



XVIII Simposio Internacional Sobre Enfermedades Desatendidas

Actividad inhibitoria del alcaloide natural berberina y de derivados sintéticos del harmol frente al virus dengue 2

Julieta S. Alperín, Jesús E. Brunetti, María A. Ponce y Viviana Castilla

Laboratorio de Virología, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires.

viviana@qb.fcen.uba.ar

Introducción

El virus del dengue (DENV) es un arbovirus perteneciente a la familia *Flaviviridae*, transmitido al hombre por mosquitos del género *Aedes*. Los cuatro serotipos virales (DENV1-4) son causantes de una enfermedad febril aguda, benigna y auto-limitada (fiebre del dengue) o de formas clínicas más severas potencialmente letales y hasta el momento no se dispone de antivirales específicos para su tratamiento. En trabajos previos hemos demostrado la capacidad de diferentes alcaloides naturales y sintéticos de inhibir la multiplicación de DENV en cultivos celulares. Uno de los compuestos activos frente a los cuatro serotipos de DENV es el harmol, una β -carbolina de origen vegetal. Asimismo, recientemente se ha reportado que otro alcaloide, la berberina, obtenido a partir de diferentes especies de plantas medicinales, exhibe actividad antiviral frente a diversos virus. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad antiviral de derivados sintéticos del harmol y del compuesto berberina sobre la multiplicación de DENV-2 en cultivos de células Vero.

Materiales y Métodos

La citotoxicidad de los compuestos se evaluó por el método del MTT determinándose la concentración citotóxica 50 (CC_{50}), concentración de compuesto que reduce la viabilidad celular en un 50%. La actividad antiviral se investigó mediante ensayos de inhibición del rendimiento viral determinándose la concentración efectiva 50 (CE_{50}), concentración de compuesto que reduce el rendimiento viral en un 50%. En el ensayo de actividad virucida alícuotas del stock viral se incubaron con los diferentes compuestos y luego se cuantificó la infectividad remanente por el método de formación de placas. El efecto de los compuestos activos sobre la expresión de la glicoproteína viral E se determinó mediante ensayos de inmunofluorescencia.

Resultados

Actividad citotóxica y antiviral del harmol y sus derivados y de la berberina

| Compuesto | Fórmula | CC_{50} (μM) | CE_{50} (μM) | IS |
|---------------------------|---------|-----------------------|-----------------------|----------|
| harmol | | 203,3 \pm 1,2 | 3,3 \pm 0,4 | 61,3 |
| 6-bromobenzoilharmol | | 146,7 \pm 2,2 | 4,7 \pm 1,2 | 31,5 |
| 6-clorobenzoilharmol | | 57,5 \pm 1,4 | 2,2 \pm 1,1 | 26,4 |
| 3,6-dibromobenzoilharmol | | > 68,5 | 6,5 \pm 1,1 | > 10,5 |
| 3,6-dinitrovaleroilharmol | | > 4,0 | > 4,0 | inactivo |
| berberina | | 55,1 \pm 1,2 | 2,9 \pm 1,1 | 19,1 |

Tabla 1: CC_{50} : concentración citotóxica 50; CE_{50} : concentración efectiva 50. El índice de selectividad (IS) se calculó como el cociente CC_{50}/CE_{50}

