

Evaluación *In vitro* e *In Silico* de la actividad antiviral contra el VIH-1 de compuestos sintéticos derivados de productos naturales marinos de Colombia

Maria S. Serna-Arbelaez¹, Vanessa Loaiza-Cano³,
Marlen Martínez-Gutiérrez³, Elkin Galeano⁴, Wildeman Zapata^{1,2}

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La infección causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) se considera como uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Actualmente, casi 38 millones de personas están infectadas con el virus, alrededor del 35% de estas no reciben tratamiento antirretroviral y en promedio un millón de personas mueren cada año por enfermedades relacionadas con el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

El complejo y exitoso ciclo de vida del VIH-1 hace imposible su eliminación del hospedero de forma natural por medio del sistema inmune, y hasta el momento no hay una vacuna efectiva contra el virus, lo que hace necesario el uso de la terapia antirretroviral (TAR). Esta terapia consiste en el uso combinado de tres o más medicamentos que disminuye la carga viral y aumenta el recuento de linfocitos T CD4+, reduciendo así la morbilidad por enfermedades relacionadas con el SIDA.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido al acceso limitado a la TAR, los efectos secundarios asociados y la resistencia que el virus puede generar a esta terapia, se continúa con la búsqueda de compuestos que inhiban la replicación viral, con pocos o ningún efecto colateral y de fácil acceso para la población infectada.

1 Grupo Infettare, Facultad de Medicina, Universidad Cooperativa de Colombia, Medellín, Colombia.

2 Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia UdeA, Medellín, Colombia.

3 Grupo de Investigación en Ciencias Animales-GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia.

4 Productos Naturales Marinos, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia UdeA, Medellín, Colombia.

Suleny.serna@udea.edu.co

Financiación: COLCIENCIAS (código14157757439).

Considerando la necesidad de adoptar nuevos enfoques terapéuticos y teniendo en cuenta la biodiversidad que existe a nivel mundial, los productos naturales han despertado especial interés. En este sentido, el Grupo Productos Naturales y marinos encontró múltiples compuestos bromados derivados de la tirosina, los cuales demostraron actividad contra el VIH-1 *in vitro*. Posteriormente, el grupo realizó la síntesis de diferentes compuestos halogenados de la L-tirosina, con diferentes sustituciones, relacionados estructuralmente con los compuestos previamente aislados, por lo cual es necesario evaluar su actividad contra el VIH-1.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antiviral *In vitro* e *In silico* contra el VIH-1 de compuestos sintéticos derivados de productos naturales marinos de Colombia.

METODOLOGÍA

Se analizarán 24 compuestos, los cuales fueron hemisintetizados por el Grupo de Productos Naturales Marinos.

Inicialmente se realizará *in silico* el acoplamiento molecular entre las proteínas virales y los compuestos, usando el software Autodock Vina®. Posteriormente, los compuestos serán evaluados en ensayos de citotoxicidad (ensayo de MTT en células U373-MAGI) y adicionalmente, se hará una modelación toxicológica de las moléculas usadas en el estudio usando el software ADMET Predictor® v8 de Simulation Plus.

Para la determinación del efecto antiviral, se realizará una estrategia combinada antiviral (PRE/TRANS/POST-tratamiento) en células U373 infectadas con un virus recombinante que contiene el gen reportero GFP (HIV-GFP) y tratadas con concentraciones no citotóxicas de cada compuesto; a continuación, los sobrenadantes y las células serán recolectados para ser procesados por la técnica de ELISA para la proteína viral p24 y detección de GFP por citometría de flujo para cuantificar el porcentaje de infección viral.

Los compuestos que resulten promisorios según los análisis *in silico*, de citotoxicidad y en la estrategia combinada, serán evaluados para determinar la actividad antiviral mediante la evaluación de la inhibición de la replicación, transcripción reversa (TR), importe nuclear y la entrada del VIH-1.

Finalmente, se realizará un análisis estadístico multivariado para visualizar el potencial como fármaco de los compuestos más promisorios, con el fin de proponer compuestos tipo lead para implementar estudios de fase pre-clínica en el desarrollo farmacéutico.

