

Actividad antiviral *in vitro* e *in silico* de compuestos di-halogenados derivados de L-tirosina contra el virus de la Inmunodeficiencia Humana 1 (VIH-1)

Maria S. Serna-Arbelaez¹, Vanessa Loaiza-Cano²,
Marlen Martínez-Gutiérrez², Jaime A. Pereañez⁴,
Elkin Galeano⁵, Wildeman Zapata^{1,3}

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. Como resultado de investigaciones realizadas por el Grupo Productos Naturales y marinos se han encontrado múltiples compuestos bromados derivados de la tirosina, los cuales demostraron actividad anti-VIH-1. 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 di-halogenados derivados de L-tirosina.

Metodología

Se evaluó *in silico* el acoplamiento molecular de 24 compuestos con cinco proteínas virales usando Autodock Vina® y la modelación toxicológica se realizó con ADMET Predictor®. La citotoxicidad *in vitro* fue determinada por MTT en la línea celular T2M-bl. Se realizó una estrategia combinada (tratamiento pre y post infección) en células T2M-bl, durante 48 hpi con VIH-1 (cepas R5 y X4) a una concentración de p24 de 2ng/mL y 10ng/mL, respectivamente. El efecto inhibitorio fue cuantificado mediante la actividad de la luciferasa. Se determinará la inhibición de la replicación, transcripción reversa (TR) e importe nuclear del VIH-1; para esto, el ADN de las células infectadas y tratadas con los compuestos será extraído y por medio de una PCR en tiempo real se cuantificarán los productos tempranos y tardíos de la TR y los círculos 2-LTR. Por otra parte, se determinará si estos compuestos inhiben la entrada del VIH-1 empleando virus recombinantes; se cuantificará la infectividad de los viriones mediante citometría de flujo para GFP y ELISA para p24. 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 preliminares

Se observó una menor toxicidad *in silico* e *in vitro* de los compuestos derivados de las L-tirosinas con el OH libre comparado con los compuestos derivados de la tiramina. Los resultados *in silico* mostraron una energía

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

² Grupo de Investigación en Ciencias Animales-GRICA, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga, Colombia.

³ Grupo Inmunovirología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia UdeA, Medellín, Colombia.

⁴ Grupo Toxinología, alternativas terapéuticas y alimentarias, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia UdeA, Medellín, Colombia.

⁵ Productos Naturales Marinos, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia UdeA, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Suleny.serna@udea.edu.co

Financiación: COLCIENCIAS (código14157757439)

de unión favorable entre los 24 compuestos y las proteínas virales evaluadas, principalmente con la proteasa y la transcriptasa reversa. Tres compuestos inhibieron de manera significativa la infección por VIH-1 (cepa X4); TODC-2M y TODB-2M a una concentración de 150 μ M con un porcentaje de inhibición del 99,6% y 95,9%, respectivamente; y YODB-3M a 75 μ M con un porcentaje de inhibición del 20%. Además, dos de los compuestos mostraron actividad antiviral frente al VIH-1 (cepa R5), el TODC-2M a una concentración de 150 μ M con un porcentaje de inhibición del 55,2% y el TODC-3M a 300 μ M con un porcentaje de inhibición del 51,9%.

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, se observó una menor toxicidad *in silico* e *in vitro* de los compuestos derivados de las L-tirosinas con el OH libre. Se encontró correlación entre los resultados *in silico* y los ensayos *in vitro* de los derivados de la L-tirosina, observando actividad anti-VIH-1 en cuatro de los compuestos evaluados.

PALABRAS CLAVE

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

KEYWORDS

Human Immunodeficiency Virus-1 (HIV-1), Human immunodeficiency virus-1 (HIV-1), L-Tyrosine, Antiviral, Antiretroviral therapy, Molecular docking.

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.
2. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — 2019 fact sheet [Internet]. *unaids.org*. 2019. p. 6. Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
3. 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>

4. 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/>
5. King D, Tomkins S, Waters A, Easterbrook PJ, Thurmond 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.
6. 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
7. Peters BS, Conway K. Therapy for HIV: past, present, and future. *Adv Dent Res*. 2011;23(1):23–7.
8. Costa P, Rusconi S, Mavilio D, Fogli M, Murdaca G, Pende D, et al. Differential disappearance of inhibitory natural killer cell receptors during HAART and possible impairment of HIV-1-specific CD8 cytotoxic T lymphocytes. [Internet]. Vol. 15, *AIDS* (London, England). 2001. p. 965–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11399978>
9. 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.
10. 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
11. 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
12. 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.