

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIVIRAL DE DERIVADOS PIRRÓLICOS

Larissa Bergamo do Nascimento Vidal (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Tania Ueda Nakamura (Orientador). E-mail: tunakamura@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Farmácia/farmacognosia

Palavras-chave: atividade anti-HSV-1; citotoxicidade; hidróxi-pirrolonas.

RESUMO

O vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1) é um patógeno globalmente disseminado e causador de lesões de pele e mucosa. O tratamento das infecções por HSV é baseado em medicamentos análogos de nucleosídeos, como o aciclovir (ACV), que atua bloqueando o ciclo de replicação viral. Entretanto, o uso intenso desses fármacos tem levado à seleção de cepas resistentes aos tratamentos disponíveis. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade anti-HSV-1 de uma série de dez derivados inéditos de hidróxi-pirrolonas, compostos heterocíclicos com potencial para atividade biológica diversificada, como potenciais candidatos a fármacos antivirais contra o HSV-1. Os derivados foram submetidos a ensaios *in vitro* para determinar sua Concentração Citotóxica 50% (CC₅₀) em células Vero. Os compostos 6, 7 e 9 mostraram-se menos tóxicos e foram selecionados para avaliar a atividade antiviral frente ao HSV-1 (cepa KOS). Os resultados demonstraram que os derivados 6 e 9 exibiram atividade antiviral moderada e dose-dependente. Embora a proteção celular não tenha alcançado 50%, impedindo o cálculo do valor de EC₅₀, os achados validam as hidróxi-pirrolonas como uma classe química promissora.

INTRODUÇÃO

O herpesvírus humano tipo 1 (HSV-1), pertencente à família Herpesviridae, é um dos patógenos mais prevalentes mundialmente, infectando cerca de 64% da população com menos de 50 anos (WHO, 2020). Transmitido principalmente por contato direto com secreções contaminadas, o vírus pode estabelecer infecção latente nos gânglios trigeminais, podendo ser reativado por fatores como estresse, imunossupressão ou alterações hormonais (GRINDE, 2013). O tratamento baseia-se no aciclovir (ACV) e análogos, que inibem seletivamente a DNA polimerase viral após ativação pela timidina quinase (TK) do HSV-1 (ELION *et al.*, 1977; AHMAD, 2015). Entretanto, o uso prolongado favorece o surgimento de cepas resistentes, principalmente devido a mutações no gene UL23 (TK viral) ou UL30 (DNA polimerase viral), comprometendo a eficácia terapêutica (FROBERT *et al.*, 2014). Nesse contexto, há demanda por novas estruturas químicas com mecanismos de ação alternativos. Compostos heterocíclicos, especialmente aza-heterociclos,

representam mais de 75% dos fármacos de moléculas pequenas aprovados pelo FDA, devido à sua diversidade estrutural e bioatividade (KERRU *et al.*, 2020). Entre eles, destacam-se as pirrolonas e hidróxi-pirrolonas, que apresentam amplo potencial farmacológico, incluindo atividades antiviral, antibacteriana e anti-inflamatória (MORSY *et al.*, 2024). A avaliação biológica desses derivados representa, portanto, uma estratégia promissora para a descoberta de novos candidatos contra o HSV-1.

MATERIAIS E MÉTODOS

Síntese e Caracterização dos Compostos

A série de derivados hidróxi-pirrolonas inéditos foram sintetizados e fornecidos pelo Grupo SINTHET do Departamento de Química da Universidade Estadual de Maringá sob responsabilidade da Profa. Dra. Fernanda Andreia Rosa. Os compostos foram obtidos com bons rendimentos através de uma reação *one-pot* sequencial, partindo de β -enaminodicetonas secundárias e diferentes tióis. As reações foram conduzidas em diclorometano (DCM) na presença da base 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU). A confirmação estrutural e a pureza foram verificadas por meio de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^1H e ^{13}C).

Cultura Celular e Propagação Viral

Foram utilizadas células de linhagem Vero (ATCC CCL-81), cultivadas em meio DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) e 1% de antibióticos (penicilina/estreptomicina). As culturas foram mantidas em estufa a 37°C com atmosfera úmida e 5% de CO_2 . O vírus Herpes Simples tipo 1 (HSV-1, cepa KOS) foi propagado em monocamadas confluentes de células Vero. Após a manifestação do efeito citopático em aproximadamente 80% da cultura, o sobrenadante contendo as partículas virais foi coletado, centrifugado e armazenado a -20 °C. O título viral foi determinado para calcular a Dose Infectante de Cultura de Tecido 50% (TCID₅₀), utilizando o ensaio colorimétrico de MTT para avaliar a viabilidade celular.

