células, já que é nesse período que ocorre, ou não, a inibição das partículas virais. A composição fitoquímica dos

extratos pode estar diretamente relacionada à capacidade de reduzir a adsorção da partícula viral, impedindo a sua entrada nas células.

Devido à característica química das saponinas, pode-se explicar a atividade virucida dos extratos alcoólico e, principalmente, aquoso. Por apresentarem uma parte lipofílica, as saponinas podem ter sido capazes de permeabilizar o envelope viral e, conseqüentemente, expor o RNA ao ambiente, causando sua morte.

Os três extratos estudados apresentaram taninos em sua composição. Em suas duas variações, são capazes de desnaturar proteínas (Monteiro *et al.*, 2005) e, devido a essa propriedade, essa pode ser uma possível explicação da ação virucida dos extratos.

Nos três diferentes extratos, foi identificada a classe dos flavonoides. Kumar N. *et al.* (2021) identificaram em extrato aquoso de goiabeira as classes de glicosídeos, flavonoides, saponinas, fenóis, terpenoides e taninos, além da presença de esculina e quercetina. Silva-Vega *et al.* (2020) encontraram, em extratos alcoólicos de goiabeira, quercetina e carvacrol.

A quercetina possui atividade antiviral e antibacteriana, anti-inflamatória, antiplaquetária, anti-hipertensiva, antitumoral, efeito neuroprotetor, efeito cardioprotetor, efeito gastroprotetor, anti-histamínico natural, hepatoprotetor e antiprotazoário. Também demonstrou efeito contra o SARS-CoV-2, bloqueando a interação da proteína *Spike* e demonstrou um efeito promissor na melhoria clínica dos sintomas respiratórios em indivíduos com COVID-19 (Rizky; Jihwaprani; Mushtaq, 2022).

Compostos fenólicos apresentam capacidade de romper a membrana externa do vírus e inativar sistemas enzimáticos essenciais (Lima *et al.*, 2020). Servem como compostos bioativos com propriedades antioxidantes e hipoglicêmicas, além de desempenharem um papel importante em atividades metabólicas e fisiológicas do corpo humano. Kumar M. *et al.* (2021) identificaram setenta e dois compostos fenólicos diferentes em folhas de goiabeira, usando cromatografia líquida de alto desempenho. A quercetina é o principal composto fenólico bioativo nos extratos de goiabeira. Quercetina, apigenina e miricetina foram identificados em extratos de acetato de etila (Kumar, M. *et al.*, 2021).

As cumarinas foram identificadas nos extratos de acetato de etila e álcool etílico. Khomenko *et al.* (2017) descobriram um composto cumarínico promissor com atividade anti-influenza, afetando culturas de células infectadas nos estágios iniciais de reprodução viral. Shokoohinia *et al.* (2014) encontraram que cumarinas demonstraram efeitos anti-HIV através da inibição das enzimas transcriptase reversa. Além disso, efeitos anti-influenza, anti-H1N1 e anti-HBV foram observados em diferentes cumarinas.

## 5 Conclusão

A presente pesquisa investigou a composição fitoquímica, a citotoxicidade e a ação virucida de extratos de folha de *Psidium guajava*. Os resultados indicaram que o extrato de álcool etílico, na concentração de 1%, e o extrato aquoso, nas concentrações de 1; 2,5; 5; e 10%, apontaram efeito virucida pleno nas duas concentrações virais testadas, sendo o extrato aquoso o que mais demonstra ação virucida. Esses extratos apresentaram flavonoides, taninos e saponinas, que se relacionam com sua atividade virucida. Por sua vez, o extrato de acetato de etila não apresentou efeito virucida.

Os resultados obtidos apontam para o grande potencial fitoquímico da *Psidium guajava* enquanto agente virucida. O presente estudo é um trabalho inicial, com pesquisas *in vitro*, sendo necessários estudos extras para validação e implementação de produtos baseados nas informações contidas neste trabalho, a exemplo do estudo do tempo de prateleira e formulações

seguras. Pode-se sugerir que os extratos de álcool etílico e aquoso obtidos das folhas de *Psidium guajava* apresentaram potencial virucida, porém, devido à facilidade de produção e resultados mais promissores, o extrato aquoso poderia ser mais amplamente investigado para potencial aplicação em sanitizantes naturais tanto para o vírus MHV-3, quanto para o SARS-CoV-2.

## Referências

BARRERA-NUNEZ, D. *et al.* Revisión rápida de la transmisión del SARS-CoV-2 por contacto con objetos y superficies. **Salud Pública de México**, v. 63, n. 1, p. 126-135, 2021. DOI: 10.21149/11877. Disponível em: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342021000100126&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342021000100126&lng=es&nrm=iso). Acesso em: 12 out. 2023.