Efecto de los derivados de harmol y berberina sobre la multiplicación de DENV-2

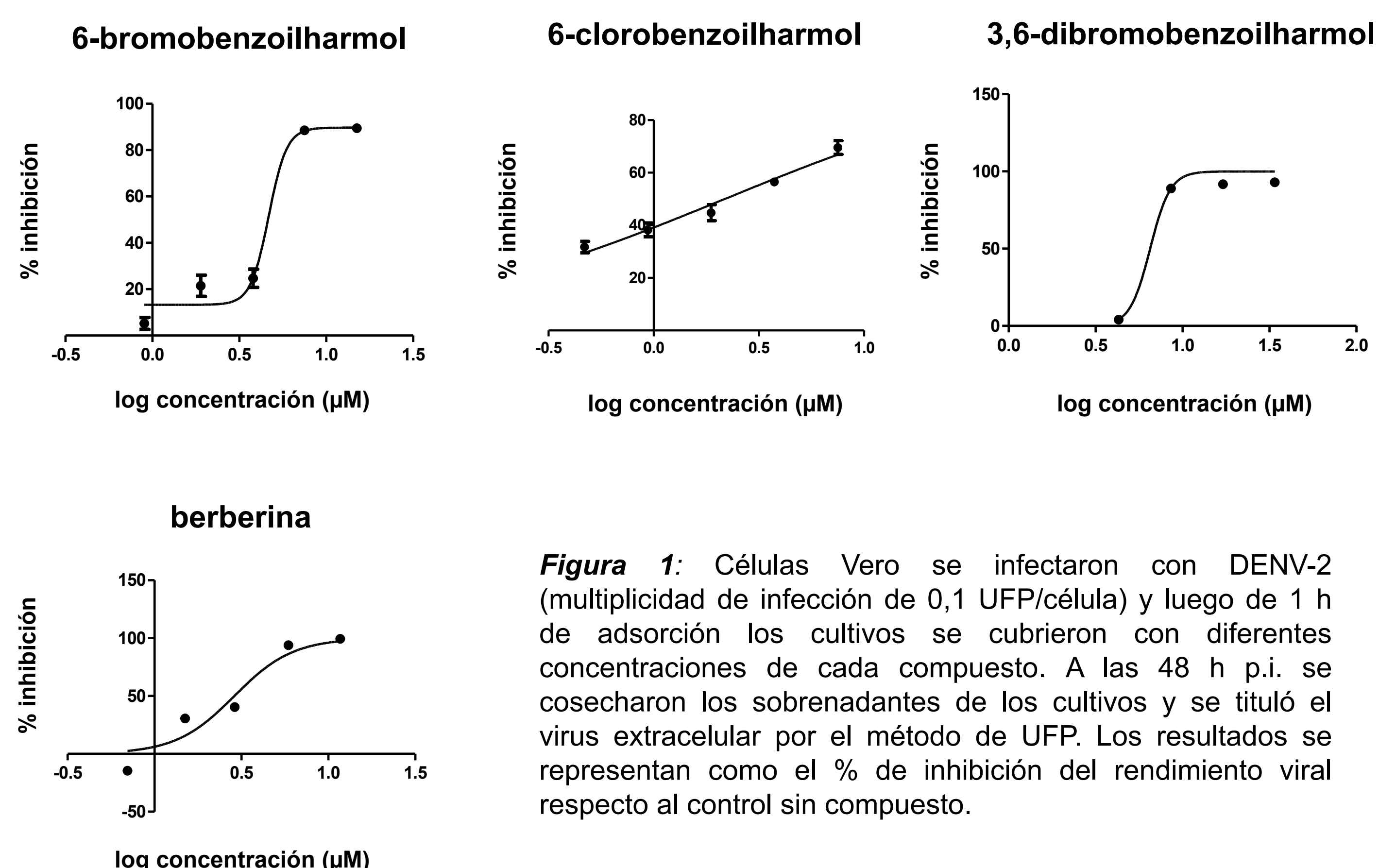


Figura 1: Células Vero se infectaron con DENV-2 (multiplicidad de infección de 0,1 UFP/célula) y luego de 1 h de adsorción los cultivos se cubrieron con diferentes concentraciones de cada compuesto. A las 48 h p.i. se cosecharon los sobrenadantes de los cultivos y se tituló el virus extracelular por el método de UFP. Los resultados se representan como el % de inhibición del rendimiento viral respecto al control sin compuesto.

