

### 3. Resultados preliminares de investigación: potencial antiviral de compuestos di-halogenados derivados de la L-tirosina contra CHIKV

Vanessa Loaiza-Cano<sup>1</sup>, Manuel Pastrana-Restrepo<sup>2</sup>, Diana Carolina Quintero-Gil<sup>1</sup>, Elkin Galeano<sup>2</sup>, Marlen Martínez-Gutiérrez\*

#### INTRODUCCIÓN

El virus de Chikungunya es un arbovirus emergente, que tras su introducción en Colombia en la última década que generó epidemias en el territorio nacional y los posteriores brotes, lo ha llevado a ser de gran importancia para la salud pública del país. A la fecha, no hay aprobación de vacunas ni antivirales específicos para este virus. Resultados recientes de nuestro grupo de investigación han demostrado que moléculas relacionadas estructuralmente con la L-tirosina inhiben la producción de partículas virales de ZIKV y CHIKV.

#### OBJETIVO GENERAL

Evaluar *in silico* e *in vitro* la actividad y mecanismo antiviral de compuestos di-halogenados derivados L-tirosina contra CHIKV.

#### METODOLOGÍA

Fueron sintetizados y evaluados diez compuestos di-halogenados derivados de L-tirosina (clasificados en cinco grupos por las sustituciones). La citotoxicidad fue determinada por MTT. El tamizaje antiviral (tratamiento pre-trans-post infección dentro de una misma unidad experimental) fue realizado con CHIKV a MOI 5 en células VERO. El efecto inhibitorio fue cuantificado mediante ensayo de plaqueo, las copias genómicas por RT-qPCR, y las proteínas virales por Cell ELISA. La evaluación *in silico* se realizó por acoplamiento molecular con dos proteínas virales (una estructural –Envoltura– y una no estructural –NS2–) con AutodockVINA<sup>®</sup> y análisis por PMV<sup>®</sup> y Ligplot<sup>®</sup>, y modelación de toxicidad con ADMET Predictor<sup>®</sup>. Los datos fueron analizados por la prueba paramétrica de *t*-student, considerando

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales. Universidad Cooperativa de Colombia (GRICA). Bucaramanga. Colombia.

<sup>2</sup> Grupo de Productos Naturales Marinos. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia.

\* Correspondencia: Marlen Martínez-Gutiérrez; marlen.martinezg@campusucc.edu.co

Proyecto financiado por COLCIENCIAS No. 141577757439.

para todos los casos diferencias estadísticamente significativas con un valor  $p < 0,05$ .

#### RESULTADOS

Los diez compuestos mostraron citotoxicidad inferior al 10% a  $250\mu\text{M}$ . Todos los compuestos mostraron actividad anti-CHIKV en células VERO, siendo los del grupo B los de mayor inhibición. Estos compuestos pertenecientes al grupo B, inhibieron el número de copias genómicas de CHIKV mientras otros compuestos no lo hicieron. Estas diferencias dentro y entre los grupos, demuestran la relevancia de las diferentes sustituciones en los grupos funcionales. Los resultados *in silico* mostraron que la energía de unión de los compuestos y las proteínas virales estuvieron entre  $-5.0$  y  $-5.5$  Kcal/mol, para proteína de envoltura y  $-5.3$  y  $-5.8$  Kcal/mol, para proteína NS2, siendo las interacciones más relevantes las de tipo hidrofóbico que la formación de puentes de hidrógeno. Los modelos de toxicidad *in silico* estimaron que los compuestos menos tóxicos son los del grupo A, a pesar de esto la toxicidad acumulada de todos los compuestos fue baja.

#### CONCLUSIÓN

Todos los compuestos di-halogenados derivados de la L-Tirosina tienen potencial antiviral contra CHIKV en células VERO, pero los compuestos del grupo B tienen el mejor potencial. Los estudios *in vitro* e *in silico* en curso permitirán evaluar el mecanismo antiviral involucrado en la inhibición de las partículas virales y hallar el compuesto antiviral más promisorio.

#### REFERENCIAS

1. Health Information Platform for The Americas (PLISA) [internet]. EE. UU: OPS;1997. [Consultado 2019 Octubre 25]. Disponible en: Available from: <https://bit.ly/2KlqI4G>
2. Carrillo-Hernández MY, Ruiz-Saenz J, Jaimes-Villamizar L, Gómez-Rangel SY, Martínez-Gutiérrez M. Circulation and simultaneous co-infection of dengue, chikungunya, and zika viruses in patients with febrile syndrome at the Colombian-Venezuelan border. BMC Infect Dis. 2018;18:61.
3. Gómez Rangel SY, Sánchez K, Lemus A, Chaustre M, Galeano E, Martínez-Gutiérrez M. Estudio del efecto inhibitorio de halo-tirosinas sobre la replicación *in vitro* del Virus Dengue. UDES. 2016;3(1. S1).

4. Pastrana Restrepo M, Galeano Jaramillo E, Martínez Martínez A, Robledo Restrepo A. Synthesis and trypanocide activity of chloro-L-tyrosine and bromo-L-tyrosine derivatives. *Medicinal Chemistry Research*. 2018;27:1-12.
5. Gómez-Calderón C, Mesa-Castro C, Robledo S, Gómez S, Bolívar-Avila S, Díaz-Castillo F. Antiviral effect of compounds derived from the seeds of *Mammea americana* and *Tabernaemontana cymosa* on Dengue and Chikungunya virus infections. *BMC Complement Altern Med*, 2017;17(1):57.
6. Rincón V, Corredor A, Martínez-Gutiérrez M, Castellanos JE. Fluorometric cell-ELISA for quantifying rabies infection and heparin inhibition. *J Virol Methods*. 2005;127(1):33-39.
7. Sanner MF. Python: a programming language for software integration and development. *J Mol Graph Model*. 1999;17(1):57-61.
8. Lavi A, Ngan CH, Movshovitz-Attias D, Bohnuud T, Yueh C, Beglov D, Schueler-Furman O. Detection of peptide-binding sites on protein surfaces: the first step toward the modeling and targeting of peptide-mediated interactions. *Proteins*. 2013;81(12):2096-2105.
9. Trott O, Olson A. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31(2):455-61.
10. Max W, Chang W, Lindstrom A, Olso J, Belew RK. Analysis of HIV Wild-Type and Mutant Structures via in Silico Docking against Diverse Ligand Libraries. *J. Chem. Inf. Model*. 2007;47(3):1258-62.
11. El-Saadi MW, Williams-Hart T, Salvatore BA, Mahdavian E. Use of in-silico assays to characterize the AD-MET profile and identify potential therapeutic targets of fusarochromanone, a novel anti-cancer agent. In *Silico Pharmacol*. 2015;3:6.