

Ácido ursólico: un compuesto de origen natural con actividad antiviral en infecciones *in vitro* por rotavirus

Ursolic acid: a natural compound with antiviral activity in in vitro rotavirus infection

Director: *Laura Ruth Delgui*^{1,2,3}

Integrantes del proyecto: : M.J. Tohmé¹; M.C. Giménez^{1,2}; A. Peralta⁴; M.I. Colombo^{1,2}

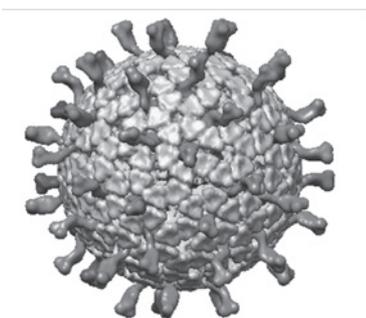
¹ Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina

² IHEM, CONICET- UNCuyo, Mendoza, Argentina

³ Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UNCuyo, Mendoza, Argentina

⁴ INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina

Contacto: ldelgui@fcm.uncu.edu.ar



Rotavirus (RV) es el principal agente causal de gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años. En la Argentina las infecciones por RV son responsables de más del 1,2% de las muertes totales en este grupo etario. A partir de 2015 se ha incorporado una vacuna anti-RV como parte del calendario nacional de vacunación; sin embargo, su eficacia y seguridad continúan siendo evaluadas. El Ácido Ursólico (AU) es un triterpeno que se encuentra formando parte de la estructura de saponinas en diversas plantas. Diversos estudios han demostrado que el AU tiene actividad antiviral frente a ciertos virus. Por ello, nuestro grupo de investigación se centró en la evaluación del posible efecto antiviral del compuesto AU frente a RV, a partir de la utilización de un modelo de infección por RV *in vitro*, trabajando con la línea celular susceptible MA104. Nuestra hipótesis de trabajo es que el AU podría tener acción antiviral en infecciones por RV, afectando a una

o más etapas de su ciclo de replicación. En primer lugar, con el fin de determinar las concentraciones de trabajo no citotóxicas del compuesto AU se incubaron las células con concentraciones crecientes de AU durante diferentes tiempos determinando cuantitativamente el nivel de citotoxicidad del AU. En una segunda instancia, con el objetivo de descartar que el compuesto AU tuviera capacidad para alterar la integridad de las partículas virales de RV, evaluamos el efecto virucida del AU, titulando preparaciones de viriones de RV que habían sido incubados con el compuesto AU, empleando la titulación por técnica de inmunofluorescencia indirecta. Posteriormente, evaluamos el efecto antiviral del AU en infecciones por RV en células MA104 mediante dos técnicas diferentes. En primer lugar, cuantificamos el número de partículas virales infectivas intra y extra celulares presentes en células pre tratadas con AU o mantenidas en situación control empleando la técnica de titulación por inmunofluorescencia indirecta. En una segunda instancia, y con el objetivo de abordar el estudio por una aproximación diferente y complementaria, estudiamos la producción de las proteínas virales estructurales VP6 y VP7 en monocapas de células MA104 pre tratadas con AU o en condición control e infectadas con RV, empleando la técnica de Western Blot para determinar los niveles intracelulares de dichas proteínas. Finalmente, con el objetivo de ampliar el estudio de este compuesto como agente antiviral, estudiamos y pudimos observar el efecto antiviral del AU en la infección por el *Virus de la Bursitis Infecciosa Aviar* (IBDV), un importante patógeno aviar que comparte ciertas características estructurales con RV. Nuestros resultados indicaron que el tratamiento de las células con AU afectó la producción de una nueva progenie viral de RV, observado tanto por la disminución de su título intra y extracelular, como por la disminución en los niveles de proteínas virales en las células infectadas. Además, este efecto antiviral no se debió a un efecto virucida del compuesto, el cual resultó no modificar el título de viriones que fueron tratados con el mismo. Por último, el compuesto AU también presentó actividad antiviral frente al IBDV, virus que, como RV, es desnudo y cuyo genoma está compuesto por ARN de cadena doble, observación que sugiere un efecto general en este grupo de agentes virales. Los resultados obtenidos hasta el momento indican claramente que el compuesto AU interfiere en uno o más etapas del ciclo de replicación de RV, así como en el del IBDV. Estos antecedentes resultan de suma importancia para continuar con un estudio detallado del mecanismo de acción del AU frente a infecciones por RV, analizando blancos y mecanismos moleculares que potencialmente favorezcan el desarrollo de nuevas estrategias de control y tratamiento de la gastroenteritis aguda infantil.