

## Avaliação da citotoxicidade de compostos sintéticos como potenciais fármacos contra *Dengue vírus*

SANTOS, M. dos<sup>1</sup>; ANDRADE, A. C. dos S. P.<sup>1</sup>; ALEIXO, A.A<sup>1</sup>; ALVES, R.J.<sup>2</sup>, BRETAS, A. C. O. <sup>2</sup>; ANDRADE, S. F. <sup>2</sup> FERREIRA, J. M. S<sup>1</sup>.

### RESUMO

A Dengue é uma das mais importantes arboviroses causada pelo *Dengue vírus*, e causa problemas de saúde pública mundial. É transmitida aos seres humanos por picadas de fêmeas infectadas do mosquito *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Atualmente, cerca de 50 milhões de pessoas são infectadas anualmente. Diante disso, a busca de agentes antivirais contra o Dengue vírus é de extrema importância, uma vez que não existem agentes antivirais ou vacinas tetravalentes para o tratamento da doença. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a citotoxicidade de compostos tetrazólicos como potenciais fármacos antivirais. Uma série de dez compostos foram submetidos aos testes de citotoxicidade pelo método do MTT. Os compostos foram diluídos em série partindo da concentração de 0,130  $\mu\text{mol/mL}$ . Os compostos CAMCN e CAPOM foram não tóxicos, se mostrando promissores agentes antivirais.

Palavras-chave: Dengue vírus, citotoxicidade, compostos sintéticos.

### INTRODUÇÃO

A dengue é causada por um arbovírus, membro da família *Flaviviridae*, cujo genoma é constituído de RNA fita simples com polaridade positiva. O *Dengue virus* (DENV) é classificado em quatro sorotipos (DENV-1, 2, 3 e 4) que são genética e antígenicamente distintos, porém epidemiologicamente similares. São transmitidos aos seres humanos por picadas de fêmeas infectadas do mosquito *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. A infecção com

DENV produz um amplo espectro de doenças clínicas desde infecções silenciosas, como uma síndrome febril ligeiramente aguda, auto-limitada, conhecida como febre do dengue (DF), ou a doença hemorrágica grave e muitas vezes fatal (FHD)<sup>1,2</sup>.

Segundo dados da OMS nos últimos 50 anos, a incidência aumentou 30 vezes com o aumento da expansão geográfica para novos países. Estima-se que 50 milhões de infecções por dengue ocorram anualmente e cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em países endêmicos. O Brasil já notificou cerca de 60% dos 900 mil casos de dengue nas Américas, destacando o impacto dessa doença em território nacional e a importância do Brasil no cenário mundial da doença<sup>3,4</sup>.

Atualmente, não existem agentes antivirais ou vacinas tetravalentes para o tratamento e prevenção da doença, que consiste em hidratação oral e alívio dos sintomas. Por isto, vários tipos de agentes antivirais contra o DENV tem sido pesquisados, incluindo inibidores da replicação viral, da tradução de proteínas virais e liberação viral. Dentre ensaios preliminares para pesquisar uma potencial atividade antiviral, destaca-se os testes de citotoxicidade, pois um agente antiviral eficaz deve ser mais tóxico ao vírus do que para as células. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a citotoxicidade de compostos tetrazólicos, que poderão ser utilizados como potenciais fármacos antivirais frente ao DENV<sup>5</sup>.

### MATERIAL E MÉTODOS

Dez compostos tetrazólicos, CAMCN, CAPOM, CAFEN, CAMNF, CMMC, CAPNF, CAMME, CAMOM, CAOCL, CAOME, oriundos da Quimioteca da Faculdade de Farmácia da UFMG, foram submetidos à avaliação da citotoxicidade pelo método do MTT (3 (4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo difenil tetrazólio, Sigma-Aldrich). Os compostos foram diluídos em Dimetilsulfóxido (DMSO) 20%, partindo da concentração inicial de 0,130  $\mu\text{mol/mL}$ . A linhagem de células Vero foram crescidas em Meio Mínimo Essencial Dulbecco (DMEM) (Cultilab, Brasil), com 2% de Soro Fetal Bovino

<sup>1</sup> Universidade Federal de São João Del Rei -Campus Centro Oeste Dona Lindu – Departamento de Microbiologia Caixa Postal 35.501-296. Divinópolis – Minas Gerais

<sup>2</sup> Universidade Federal de Minas Gerais- Laboratório de Química Farmacêutica Medicinal – CEP 31270-901 - Belo Horizonte, Minas Gerais. E-mail: michellisantos.ufsj@gmail.com

(SFB) e antibióticos (Cultilab, Brasil), e glutamina (Cultilab, Brasil), a 37 °C, com 5% de atmosfera de CO<sub>2</sub>. Culturas com monocamadas confluentes em placas de 96 poços foram expostas a diferentes concentrações, diluídas em série, dos compostos, em triplicata. Após 72 horas de incubação, 20 uL (2mg/ml) de MTT diluído em solução salina fosfatada (PBS), foram adicionados a cada poço e a placa foi incubada a 37 °C durante 3 horas. Posteriormente, o meio foi removido e 130µL de DMSO foram adicionados e, após incubação a 37 °C durante 10 minutos, a absorbância foi medida a 540 nm em espectrofotômetro (Pó onda XS2, Biotec, EUA) para determinar a concentração que matou 50% das células (CC50). A citotoxicidade foi calculada por comparação com o controle (tratados com DMSO a 0,1%). Os dados foram analisados pelo GrapPad Prism 5.0, utilizando o teste de Tukey para a avaliação da citotoxicidade. Para as análises, foi estabelecido o nível de significância de 5 %.