RESULTADOS ESPERADOS

Se espera identificar compuestos tipo Lead que actúen inhibiendo los diferentes pasos del ciclo replicativo del VIH-1, que sean promisorios para el desarrollo de alternativas farmacéuticas en el tratamiento de la infección por el VIH-1.

RESULTADOS OBTENIDOS

Hasta el momento se ha logrado amplificar los plásmidos (pYU2, pHXB2 y pVSV.G), que se utilizarán para la producción de virus recombinantes, necesarios para llevar a cabo los demás experimentos.

Se realizaron los análisis *in silico* de acoplamiento molecular para todos los compuestos con las proteínas gp120, gp41, transcriptasa reversa (TR), proteasa, integrasa, p24 y p17 del VIH-1 obteniéndose para todos, una energía de unión negativa, la cual se consideró fisicoquímicamente favorable. Las mejores energías de unión fueron obtenidas con la proteasa ($-6,0 \pm 0,082$ y $-7,6 \pm 0,00$ kcal/mol) ($n=3$) y con la TR ($-6,03 \pm 0,05$ y $-7,2 \pm 0,00$ kcal/mol) ($n=3$). También, se realizó la evaluación toxicológica *in silico* donde se observó una toxicidad mayor en los compuestos derivados de la tiramina; mientras que en las L-tirosinas fenólicas se encontró una toxicidad menor.

CONCLUSIONES PRELIMINARES

Los compuestos di-halogenados derivados de la L-tirosina presentan energías de unión favorables con las proteínas virales del VIH-1, especialmente con la transcriptasa reversa y la proteasa. Asimismo, estos compuestos presentan una toxicidad *in silico* baja. Es necesario realizar los estudios *in vitro* que permitan determinar una posible actividad antiviral.

PALABRAS CLAVES

Virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1), Compuestos Derivados De L-Tirosina, Antiviral, Terapia Antirretroviral, Acoplamiento Molecular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Deeks SG, Lewin SR, Havlir D V. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *Lancet*. 2013;382(9903):1525–33.

- UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — 2019 fact sheet [Internet]. [unaids.org](https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet). 2019. p. 6. Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
- Laskey SB, Siliciano RF. A mechanistic theory to explain the efficacy of antiretroviral therapy. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 2014;12(11):772–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro3351>
- WHO. Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV [Internet]. World Health Organization; 2015. Available from: <http://aplicacionesbiblioteca.udea.edu.co:2084/books/NBK327115/>
- King D, Tomkins S, Waters A, Easterbrook PJ, Thurnmond LM, Thorborn DE, et al. Intracellular cytokines may model immunoregulation of abacavir hypersensitivity in HIV-infected subjects. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115(5):1081–7.
- Stekler J, Maenza J, Stevens C, Holte S, Malhotra U, McElrath MJ, et al. Abacavir hypersensitivity reaction in primary HIV infection. *Aids* [Internet]. 2006;20(9):1269–74. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16816555
- Peters BS, Conway K. Therapy for HIV: past, present, and future. *Adv Dent Res*. 2011;23(1):23–7.
- Kolber MA, Saenz MO, Tanner TJ, Arheart KL, Pahwa S, Liu H. Intensification of a suppressive HAART regimen increases CD4 counts and decreases CD8+ T-cell activation. *Clin Immunol*. 2008;126(3):315–21.
- Menendez-Arias L. Targeting HIV: antiretroviral therapy and development of drug resistance. *Trends Pharmacol Sci* [Internet]. 2002;23(8):381–8. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12377580
- Kozisek M, Bray J, Rezacova P, Saskova K, Brynda J, Pokorna J, et al. Molecular analysis of the HIV-1 resistance development: enzymatic activities, crystal structures, and thermodynamics of nelfinavir-resistant HIV protease mutants. *J Mol Biol* [Internet]. 2007;374(4):1005–16. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17977555
- Gómez-Archila LG, Zapata W, Díaz FJ, Rugeles MT, Galeano E, Martínez A. Bromotyrosine derivatives from marine sponges inhibit the HIV-1 replication *in vitro*. *Vitae*. 2014;21(2):114–25.