

Avaliação da atividade antiviral *in vitro* de saponinas de *Quillaja saponaria* Molina frente à Adenovírus humano

INTRODUÇÃO

As infecções virais são um importante problema mundial, especialmente por tais agentes dependerem totalmente da célula hospedeira para sua multiplicação, dificultando o desenvolvimento de fármacos efetivos e com toxicidade aceitável para o tratamento de infecções virais. Dentre esses agentes encontram-se os adenovírus, os quais são responsáveis por 5 a 10% das doenças febris que afetam lactentes e crianças jovens, e podem levar a considerável morbidade, especialmente em indivíduos comprometidos imunologicamente e nutricionalmente. Neste contexto, a possível atividade antiviral de compostos de origem natural tem sido avaliada, como relatado para saponinas de *Quillaja saponaria*, com resultados promissores contra diferentes agentes virais, tais como vírus vaccinia, vírus herpes simplex tipo 1, varicela zoster, vírus da imunodeficiência humana 1 e 2, reovírus e rotavírus.



Figura 1: Folhas de *Q. saponaria*.

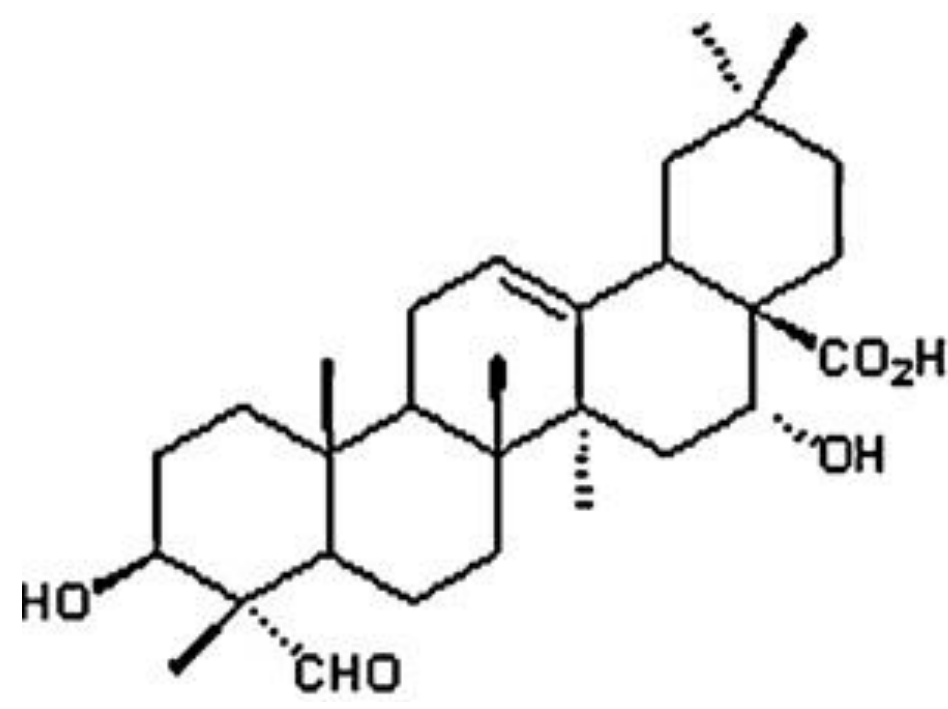


Figura 2: Estrutura química ácido quiláico, aglicona majoritária de saponinas de *Q. saponaria*.

Fonte: <http://farmaciafacimp.xpg.uol.com.br/saponinas.pdf> Fonte: KENSIL, C.R. et al. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. The Journal of Immunology, v.146, n.2, p.431-7, 1991.

