

# Avaliação do Potencial Antiviral de Derivados de Pirimidina contra o Vírus Chikungunya

*Evaluation of the Antiviral Potential of Pyrimidine Derivatives against Chikungunya Virus*

Melyssa Gabriely Silva<sup>1</sup>, R.P.G. Mendes<sup>1</sup>, P.G. Silva<sup>1</sup>, R.N. Oliveira<sup>2</sup>, B.M. Guimarães<sup>2</sup> e L.J. Pena<sup>1</sup>

1. Instituto Aggeu Magalhães - Fiocruz Pernambuco, Recife, PE, Brasil

2. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil

melyssa.gabrielys@ufpe.br

## Palavras-chave

Antiviral  
Arbovirose  
Chikungunya

## Keywords

Antiviral  
Arbovirus  
Chikungunya

## Resumo:

Responsável por ocasionar diversos surtos e epidemias e gerando fortes impactos para a saúde pública e economia global, o vírus chikungunya(CHIKV) não possui medicamentos ou vacinas aprovadas até o momento. Dessa forma, é imprescindível a descoberta de novos medicamentos para atenuar os impactos ocasionados por CHIKV. Nesse sentido, o presente estudo avaliou a atividade de compostos sintéticos a base de pirimidina contra o CHIKV. Para isso, foram realizados ensaios de citotoxicidade, *screening* antiviral e ensaios antivirais em diferentes estágios de infecção. Os resultados obtidos expressaram que os compostos testados obtiveram uma baixa citotoxicidade, além disso, o *screening* antiviral selecionou dois compostos como os mais promissores contra o chikungunya. No ensaio antiviral de pós-tratamento houve significativa inibição viral, no ensaio de pré-tratamento não houve redução do título do vírus. Tais resultados demonstram que os compostos potencialmente irão atuar na inibição da polimerase viral, durante o estágio de replicação do CHIKV.

## Abstract:

Responsible for causing several outbreaks and epidemics and generating strong impacts on public health and the global economy, the chikungunya virus (CHIKV) has no approved drugs or vaccines to date. Therefore, it is essential to discover new drugs to mitigate the impacts caused by CHIKV. In this sense, the present study evaluated the activity of synthetic pyrimidine-based compounds against CHIKV. For this, cytotoxicity, antiviral screening and antiviral assays at different stages of infection were performed. The results obtained expressed that the tested compounds obtained low cytotoxicity, in addition, the antiviral screening selected two compounds as the most promising against chikungunya. In the post-treatment antiviral assay there was significant viral inhibition, in the pre-treatment assay there was no reduction in the virus titer. These results demonstrate that the compounds will potentially act in the inhibition of the viral polymerase, during the replication stage of CHIKV.

Artigo recebido em: 08.12.2024.

Aprovado para publicação em: 31.01.2025.

## INTRODUÇÃO

O vírus chikungunya (CHIKV) é um *alfavírus* da família *Togoviridae*, composto por RNA de fita simples e com sentido positivo. Sua transmissão aos seres humanos ocorre através de picadas de fêmeas infectadas de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, ou por transmissão vertical (Bartholomeeusen *et al.*, 2023).

A infecção por CHIKV causa uma doença debilitante febril conhecida por febre Chikungunya (CHIKF). Nos últimos anos, diversas epidemias de CHIKV foram relatadas em várias partes do mundo, sendo o Brasil, o epicentro dos surtos ocorridos nas Américas (De Souza *et al.*, 2024).

No entanto, atualmente não existem terapias antivirais, medicamentos ou vacinas aprovadas contra o CHIKV. O presente estudo objetiva avaliar a atividade antiviral na inibição do vírus chikungunya *in vitro* por derivados de pirimidina.

## METODOLOGIA

Seis compostos contendo derivados de pirimidina, foram sintetizados e cedidos gentilmente pelo Laboratório de Síntese de Compostos Bioativos da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Para determinar as concentrações que permitem 50% e 80% da viabilidade celular, o  $CC_{50}$  e  $CC_{20}$ , respectivamente, foram feitos testes de citotoxicidade através do ensaio de MTT, utilizando células Vero CCL-81.

Em seguida, foi realizado o *screening* antiviral para selecionar os compostos mais promissores na inibição do CHIKV. Os compostos com maior atividade antiviral, foram usados nos seus respectivos  $CC_{20}$  e seguiram para as etapas de pré-tratamento e de pós-tratamento, em conjunto com o controle positivo (Ribavirina).

