



ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIHERPESVIRUS DE *Psychotria carthagenensis* Jacq.

Karina S. Bambini^a, Paulo M. Roehe^b, Sérgio A. L. Bordignon^c, Jarbas A. Montanha^a

^a Faculdade de Farmácia – UFRGS; ^b Instituto de Ciências Básicas da Saúde – UFRGS; ^c Curso de Biologia Universidade Luterana do Brasil

INTRODUÇÃO

Os herpesvírus são patógenos humanos pertencentes à família *Herpesviridae*, e à subfamília *alphaherpesvirinae* que estabelecem infecção latente nos neurônios do gânglio trigêmeo (região facial) e podem reativar causando infecções recorrentes localizadas. São replicados com rapidez em diversas linhagens celulares de mamífero *in vitro* (SILVA, 2009; MURRAY et al., 1992).

Um antiviral pode atuar diretamente, inativando as partículas virais exercendo uma ação virucida, ou interferir em alguns alvos virais como na adsorção do vírus, sua penetração na célula hospedeira, bloqueio de um ou mais estágios da replicação viral, até sua liberação. Um antiviral pode estimular a produção de interferonas pelas células, impedindo a propagação do víon (HUDSON et al., 1999).

Os extratos de plantas, são uma fonte importante de compostos com promissoras atividades farmacológicas, incluindo atividade antiviral (SILVA, 2009). Tendo sido observada boa atividade antiherpesvirus (HHV-1) do extrato aquoso de *Psychotria carthagenensis* Jacq, (BAMBINI et al., 2009) buscou-se através do fracionamento com solventes de polaridade crescente a fração responsável pela atividade antiviral.

MATERIAL E MÉTODOS

PLANTAS: A espécie vegetal *Psychotria carthagenensis* Jacq. foi coletada, seca e triturada. Um extrato aquoso e três frações deste extrato foram preparados, o extrato foi obtido a 50°C e as frações foram obtidas com solventes de polaridade crescente (acetato de etila e álcool n-butílico). O extrato e as frações foram secos e conservados em dessecador e a solução a -20°C até o momento do uso.

CÉLULAS: Utilizou-se células VERO (ATCC CCL-81), fibroblastos isolados de rim de macaco verde africano (*Cercopithecus aethiops*). Foram preparadas placas de 96 poços com 30.000 células por poço. As placas foram incubadas em estufa com 5% de CO₂ e atmosfera úmida por 24 horas antes do uso.

VÍRUS: Utilizou-se HHV-1, cepas KOS. Os estoques virais são preparados em células VERO e armazenado a -70°C.

CITOTOXICIDADE: Para o estudo da citotoxicidade, foi determinada a concentração máxima não tóxica (CMNT) utilizando a técnica da alteração morfológica. As amostras foram preparadas a diferentes diluições e adicionadas à cultura celular, o efeito citotóxico é observado após 72 horas de incubação a 37°C, através da observação ao microscópio invertido (MONTANHA et al., 2004; WALUM et al., 1990; WILSON, 1986).

ENSAIO ANTIVIRAL: Para a realização do ensaio, o tapete celular foi tratado com o extrato na CMNT e na CMNT/2. Após este procedimento foram adicionadas diluições decimais de vírus de 10⁻¹ a 10⁻⁶. Após incubar por 72 horas a 37°C em uma atmosfera úmida foi determinado o título viral dos tratados e da cultura não tratada. A atividade anti-HHV-1 foi avaliada pela redução do título infeccioso viral (TCID₅₀) em placas de 96 poços preparadas com 24 horas de antecedência. Para determinação do título, utilizou-se o método de Kärber (BURLESON et al., 1992).

EFEITO VIRUCIDA: A capacidade do extrato inativar diretamente a partícula do vírus foi investigada pela mistura de 50% de suspensão de HHV-1 e 50% do extrato na CMNT ou MEM-Eagle (controle) por 15 minutos a 37 °C. Após a incubação, a mistura foi titulada (extrato + vírus ou vírus + MEM-Eagle) pelo método de Kärber (EKBLAD et al., 2006; BURLESON et al., 1992).