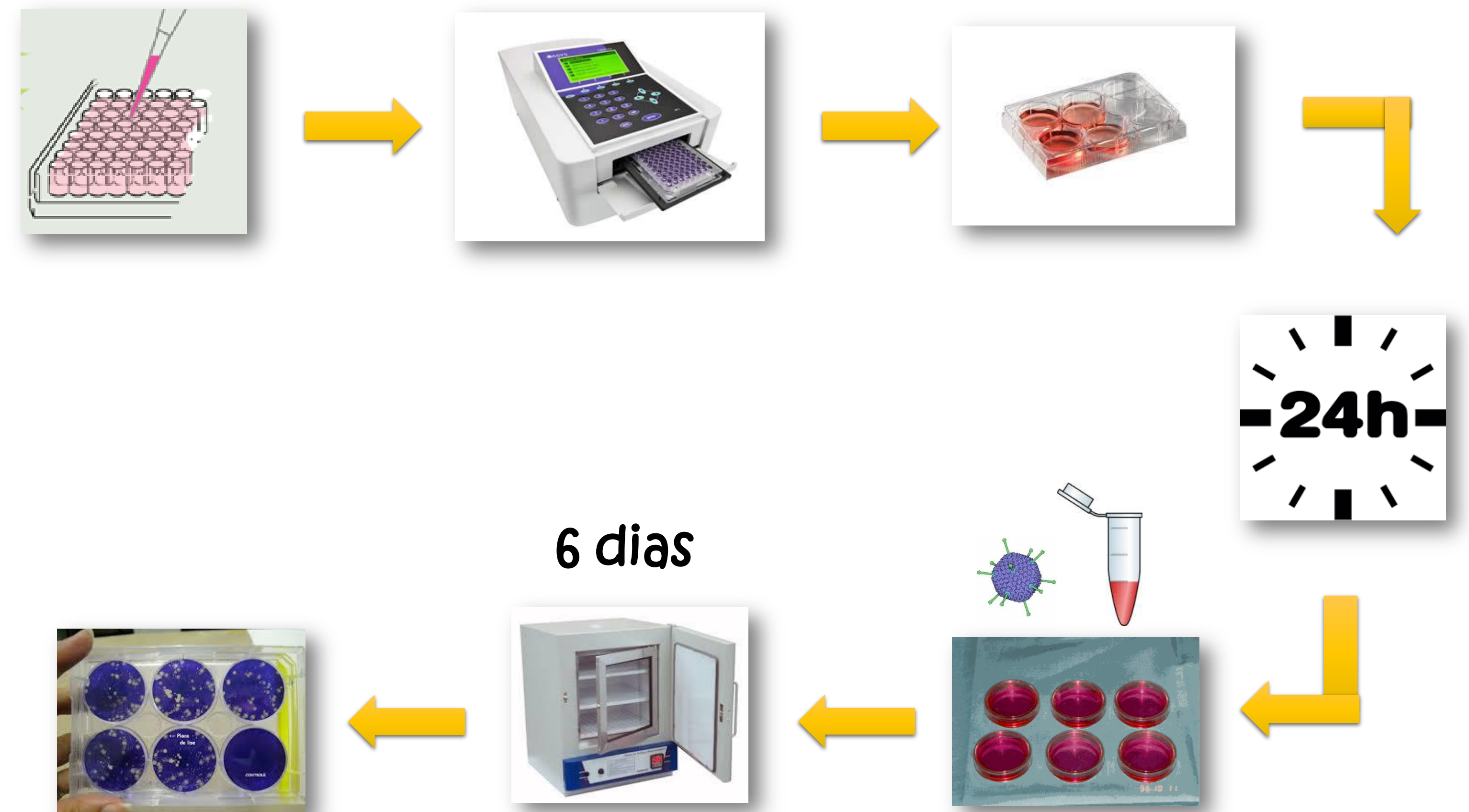
OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi investigar a possível atividade antiviral *in vitro* de uma fração comercial de saponinas obtida a partir de cascas de *Q. saponaria*, contra o adenovírus humano sorotipo 5 (HAdV-5).

METODOLOGIA

Primeiramente foi determinada a máxima concentração não tóxica da fração testada por meio do ensaio de viabilidade celular de MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazólio). Assim, células da linhagem A549 (adenocarcinoma pulmonar humano), linhagem permissiva à HAdV-5, foram expostas a diluições seriadas da fração comercial de saponinas de *Q. saponaria* e a viabilidade mitocondrial, conseqüentemente a viabilidade celular, quantificada pela redução do MTT a cristais de formazano no interior das células, pela atividade de desidrogenases. A quantificação foi realizada através da espectrofotometria devido à mudança de coloração pela formação dos cristais. O teste antiviral foi realizado por meio do ensaio de placa de lise, a fim de determinar a capacidade dessas saponinas em reduzir o número das placas de lise quando comparado ao controle viral. Para tal, microplacas de cultivo de 6 poços foram preparadas com células da linhagem A549. Após 24 h, o meio de cultura foi removido e a seguir adicionados simultaneamente 1 mL de diferentes concentrações não citotóxicas de saponinas de *Q. saponaria* e 500 µL do estoque de HAdV-5 diluído em MEM.

A suspensão viral e o meio de cultura foram empregados como controles de vírus e células, respectivamente. Após o período de incubação (6 dias) todos os poços foram corados com corante Cristal Violeta diluído em água Mili-Q, para visualização das placas de lise. Os focos claros formados nos respectivos poços foram contados e as PFU/mL calculadas. Foram realizadas três repetições independentes tanto para o ensaio de citotoxicidade quanto antiviral.



RESULTADOS

A faixa de concentração não tóxica obtida na avaliação da citotoxicidade foi de 15,63 µg/mL a 0,98 µg/mL, sendo selecionadas para o ensaio antiviral as concentrações de 6 µg/mL, 3 µg/mL e 1,5 µg/mL, após experimentos preliminares. Em todas as concentrações avaliadas foi verificado um aumento do número de placas quando comparado ao controle viral, não sendo observada atividade antiviral nas condições testadas.

DISCUSSÃO

Nas condições testadas não foi observado efeito antiviral da fração comercial de saponinas de *Q. saponaria* contra HAdV-5. Tais resultados diferenciam-se de relatos previamente descritos, nos quais foi verificada atividade antiviral saponinas de *Q. saponaria*, quando avaliadas frente a outros agentes virais. A divergência observada pode estar relacionada às características próprias do HAdV-5 e seu mecanismo de interação com as células.

REFERÊNCIAS

- KENSIL, C.R. et al. Separation and characterization of saponins with adjuvant activity from *Quillaja saponaria* Molina cortex. The Journal of Immunology, v.146, n.2, p.431-7, 1991.
- RONER, M.R. et al. Antiviral activity obtained from aqueous extracts of the Chilean soapbark tree (*Quillaja saponaria* Molina). Journal of General Virology, v. 88, n. 1, p. 275-285, 2007.
- RUSSEL, W.C. Adenoviruses: update on structure and function. Journal of General Virology, v. 90, n. 1, p. 1-20, 2009.