Para isso, utilizou-se placas de 48 poços que foram infectadas utilizando um (MOI) de 0,1. Os tratamentos foram adicionados antes da infecção na cultura celular (pré-tratamento) e após a infecção da cultura celular (pós-tratamento) em diluições seriadas. As placas foram incubadas durante 48 horas e seus sobrenadantes foram coletados e titulados através da metodologia de  $TCID_{50}$ , e assim determinado o índice de seletividade (IS) e de inibição viral ( $IC_{50}$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

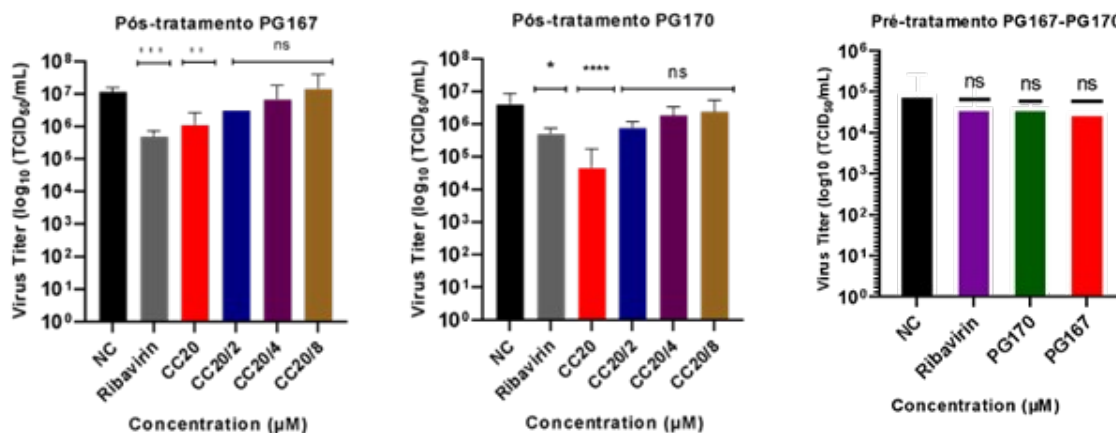
No ensaio de citotoxicidade, o  $CC_{20}$  dos compostos variou entre 209.8 a 1000  $\mu$ M, e o  $CC_{50}$  foi acima de 1000  $\mu$ M para todos os compostos. Tais resultados expressaram que as moléculas pirimídicas demonstraram uma excelente viabilidade celular em células epiteliais. No *screening* antiviral, dos seis compostos pirimídicos testados, o PG167 e PG170 obtiveram os melhores índices na inibição do CHIKV, reduzindo o título viral em 89,58% e 90,52%, respectivamente. No ensaio antiviral de pós-tratamento, houve significativa redução do vírus, com um  $IC_{50}$  de 11.39  $\mu$ M e de 315.2  $\mu$ M para o PG167 e PG170, respectivamente.

O índice de seletividade, foi de 289.02 e 15.09 para o PG167 e PG170. Moléculas promissoras devem manter um alto índice de seletividade, pois é necessário que haja um alto efeito virucida e um baixo efeito citopático.

Nesse sentido, os compostos demonstraram um alto rendimento na inibição do CHIKV na metodologia de pós-tratamento. No ensaio de pré-tratamento, não houve redução do título viral, demonstrando que os derivados de pirimidina agem durante a replicação do CHIKV.

Estudos anteriores já demonstraram a eficácia dos derivados de pirimidina como agentes antivirais para o vírus do HIV-1 com  $IC_{50}$  de 6,65  $\mu$ g/mL (SI = 15,50) e 15,82  $\mu$ g/mL (SI = 14,26) para dois compostos testados (Srivastava *et al.*, 2023). E para o vírus Zika com  $EC_{50}$  de 5,25  $\mu$ M e  $CC_{50}$  de 20,0  $\mu$ M e com redução do título viral de 93% (Soto-Acosta *et al.*, 2021).

Figura 1



**Legenda:** Ensaios antiviral de pós-tratamento e pré-tratamento do PG167 e PG170.

## CONCLUSÕES

Com surtos recorrentes, o CHIKV é um potencial risco para a saúde pública global. A escassez de terapias e tratamentos eficazes torna necessário a busca por compostos promissores.

Os derivados pirimídicos PG167 e PG170, expressaram vasta margem de viabilidade celular e resultados significativos de ação antiviral no pós-tratamento, atuando na replicação do CHIKV podendo ser um futuro candidato para um fármaco antiviral, possivelmente atuando contra outros vírus.

**FINANCIAMENTO:** CNPQ.

**AGRADECIMENTOS:** Agradecemos a Fiocruz Pernambuco pela infraestrutura e a Universidade Federal Rural de Pernambuco pela doação dos compostos.

## REFERÊNCIAS

- BARTHOLOMEEUSEN, Koen *et al.* Chikungunya fever. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 9(17), p.1-21, 2023.
- DE SOUZA, William *et al.* Chikungunya: A decade of burden in the Americas. **The Lancet Regional Health – Americas**, v. 30, p.1-11, 2024.
- SOTO-ACOSTA, Ruben *et al.* 4,7-Disubstituted 7 *H*-Pyrrolo [2,3-*d*]pyrimidines and Their Analogs as Antiviral Agents against Zika Virus. **Molecules**, v.26, p.1-22, 2021.
- SRIVASTAVA, Ritika *et al.* Exploring antiviral potency of N-1 substituted pyrimidines against HIV-1 and other DNA/RNA viruses: Design, synthesis, characterization, ADMET analysis, docking, molecular dynamics and biological activity. **Computational biology and chemistry**, v.106, 2023.

