

## AValiação de compostos derivados de quinonas com atividade virucida contra herpes vírus

Laura Morais Nascimento Silva<sup>1</sup>, Priscila Cristina Bartolomeu Halicki<sup>2</sup>, Kelly Cristina Gallan de Moura<sup>3</sup>, Renata Nobre da Fonseca<sup>4</sup>, Daniela Fernandes Ramos<sup>5</sup>, Silvia de Oliveira Hübner<sup>6</sup>

**Resumo:** Há pouca disponibilidade de fármacos que sejam capazes de prevenir ou combater doenças virais. Embora as quinonas possuam diversas atividades biológicas descritas, sua atividade antiviral é pouco relatada. Dessa maneira, esse trabalho teve como objetivo avaliar a atividade in vitro de compostos derivados das quinonas frente ao ciclo replicativo do herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1). O ensaio foi realizado comparando a diferença entre o título viral nas células MDBK (Madin-Darby bovine kidney) não tratadas e tratadas com sete compostos, em concentrações não citotóxicas. Os resultados obtidos mostraram que duas das sete moléculas testadas apresentaram percentuais de inibição significativos, enquanto três delas tiveram baixo potencial antiviral e as outras duas nenhuma ação contra o BoHV-1. Os resultados permitiram constatar que pequenas mudanças nos radicais das moléculas alteraram sua interação com BoHV-1.

**Palavras-chave:** Antiviral, herpesvírus bovino, terapia antiherpesvírus

---

<sup>1</sup>Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. e-mail: lmoraisns@gmail.com

<sup>2</sup>Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande

<sup>3</sup>Pós-Doutoranda no Instituto de Pesquisas em Produtos Naturais, IPPN da Universidade Federal do Rio de Janeiro

<sup>4</sup>Graduanda do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. e-mail: renatanobredafonseca@gmail.com

<sup>5</sup>Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande. e-mail: daniferamos@gmail.com

<sup>6</sup>Orientadora, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> da Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas. silviaohubner@gmail.com

## Introdução

O herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) é pertencente à família *Herpesviridae*, à subfamília *Alphaherpesvirinae* e ao gênero *Varicellovirus*. Com genoma DNA e provido de envelope glicoproteico, é um vírus de grande importância em medicina veterinária, estando associado à doenças respiratória, genitais e abortos.

A produção de fármacos antivirais que sejam capazes de impedir ou debelar uma infecção é fundamental, entretanto a disponibilidade dessas substâncias é pequena. Para o desenvolvimento de novas drogas antivirais, diversos estudos têm sido realizados com base em substâncias naturais e sintéticas com a finalidade de definir e caracterizar novos compostos que tenham a capacidade de inibir o ciclo replicativo viral e, dessa maneira, serem aplicados como modelos para novas drogas, como as moléculas derivadas da classe das quinonas.

Diferentes estudos referentes à atividade biológica das quinonas têm sido descritos, como sua ação bactericida (MOREIRA et al., 2017), fungicida (CHAUDHARI et al., 2017), antiparasitária (MATA-SANTOS et al., 2016), antiviral (MIN et al., 2002) e antitumoral (KONOSHIMA et al., 1989). Todavia, sua atividade contra vírus que infectam animais nunca foi reportada.

O objetivo desse estudo foi demonstrar a atividade antiviral *in vitro* de sete quinonas sintéticas: 2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2H-benzo[g]chromene-5,10-dione ( $C_{15}H_{14}O_3$ ), 2,2-dimethyl-2,3-dihydronaphtho[2,3-b]furan-4,9-dione ( $C_{14}H_{12}O_3$ ), 2-(allyloxy)naphthalene-1,4-dione ( $C_{13}H_{10}O_3$ ), 2,3-dichloronaphthalene-1,4-dione ( $C_{10}H_4Cl_2O_2$ ), 2-(phenylamino)naphthalene-1,4-dione ( $C_{16}H_{11}NO_2$ ), 4,5-dichloro-3,6-dioxocyclohexa-1,4-diene-1,2-dicarbonitrile ( $C_8Cl_2N_2O_2$ ) e 2,3,5,6-tetrachlorocyclohexa-2,5-diene-1,4-dione ( $C_6Cl_4O_2$ ), aqui denominadas 1636, 2275, 3282, 3377, 3380, 3400 e 3406, respectivamente, contra o BoHV-1.

## Material e Métodos

### Cultivo de células

Células MDBK (Madin-Darby bovine kidney) foram mantidas em meio essencial mínimo (E-MEM) suplementado com 10% de soro fetal bovino (Gibco), penicilina (Sigma-Aldrich, USA), estreptomicina (Vetec, Brasil), enrofloxacina (Bayer, Brasil) e anfotericina B (Cristália, Brasil) a 37 °C em estufa contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

### **Moléculas**

As quinonas avaliadas neste estudo foram sintetizadas no instituto de Pesquisas de Produtos Naturais (UFRJ), através da condensação da β-lapachona, de acordo com a metodologia previamente descrita por De Moura et al. (2001). Os compostos foram solubilizados em dimetilsulfóxido 99,5% (Sigma Aldrich) na concentração de 10mg/mL e foram estocados a 4° C até sua utilização.