Efecto de los derivados de harmol y berberina sobre la expresión de la glicoproteína viral E

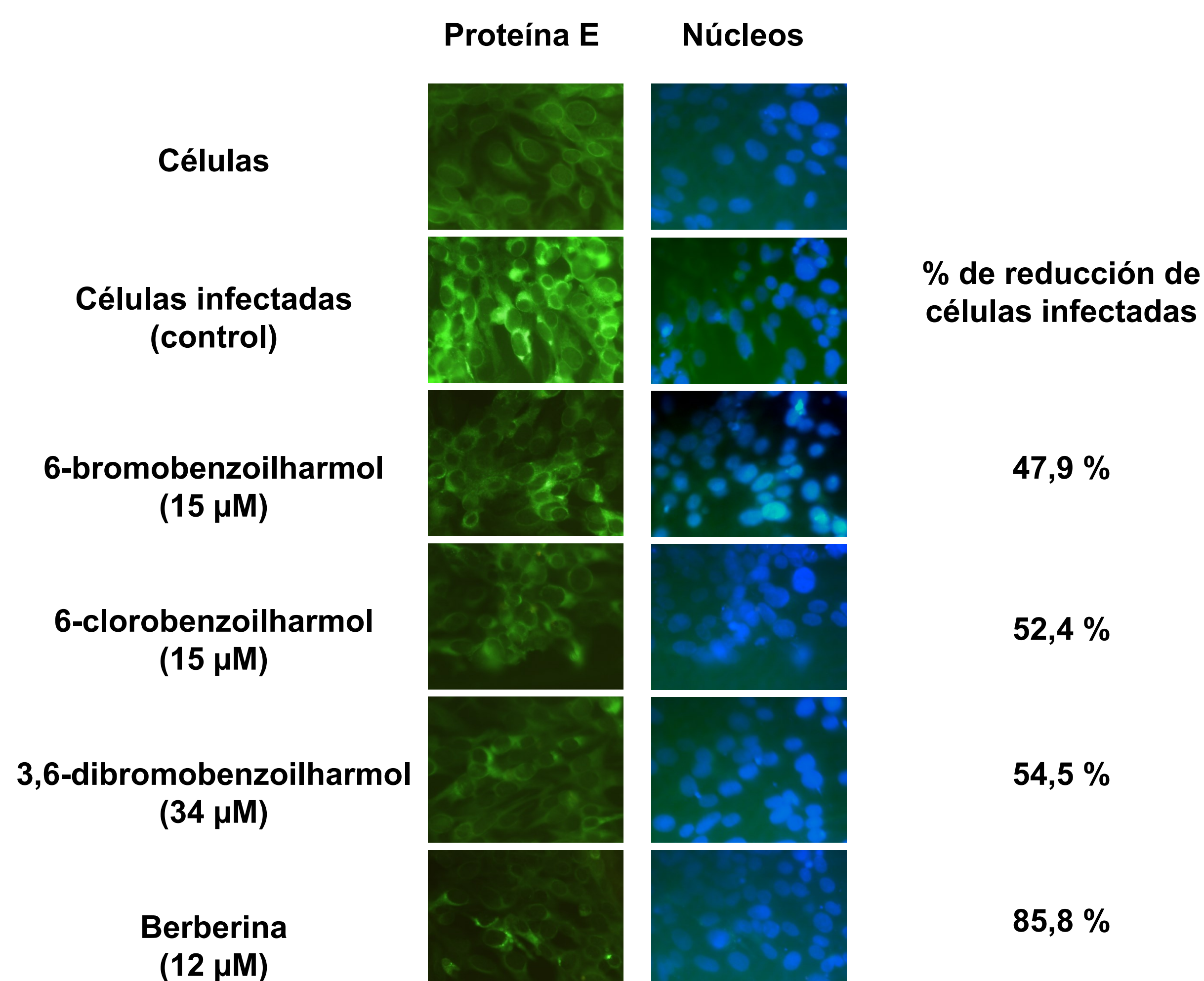


Figura 3: Células Vero se infectaron con DENV-2 (multiplicidad de infección de 0,1 UFP/célula) y luego de 1 h de adsorción los cultivos se cubrieron con medio conteniendo la máxima concentración ensayada de cada compuesto. A las 48 h p.i. se examinó la expresión de glicoproteína E mediante un ensayo de inmunofluorescencia.