BISETTO, P. **Citotoxicidade de micropartículas poliméricas mucoadesivas para liberação controlada de nistatina**. 2020. 98 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) - Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2020. Disponível em: <http://tede2.uepg.br/jspui/handle/prefix/3170>. Acesso em: 12 jul. 2023.

CAETANO, K. *et al.* Desafios para o trabalho da disseminação científica em saúde pública em contexto de disseminação do coronavírus. **Reciis**, v. 15, n. 1, p. 233-248, 2021. DOI: 10.29397/reciis.v15i1.2202. Disponível em: <https://doi.org/10.29397/reciis.v15i1.2202>. Acesso em: 11 abr. 2023.

CASTEJON, F. V. **Taninos e saponinas**. 2011. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/188222352/Taninos-e-Saponinas>. Acesso em: 20 out. 2023.

DORNAS, W. C. A. *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 241-249, 2007. Disponível em: [http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien\\_Farm/article/viewFile/235/230](http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/Cien_Farm/article/viewFile/235/230). Acesso em: 20 out. 2023.

FRANCO, D. P. *et al.* A importância das cumarinas para a química medicinal e o desenvolvimento de compostos bioativos nos últimos anos. **Química Nova**, v. 44, n. 2, p. 180-197, 2021. DOI: 10.21577/0100-4042.20170654. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170654>. Acesso em: 20 out. 2023.

GRIPPO, M. C. **Uso da interferência por RNA no vírus da hepatite murina tipo 3 (MHV-3)**. 2006. 93 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1603185>. Acesso em: 7 abr. 2023.

GUIMARÃES, A. *et al.* **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV: IOC, 2010. 290 p. v. 2.

GUTIÉRREZ, R. M. P.; MITCHELL, S.; SOLIS, R. V. *Psidium guajava*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 1-27, 2008. DOI: 10.1016/j.jep.2008.01.025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.01.025>. Acesso em: 29 mar. 2023.

HAIDA, K. S. *et al.* Compostos fenólicos e atividade antioxidante de goiaba (*Psidium guajava* L.) fresca e congelada. **Revista Fitos**, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2015. DOI: 10.5935/2446-4775.20150004.

Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/19225>. Acesso em: 10 out. 2023.

KHOMENKO, T. M. *et al.* Anti-influenza activity of monoterpene-containing substituted coumarins. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 13, p. 2920-2925, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.04.091. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.091>. Acesso em: 21 out. 2023.

KUMAR, M. *et al.* Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: nutritional composition, phytochemical profile, and health-promoting bioactivities. **Foods**, v. 10, n. 4, p. 752. 2021. DOI: 10.3390/foods10040752. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10040752>. Acesso em: 22 out. 2023.

KUMAR, N. S. S. *et al.* Extraction of bioactive compounds from *Psidium guajava* leaves and its utilization in preparation of jellies. **AMB Express**, v. 11, n. 1, p. 36, 2021. DOI: 10.1186/s13568-021-01194-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01194-9>. Acesso em: 9 out. 2023.

LI, M.-Y. *et al.* Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. **Infections Diseases of Poverty**, v. 9, n. 1, p. 45, 2020. DOI: 10.1186/s40249-020-00662-x. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40249-020-00662-x>. Acesso em: 10 out. 2023.

LIMA, M. L. S. O. *et al.* A química dos saneantes em tempos de COVID-19: você sabe como isso funciona? **Química Nova**, v. 45, n. 5, p. 668-678, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170552. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170552>. Acesso em: 12 out. 2023.

MAGALHÃES, W. L.; THÁ, E. L.; LEME, D. M. **Método de determinação de concentrações não citotóxicas para avaliação da capacidade protetora da lignina contra danos ao DNA**. 2018. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1104215/metodo-de-determinacao-de-concentracoes-nao-citotoxicas-para-avaliacao-da-capacidade-protetora-da-lignina-contra-danos-ao-dna>. Acesso em: 20 out. 2023.

MAHIDA, N.; VAUGHAN, N.; BOSWELL, T. First UK evaluation of an automated ultraviolet-C room decontamination device (Tru-D™). **Journal of Hospital Infection**, v. 84, n. 4, p. 332-335, 2013. DOI: 10.1016/j.jhin.2013.05.005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670113001928>. Acesso em: 11 out. 2023.

MARQUES, L. T. *et al.* Chemical composition of various plant extracts and their in vitro efficacy in control of *Fasciola hepatica* eggs. **Ciência Rural**, v. 50, n. 5, 2020. DOI: 10.1590/0103-8478cr20190363. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cr/a/Fzhhf3ZdBqpSy9gx86vhBsd/?lang=en>. Acesso em: 11 abr. 2023.