### **Avaliação da citotoxicidade**

O ensaio foi realizado em microplaca de poliestireno com 96 cavidades, em quadruplicada, e repetido três vezes. Após 24 horas, foram adicionadas diferentes concentrações das moléculas 1636, 2275, 3282, 3377, 3380, 3400 e 3406, sobre o tapete celular. As viabilidades celulares foram mensuradas pelo ensaio de MTT após 72 horas de incubação. As leituras das densidades ópticas foram quantificadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 540 nm. As concentrações não tóxicas consideradas foram as que permitiram uma viabilidade celular maior que 90% quando comparadas com o controle (células não tratadas). A partir do ensaio foi determinada a maior concentração não citotóxica da molécula.

### **Avaliação da atividade antiviral**

A avaliação da atividade antiviral de cada molécula foi realizada comparando a diferença entre o título viral do BoHV-1 cepa *Los Angeles* na ausência e na presença de 1636, 2275, 3282, 3377, 3380, 3400 e 3406 em suas maiores concentrações não citotóxicas.

Os títulos virais foram calculados pelo método de diluição limitante (BEHRENS e KÄRBER, 1935) e expressos como dose infectante a 50% do tecido celular em 100 $\mu$ L (TCID<sub>50</sub>/100 $\mu$ L) após 72 horas de incubação a 37 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### Resultados e Discussão

As concentrações não citotóxicas encontradas estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Concentrações não citotóxicas ( $\mu$ M) das moléculas derivadas das quinonas

Molécula	Concentração não citotóxica	Viabilidade celular (%)
1636	29,5	97
2275	9,73	95
3282	10,37	100
3377	29,46	97
3380	5,02	100
3400	55,24	100
3406	27,29	98

O presente estudo mostrou a redução do título viral do BoHV-1 de 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub>/100 $\mu$ L, na presença das moléculas 3406 e 3377, que reduziram o título para 10<sup>1,5</sup> e para 10<sup>1,75</sup>, um percentual de inibição (PI) de 99,7% e 99,4%, respectivamente. Com as 3282 e 3400 foram observadas reduções para 10<sup>3,5</sup> (PI 68,4%) e com 2275 para 10<sup>3,75</sup> TCID<sub>50</sub>/100 $\mu$ L (PI 43,7%). A adição das moléculas 1636 e 3380 manteve o título viral em 10<sup>4</sup> TCID<sub>50</sub>/100 $\mu$ L.

A moléculas 3377 na concentração de 29,46  $\mu$ M e 3406 na concentração de 27,29  $\mu$ M reduziram significativamente o título viral nas células MDBK.

Menor potencial inibitório foi observado com as moléculas 2275 (9,73  $\mu$ M) 3282 (10,37  $\mu$ M) e 3400 (55,24  $\mu$ M) enquanto que

os compostos 1636 (29,5  $\mu\text{M}$ ) e 3380 (5,2  $\mu\text{M}$ ) não apresentaram potencial antiviral nesse estudo. MIN et al. 2002, relataram quinonas com baixo potencial antiviral contra o HIV-1. Outros autores (KONOSHIMA et al., 1989; MIN et al., 2002) relataram a atuação expressiva de moléculas derivadas das quinonas contra o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e contra o herpesvírus humano tipo 4 (HHV-4).

Os resultados obtidos mostraram que pequenas mudanças nos radicais são capazes de alterar a interação das moléculas com o BoHV-1.

### Conclusões

As moléculas 3406 e 3377 avaliadas neste estudo tiveram potencial antiviral contra o BoHV-1, portanto, devem ser consideradas como pontos de partida promissores em estudos para aplicação em terapias antiherpesvírus. Futuros estudos devem ser desenvolvidos para determinar seus mecanismos inibitórios.

### Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e à Fundação de Apoio e Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul (FAPERGS) pela concessão de bolsa de estudo da primeira autora.

### Referências Bibliográficas

CHOUDHARI, D. et al. Molecular structures and biological activities of (N)-n-alkylammonium 2-chloro-3-oxido-1, 4-naphthoquinone salts. **Journal of Molecular Structure**, v. 1145, p. 309-320, 2017.

DE MOURA, K. C.G et al. Trypanocidal activity of isolated naphthoquinones from *Tabebuia* and some heterocyclic derivatives: a review from an interdisciplinary study. **Journal of the Brazilian chemical society**, v. 12, n. 3, p. 325-338, 2001.

KONOSHIMA, T. et al. Studies on inhibitors of skin tumor promotion, VI. Inhibitory effects of quinones on Epstein-Barr virus activation. **Journal of natural products**, v. 52, n. 5, p. 987-995, 1989.

MATA-SANTOS, T. et al. Toxocara canis: anthelmintic activity of quinone derivatives in murine toxocarosis. **Parasitology**, v. 143, n. 4, p. 507-517, 2016.

MIN, Byung-Sun; MIYASHIRO, Hirotsugu; HATTORI, Masao. Inhibitory effects of quinones on RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. S1, p. 57-62, 2002.

MOREIRA, C. S. et al. Searching for a potential antibacterial lead structure against bacterial biofilms among new naphthoquinone compounds. **Journal of applied microbiology**, v. 122, n. 3, p. 651-662, 2017.