

Identificación de compuestos antiarbovirus mediante bioprospección de plantas nativas colombianas de la familia solanaceae y análisis metabolómico de la respuesta celular frente al efecto antiviral

Erika Vanessa Jiménez-Posada^{1,2}, Sara Robledo²,
Marlen Martínez-Gutiérrez¹

INTRODUCCIÓN

Las epidemias generadas por los virus (ZIKV, DENV, CHIKV) han sido declaradas emergencia de salud pública global, ya que no existen tratamientos específicos para estas enfermedades. La mayor fuente de moléculas de interés farmacológico han sido los productos naturales, y a pesar de la biodiversidad de Colombia, existen pocos estudios que evalúan su potencial antiviral. La familia Solanaceae está ampliamente distribuida en la región andina, incluyendo el departamento de Risaralda y se caracteriza por tener abundantes alcaloides esteroidales y compuestos fenólicos, los cuales en estudios recientes de antivirales desarrollados por nuestro grupo de investigación han mostrado su potencial antiviral.

OBJETIVO

Evaluar el potencial antiviral *in vitro* de compuestos obtenidos por bioprospección de plantas nativas de la región cafetera de Colombia pertenecientes a la familia Solanaceae y su efecto sobre la respuesta celular mediante metabolómica.

METODOLOGÍA

Se eligieron ocho extractos de la extractoteca del Grupo de investigación de Biotecnología y productos Naturales de la Universidad Tecnológica de Pereira (contrato de acceso a recurso genético 237). Para todos los experimentos se utilizarán células

VERO, las infecciones se harán con cepas (DENV-2/NG, CHIKV/ACol y ZIKV/Col). La toxicidad de cada extracto se evaluará por el método MTT en diluciones seriadas (500 $\mu\text{g/mL}$ a 7,8 $\mu\text{g/mL}$). El potencial antiviral de los extractos, las fracciones y los compuestos (caracterizados por resonancia magnética nuclear) se determinará con una estrategia antiviral combinada, cuantificando el número de partículas virales infecciosas por plaqueo en sobrenadantes. En todos los casos se usará un control positivo de inhibición. Una vez se hayan caracterizados los compuestos presentes en las fracciones más activas, se hará la evaluación *In Silico* de docking molecular (con proteínas estructurales y no estructurales de cada uno de los arbovirus del estudio) usando el software Autodock Vina. El mecanismo de acción antiviral *in vitro*, de los compuestos más afines a las proteínas virales, se establecerá usando estrategias las estrategias de pretratamiento (entrada del virus a la célula), trans-tratamiento (virucida) y post tratamiento (efecto antiviral después de internalización). Finalmente, se caracterizará por espectrometría de masas la respuesta metabólica en de la línea celular en presencia de por lo menos un compuesto antiviral efectivo. Todos los ensayos *in vitro* se harán por triplicados de dos experimentos independientes (n:6)

Las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se establecerán por t-Student o U de Mann-Whitney, de acuerdo con la homogeneidad de las varianzas y normalidad de los datos. Los datos metabolómicos serán normalizados y analizados por técnicas multivariadas no supervisadas (PCA, HEATMAPS) para identificar expresión diferencial, y supervisadas (PLS-DA, randomforest) para establecer los metabolitos responsables de estas variaciones en el software R Studio. La identificación de los metabolitos se hará por comparación de los perfiles de fragmentación (NIST, GMDB) y la inferencia de las rutas metabólicas afectadas se hará en la base de datos KEGG.

RESULTADOS PRELIMINARES

Hasta el momento se ha determinado la citotoxicidad de los extractos de las ocho especies del estudio. Se eligieron para ensayos posteriores concentraciones con toxicidad baja (menor al 20%). Con ellas se realizó el tamizaje de estrategia combinada encontrando-

¹ Grupo de Investigación en Ciencias Animales-GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia

² Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Universidad de Antioquia.

Dirección de correspondencia: martinezg@campusucc.edu.co

Proyecto financiado por Universidad Cooperativa de Colombia. INV 2875.

Beca de excelencia doctoral del bicentenario del FCTel del SGR

se que cinco de las ocho especies tuvieron actividad antiviral frente a CHIKV, siendo las especies *Cestrum* sp y *Solanum ovalifolium* Dunal las de mayor potencial actividad, con porcentajes de inhibición de 94,2 % y 100 %, respectivamente. Adicionalmente se está realizando el tamizaje con los otros dos arbovirus del estudio (ZIKV y CHIKV).

PALABRAS CLAVE

Antiviral, Bioprospección, Infecciones por Arbovirus, metabolómica, Solanaceae.

REFERENCIAS[1-17]

- Mushtaq, M.Y., et al., *Extraction for metabolomics: access to the metabolome*. Phytochemical Analysis, 2014. 25(4): p. 291-306.
- Guido, R.V.C., A.D. Andricopulo, and G. Oliva, *Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas*. Estudos Avançados, 2010. 24: p. 81-98.
- Braz Filho, R., *Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente*. Química Nova, 2010. 33: p. 229-239.
- Estoppey, D., et al., *The Natural Product Cavinafungin Selectively Interferes with Zika and Dengue Virus Replication by Inhibition of the Host Signal Peptidase*. Cell Rep, 2017. 19(3): p. 451-460.
- Beckham, J.D. and K.L. Tyler, *Arbovirus Infections*. Continuum (Minneapolis, Minn.), 2015. 21(6 Neuroinfectious Disease): p. 1599-1611.
- Wilder-Smith, A., et al., *Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health*. The Lancet Infectious Diseases, 2017. 17(3): p. e101-e106.
- GUBLER, D.J., *Human Arbovirus Infections Worldwide*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2001. 951(1): p. 13-24.
- Qu, Y., et al., *Effects of socio-economic and environmental factors on the spatial heterogeneity of dengue fever investigated at a fine scale*. Geospat Health, 2018. 13(2).
- Mishra, S., A. Pandey, and S. Manvati, *Coumarin: An emerging antiviral agent*. Heliyon, 2020. 6(1): p. e03217.
- Zandi, K., et al., *Novel antiviral activity of baicalein against dengue virus*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012. 12(1): p. 1185-1185.
- Voge, N.V., et al., *Metabolomics-Based Discovery of Small Molecule Biomarkers in Serum Associated with Dengue Virus Infections and Disease Outcomes*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 2016. 10(2): p. e0004449-e0004449.
- Newman, D.J. and G.M. Cragg, *Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010*. Journal of natural products, 2012. 75(3): p. 311-335.
- N., et al., *Antibacterial, antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species*. 2017.
- Mosquera, O., Y. Correa, and J. Niño, *Antibacterial activity of some Andean Colombian plants*. Pharmaceutical biology, 2004. 42(7): p. 499-503.
- Martinez-Gutierrez, M., et al., *Lovastatin delays infection and increases survival rates in AG129 mice infected with dengue virus serotype 2*. PloS one, 2014. 9(2): p. e87412.
- Arthan, D., et al., *Antiviral isoflavonoid sulfate and steroidal glycosides from the fruits of Solanum torvum*. Phytochemistry, 2002. 59(4): p. 459-463.
- Perez, R.M., *Antiviral Activity of Compounds Isolated From Plants*. Pharmaceutical Biology, 2003. 41(2): p. 107-157.