

## Actividad antiviral *in vitro* frente a arbovirus de extractos metanólicos obtenidos de plantas nativas de la región cafetera pertenecientes a la familia Solanaceae

Erika Vanessa Jiménez-Posada<sup>1,2</sup>, Sara Robledo<sup>2</sup>,  
Marlen Martínez-Gutiérrez<sup>1</sup>

### RESUMEN

**Introducción:** Las infecciones virales transmitidas por artrópodos han generado estados de emergencia de salud pública mundial, entre ellos (ZIKV, DENV, CHIKV). Actualmente, no existen antivirales específicos para tratar estas enfermedades. La mayor fuente de moléculas de interés farmacológico ha sido los productos naturales, principalmente las plantas, y a pesar de la biodiversidad de Colombia, existen pocos estudios que evalúan su potencial antiviral. La familia Solanaceae está distribuida en la región andina, incluyendo la región cafetera. Esta familia ha tenido un rol muy importante agroalimentario y en la salud humana desde tiempos antiguos y su riqueza química es tal, que aún se reportan nuevas moléculas en especies cultivables y silvestres. Contiene moléculas de tipo esférica, alcaloides, terpenos y compuestos fenólicos. Este tipo de moléculas han sido analizadas desarrolladas por nuestro grupo de investigación en estudios recientes de antivirales, demostrando un alto potencial antiviral.

**Objetivo:** el objetivo de este estudio fue evaluar el potencial antiviral de extractos metanólicos obtenidos de plantas pertenecientes a la familia Solanaceae, nativas del departamento de Risaralda (Colombia), frente a los virus DENV, ZIKV y CHIKV.

**Metodología:** a partir de plantas colectadas (Acceso N° 237) en zonas de reserva de la región cafetera, se eligieron ocho extractos metanólicos de acuerdo con estudios previos de caracterización fitoquímica y

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales-GRICA, Universidad Cooperativa de Colombia

<sup>2</sup> Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales-PECET, Universidad de Antioquia.

Correspondencia: Marlen Martínez; martinezg@campusucc.edu.co

Proyecto financiado por Universidad Cooperativa de Colombia. INV 2875.

bioactividad. Los extractos activos fueron caracterizados por CCD y fraccionados por gradiente de polaridad creciente (n-hexano, acetato de etilo y metanol) utilizando embudo sinterizado con una capa de sílica como soporte. La fracciones obtenidas fueron colectadas, concentradas a presión reducida, secadas con flujo de nitrógeno y conservadas a -20° C.

En los ensayos de actividad antiviral se usó la cepa de referencia (DENV-2/S16803) y dos aislados clínicos colombianos de (ZIKV/Col y CHIKV/Col). Todos los análisis se realizaron en líneas celulares VERO (ATCC® CCL-81) que se mantuvieron en medio DMEM suplementado.

Para determinar la toxicidad, se sembraron  $3 \times 10^4$  células VERO en placas de 96 pozos, a las 24 h se adicionaron diluciones seriadas ( $500 \mu\text{g/mL}$  a  $7,8 \mu\text{g/mL}$ ) de los extractos o fracciones. Tras un periodo de incubación de 48 h, se retiraron los tratamientos y se realizó el ensayo de MTT, midiendo la absorbancia a 490 nm. Se usaron como control del 100 % de viabilidad células sin exposición.

El potencial de los extractos se determinó con una estrategia antiviral combinada. En placas de 48 pozos se sembraron  $6 \times 10^4$  células/pozo y tras 24 h de incubación se adicionaron los extractos a la concentración elegida (viabilidad  $\geq 80\%$ ), tras 24 h se retiró el tratamiento y se adicionó el inóculo que consistió en una mezcla 1:1 de extracto y virus. A las 2 h.p.i. se retiró el inóculo y se adicionó medio fresco. Al día siguiente se colectaron las monocapas y los sobrenadantes y se almacenaron a -80°C para cuantificar las partículas virales infecciosas por el método de plaqueo. En todos los casos se usó un control positivo de inhibición (ribavirina o heparina). Las diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos se establecieron por t-Student o U de Mann-Whitney, de acuerdo con la homogeneidad de las varianzas y normalidad de los datos.

**Resultados:** a partir de la toxicidad de los extractos de *Solanum trachycyphum* Bitter, *Solanum cf extensum*, *Cestrum* sp, *Dunalia solanacea* Kunth, *Lycianthes radiata* (Sendtn.) Bitter, *Solanum ovalifolium* Dunal, *Solanum deflexiflorum* Bitter, y *Solanum leucocarpum* Dunal se eligieron concentraciones con viabilidad superior al 80 % para los análisis de actividad antiviral (7,8, 62,5, 500, 250, 62,5, 62,5, 3,9  $\mu\text{g/mL}$ ), respectivamente.

De las ocho especies, cinco tuvieron actividad antiviral frente a ZIKV y DENV y cuatro frente a CHIKV, siendo las especies *Cestrum* sp y *S. ovalifolium* las más promisorias, con porcentajes de inhibición superiores al 94% frente a los tres arbovirus. En los extractos activos se caracterizaron quince núcleos fitoquímicos, encontrando compuestos de tipo esteroideal, alcaloides, terpenos, polifenoles y saponinas. Adicionalmente, se obtuvieron seis fracciones de cada extracto, y, a partir de los resultados de toxicidad se eligió la concentración de 125 µg/mL para análisis posteriores.

**Perspectivas:** evaluar la actividad antiviral de las fracciones, elucidar las moléculas presentes en la fracción más activa y establecer mecanismos de acción con herramientas *in silico* e *in vitro*.

#### PABLARAS CLAVE

Antivirales, Bioprospección, Solanaceae, Virus Del Dengue, Infección Por El Virus Del Zika, Infección Por El Virus Chikungunya.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Guido, R.V.C., A.D. Andricopulo, and G. Oliva, *Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas*. Estudos Avancados, 2010. **24**: p. 81-98.
- 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.
- 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.
- 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.
- Monsalve-Escudero, L.M., Loaiza-Cano, V., Pájaro-González, Y. et al. Indole alkaloids inhibit zika and chikungunya virus infection in different cell lines. *BMC Complement Med Ther* **21**, 216 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03386-z>