MARTINS, D. C. S.; COSTA, P. P. Uma xícara (chá) de química. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 1, 2011. DOI: 10.5935/1984-6835.20110004. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/277223090\\_Uma\\_Xicara\\_cha\\_de\\_Quimica](https://www.researchgate.net/publication/277223090_Uma_Xicara_cha_de_Quimica). Acesso em: 20 out. 2023.

MONTEIRO, J. M. *et al.* Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005. DOI: 10.1590/S0100-40422005000500029.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: application. **Journal of**

**Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983. DOI: 10.1016/0022-1759(83)90303-4. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0022175983903034>. Acesso em: 18 jul. 2023.

OLIVEIRA, G. P.; KROON, E. G. Mouse hepatitis virus: a betacoronavirus model to study the virucidal activity of air disinfection equipment on surface contamination. **Journal of Virological Methods**, v. 297, nov. 2021. DOI: /10.1016/j.jviromet.2021.114274. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2021.114274>. Acesso em: 11 abr. 2023.

RADI, P. A.; TERRONES, M. G. H. Metabólitos secundários de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 20, n. 2, p. 18-22, 2007.

RISTERUCCI, A. M. *et al.* Isolation and characterization of microsatelliteloci from *Psidium guajava* L. **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 4, p. 745-748, 2005. DOI:10.1111/j.1471-8286.2005.01050.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1471-8286.2005.01050.x>. Acesso em: 10 out. 2023.

RIZKY, W. C.; JIHWAPRANI, M. C.; MUSHTAQ, M. Protective mechanism of quercetin and its derivatives in viral-induced respiratory illnesses. **The Egyptian Journal of Bronchology**, v. 16, n. 1, p. 58, 2022. DOI: 10.1186/s43168-022-00162-6.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. *In*: SIMÕES, C. M. *et al* (org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: Ed. UFGRS: Ed. UFSC, 2001. cap. 27, p. 597-619.

SEQUINEL, R.; LENZ, G. F.; SILVA, F. J. L. B. Soluções a base de álcool para higienização das mãos e superfícies na prevenção da covid-19: compêndio informativo sob o ponto de vista da química envolvida. **Química Nova**, v. 43, n. 5, p. 679-684, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170553. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170553>. Acesso em: 10 out. 2023.

SHOKOOHINIA, Y. *et al.* Antiviral and cytotoxic evaluation of coumarins from *Prangos ferulacea*. **Pharmaceutical Biology**, v. 52, n. 12, p. 1543-1549, 2014. DOI: 10.3109/13880209.2014.907322. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.907322>. Acesso em: 21 out. 2023.

SILVA, T. **Aplicação da luz ultravioleta sobre o coronavírus MHV-3 como modelo padrão para testes de redução de carga viral do coronavírus SARS-CoV-2**. 2023. 64 f. Tese (Mestrado em Ciências Médicas) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2023.

SILVA-VEGA, M. *et al.* Caracterización química de extracto alcohólico de hoja de guayaba (*Psidium guajava*) y su efecto como inhibidor de movilidad para *Escherichia coli* O157:H7. **Abanico Veterinario**, v. 10, 2020. DOI: 10.21929/abavet2020.26. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2020.26>. Acesso em: 22 out. 2023.

SUN, P. *et al.* Clinical characteristics of hospitalized patients with SARS-CoV2 infection: a single arm meta-analysis. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 6, p. 612-616, 2020. DOI: 10.1002/jmv.25735. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.25735>. Acesso em: 10 out. 2023.

TANIGUTI, N. **Variantes do SARS-CoV-2: o que você precisa saber**. 2023. Disponível em: <https://blog.mendelics.com.br/variantes-do-coronavirus/>. Acesso em: 4 abr. 2024.

VELAVAN, T. P.; MEYER, C. G. The COVID-19 epidemic. **Tropical Medicine International Health**,

v. 25, n. 3, p. 278-280, 2020. DOI: 10.1111/tmi.13383. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7169770/>. Acesso em: 9 out. 2023.

VENÂNCIO, D. P.; PANDOLFI, M. A. C. Clean label na comercialização de produtos. **Revista Interface Tecnológica**, v. 17, n. 2, p. 535-541, 2020. DOI: 10.31510/infra.v17i2.907. Disponível em: <https://revista.fatectq.edu.br/interfacetecnologica/article/view/907>. Acesso em: 11 abr. 2023.

ZHOU, Y. *et al.* Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. **National Science Review**, v. 7, n. 6, p. 998-1002, 2020. DOI: 10.1093/nsr/nwaa041. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa041>. Acesso em: 11 out. 2023.