Actividad virucida de los derivados de harmol y berberina frente a DENV-2

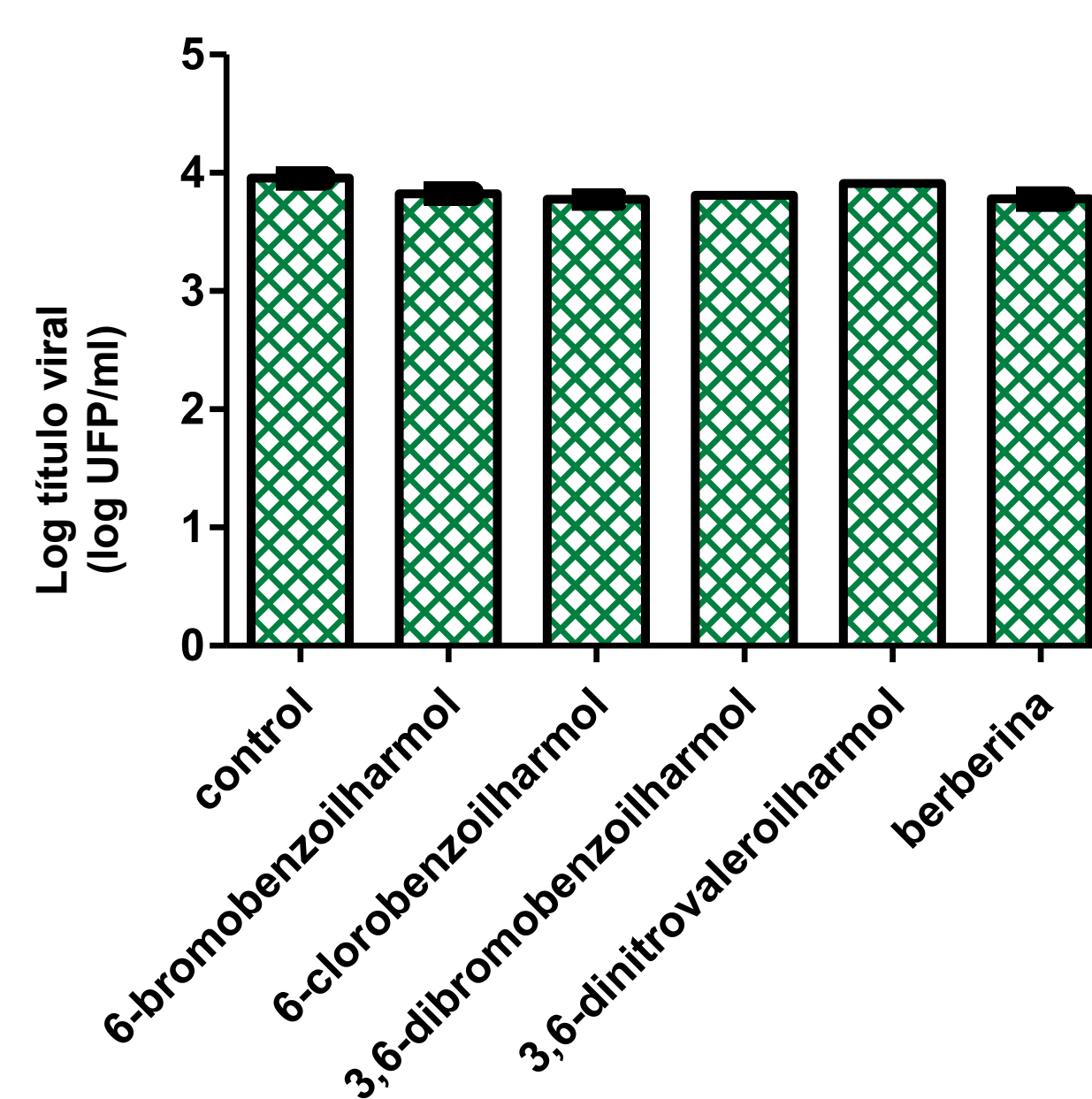


Figura 2: Alícuotas del stock viral se incubaron 2 h a 37°C con la máxima concentración ensayada de los diferentes compuestos y luego se cuantificó la infectividad remanente por el método de formación de placas. Los resultados representan la media del título viral obtenido \pm DS

Conclusiones

- Los derivados halogenados del harmol y el compuesto berberina mostraron una promisoriosa actividad antiviral frente a DENV-2.
- Los compuestos activos inhibieron tanto la producción de virus como la expresión de la glicoproteína viral E
- Los compuestos presentaron escasa o nula actividad virucida