Ensaio de Citotoxicidade (CC₅₀)

A citotoxicidade dos compostos foi avaliada em monocamadas de células Vero cultivadas em placas de 96 poços. As células foram expostas a diluições seriadas dos derivados (1000 a 15,62 $\mu\text{g/mL}$) por 72 h. Ao final do tratamento, a viabilidade celular foi revelada pelo ensaio de MTT. A Concentração Citotóxica 50% (CC₅₀), definida como a concentração do composto que reduz a viabilidade celular em 50% em relação ao controle de células não tratadas, foi calculada por análise de regressão.

Ensaio de Atividade Antiviral in vitro (EC_{50})

Para avaliar a eficácia dos compostos, monocamadas de células Vero em placas de 96 poços foram infectadas com HSV-1 na sua $TCID_{50}$. Após um período de adsorção viral de 1 h, o inóculo foi substituído por DMEM contendo diferentes concentrações não tóxicas dos compostos. As placas foram incubadas por 72 h. A proteção antiviral foi determinada pela quantificação da viabilidade das células tratadas em comparação com os controles (células não infectadas e células infectadas não tratadas), utilizando o ensaio de MTT. A Concentração Efetiva 50% (EC_{50}), que corresponde à concentração do composto capaz de proteger 50% das células da infecção viral, foi calculada a partir da curva de dose-resposta por regressão não linear.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Citotoxicidade

O ensaio de MTT em células VERO revelou que a maioria dos compostos apresentou alta toxicidade (CC_{50} entre 35,7 e 75,0 $\mu\text{g/mL}$). Em contraste, JP6, JP7 e JP9 mostraram menor citotoxicidade (CC_{50} = 621,7; 310,0; e 182,5 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), permitindo seu avanço para a triagem antiviral.

Atividade antiviral

Os compostos selecionados foram testados contra HSV-1 (cepa KOS) em células Vero. JP7 foi inativo, com proteção celular próxima de zero. JP6 apresentou atividade moderada, com proteção máxima de 41,2% em 100 $\mu\text{g/mL}$ e tendência dose-dependente. JP9 exibiu proteção consistente (26,5–37,2%) em várias concentrações, sugerindo que o efeito atinge um limite e que pode ser relacionado à solubilidade. Nenhum composto atingiu $\geq 50\%$ de proteção, impossibilitando o cálculo de EC_{50} , indicando efeito antiviral moderado.

CONCLUSÕES

A síntese de dez derivados de hidróxi-pirrolonas foi realizada com sucesso, gerando compostos estruturalmente diversos e de bons rendimentos. A avaliação biológica *in vitro* demonstrou que a maioria apresentou elevada citotoxicidade em células VERO, restringindo seu potencial terapêutico para o HSV-1. Entretanto, os compostos JP6, JP7 e JP9 exibiram baixa toxicidade, permitindo sua seleção para os ensaios antivirais. Dentre estes, apenas JP6 e JP9 demonstraram atividade moderada contra o HSV-1, embora sem atingir níveis de proteção superiores a 50%, impossibilitando a determinação do EC_{50} . Assim, os resultados obtidos contribuem para o avanço no

desenvolvimento de agentes antivirais inovadores e justificam investigações futuras mais aprofundadas.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, ao Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos, ao Grupo SINTHET e à Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade e suporte ao projeto.

REFERÊNCIAS

ELION, G. B. et al. The selectivity of action of an antiherpetic agent, 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine. **Reviews in medical virology**, v. 9, n. 3, p. 147–153, 1977. Disponível em: <<https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5716>>. Acesso em: 14 de abr. 2025

FROBERT, E. *et al.* Resistance of herpes simplex viruses to acyclovir: an update from a ten-year survey in France. **Antiviral research**, v. 111, p. 36–41, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.08.013>>. Acesso em: 22 de maio. 2025

GRINDE, B. Herpesviruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. **Journal of oral microbiology**, v. 5, n. 1, p. 22766, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3402/jom.v5i0.22766>>. Acesso em: 12 de abr. 2025

KERRU, N. *et al.* A Review on Recent Advances in Nitrogen-Containing Molecules and Their Biological Applications. **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1909, 20 abr. 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/molecules25081909>>. Acesso em: 10 de ago. 2025

MORSY, A. R. I. *et al.* Antiviral activity of pyrazole derivatives bearing a hydroxyquinoline scaffold against SARS-CoV-2, HCoV-229E, MERS-CoV, and IBV propagation. **RSC advances**, v. 14, n. 38, p. 27935–27947, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1039/d4ra04728a>>. Acesso em: 12 de abr. 2025

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Herpes simplex virus**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>>. Acesso em: 12 de abr. 2025.