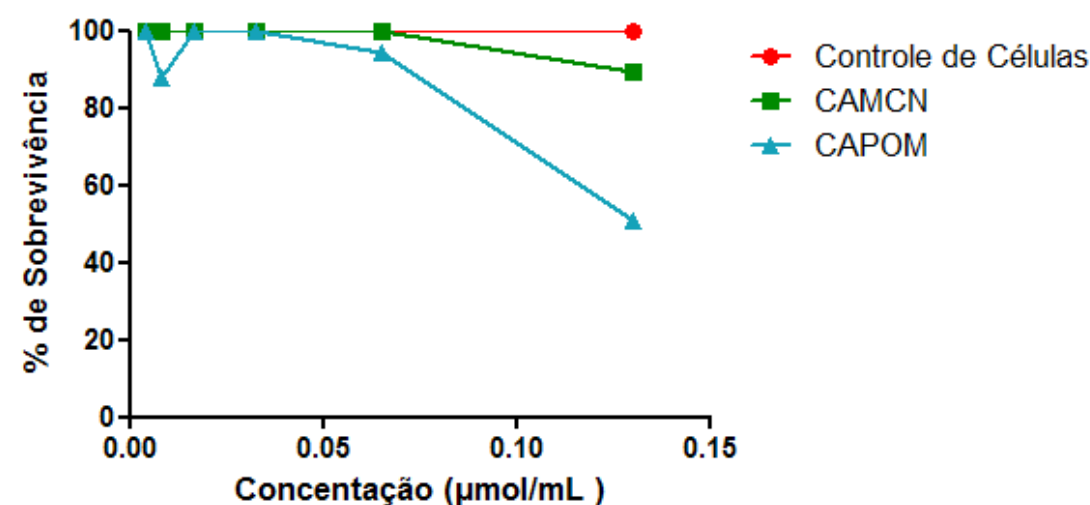
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As porcentagens de células viáveis para cada concentração dos compostos testados foram analisadas através de CC50. Analisando a tabela 1, os compostos CAMCN e CAPOM foram considerados não tóxicos, sendo que a concentração inicial de análise não causou a morte celular de 50% das células. Ao realizar a comparação da porcentagem de sobrevivência das células controle com as células tratadas com os compostos através do teste de Tukey (Figura 1), foi possível verificar que o composto CAMCN não apresentou diferenças significativas na taxa de sobrevivência das células, em relação ao controle de células, enquanto o composto CAPOM apresentou diferenças nas concentrações de 0,130 µmol/mL e 0,008 µmol/mL. Estes dados revelam que ambos os compostos são promissores para a realização dos ensaios antivirais.

Tabela 1: Avaliação da citotoxicidade de dez compostos tetrazólicos e análise de CC50.

Composto	CC50 (µmol/ml)
CAMCN	0,1305 ± 1,1
CAPOM	0,1168 ± 1,1
CAFEN	0,0795 ± 1,3
CAMNF	0,0726 ± 1,2
CMMC	0,0655 ± 1,2
CAPNF	0,0654 ± 2,4
CAMME	0,0317 ± 1,4
CAMOM	0,0374 ± 0,6
CAOCL	0,0249 ± 3,8
CAOME	0,0231 ± 3,5

Figura 1: Comparação da porcentagem de sobrevivência das células quando submetidas a diferentes concentrações dos compostos CAMCN e CAPOM.



## CONCLUSÕES

A avaliação da segurança de novos compostos é um dos parâmetros de grande importância no desenvolvimento de novos fármacos. Os testes de toxicidade celular fornecem as primeiras informações sobre resposta biológica dos compostos em células de mamíferos, sendo que a grande maioria de moléculas são descartadas logo de início, devido à sua

citotoxicidade. Os resultados encontrados neste trabalho revelam que os compostos CAMCN e CAPOM são não tóxicos e devem ser considerados para futuros testes de ensaios anti-dengue.

## REFERÊNCIAS

- (1) TALARICO, L. B. *et al.* The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell. **Antiviral Research**, v. 66, n. 2–3, p. 103-110, 2005
- (2) ICTV International Committee on Taxonomy of Viruses. 2006. The Big picture Book of Viruses: Poxviridae. (acessado em 18 de maio de 2013 em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/index.htm>).
- (3) Muhamad, M., Lee, Y.K., Noorsaadah, A.R., Rohana Y. Antiviral actions of flavanoid-derived compounds on dengue virus type-2. **Int. J. Biol. Sci. .J**, v. 6, n. 3, p. 294-302, 2010
- (4) ORGANIZATION, W. H. Global Strategy For Dengue Prevention ando Control 2012. Disponível em: < <http://www.who.int/denguecontrol/9789241504034/en/> >. Acesso em: 20 de maio de 2013.
- (5) KATO, D. *et al.* Antiviral activity of chondroitin sulphate E targeting dengue virus envelope protein. **Antiviral Research**, v. 88, n. 2, p. 236-243, 2010.