RESULTADOS

A concentração máxima não tóxica (CMNT), a atividade anti-HHV-1 e o efeito virucida estão indicados na Tabela 1. Os resultados referentes à redução do título infeccioso estão representados em termos logarítmicos, e são resultado da comparação com as médias aritméticas do título viral obtido dos controles vírus dos ensaios realizados. O extrato aquoso e as frações acetato de etila e álcool n-butílico de *Psychotria carthagenensis*, apresentaram considerável atividade anti-HHV-1, indicando também aumento da atividade na fração n-butanólica em relação ao extrato aquoso de partida. Da mesma forma obtivemos considerável atividade virucida para duas das frações testadas (acetato de etila e álcool n-butílico), sendo que na fração n-butanólica tem-se observado o maior efeito.

<i>Psychotria carthagenensis</i>	CMNT (mg/mL)	Redução do título viral em log ₁₀		
		ANTIVIRAL		VIRUCIDA (CMNT)
		(CMNT)	(CMNT/2)	
EXTRATO AQUOSO BRUTO	5,00	4,58 ± 0,52	1,92 ± 0,14	0,25 ± 0,25
FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	0,3125	4,50 ± 0,43	1,08 ± 0,14	2,33 ± 0,72
FRAÇÃO ÁLCOOL N-BUTÍLICO	0,625	5,33 ± 0,29	3,00 ± 0,25	4,58 ± 0,29
FRAÇÃO REMANESCENTE AQUOSO	5,00	0,00	0,00	Não foi avaliado

Tabela 1. Atividade anti-HHV-1 do extrato aquoso e frações do extrato aquoso de *Psychotria carthagenensis* expressa como média da redução do título infeccioso viral ± desvio padrão.

CONCLUSÃO

Através do fracionamento do extrato aquoso da espécie *Psychotria carthagenensis*, conseguiu-se obter na fração n-butanólica um aumento da atividade antiviral e do efeito virucida, indicando maior concentração de substâncias ativas nesta fração. A fração acetato de etila também demonstrou aumento na atividade virucida em relação ao extrato aquoso bruto.

BIBLIOGRAFIA

- BAMBINI, K. S.; ROEHE, P. M.; BORDIGNON, S. A. L.; MONTANHA, J. A. Estudo da atividade antiherpesvirus de extratos vegetais. In: XXI Salão de Iniciação Científica, 2009, Porto Alegre. Livro de Resumos, 2009, p. 159-159.
- BURLESON, F. G.; CHAMBERS, T.M.; WIEDBRAUK, D.L. Virology. A laboratory manual. San Diego: Academic, 1992.
- EKBLAD, M.; BERGSTRÖM, T.; BANWELL, M. G.; BONNET, M.; RENNERT, J.; FERRO, V.; TRYBALA, E. Anti-herpes simplex virus activities of two novel disulphated cyclitols. Antiviral Chemistry & Chemotherapy, v. 17, p. 97 – 106, 2006.
- HUDSON, J.; TOWERS, G. H. N. Phytomedicines as antivirals. Drugs of the Future, v. 24, p. 295 – 320, 1999.
- MIRANDA, M.M.F.S.; GONÇALVES, J.L.S.; ROMANOS, M.T.V.; SILVA, F.P.; PINTO, L.; SILVA, M.H.; EIJZEMBERG, R.; GRANJA, L.F.Z.; WIGG, M.D. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch (Chrysobalanaceae). Phytomedicine 9: 641–645, 2002.
- MONTANHA, J.A.; MOELLERKE, P.; BORDIGNON, S.A.L.; SCHENKEL, E.P.; ROEHE, P.M. Antiviral activity of Brazilian Plant Extracts. Acta Farmaceutica Bonaerense 23 (2): 183-6, 2004.
- MURRAY, P. R. et al. Microbiologia Médica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992.
- SILVA, I. T. da. Triagem anti-herpética de alguns táxons da biodiversidade brasileira: fracionamento biomonitorado de *Cecropia glaziovii* Sneth., Urticaceae (embaúba) 133 P. Dissertação (Mestrado em Farmácia) Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Florianópolis/SC, 2009.
- WALUM E.; STENBERG, K.; JENSSEN, D. Understanding cell toxicology. Principles and practice. New York: Ellis Horwood, 1990.
- WILSON, A.P. Cytotoxicity and Viability Assays. In: FRESHNEY, R.I. (Ed.) Animal cell culture: a practical approach. Oxford: IRL Press, 1986.

AGRADECIMENTOS:

