



XII Congreso Argentino de Virología

V Simposio de Virología Clínica III Simposio de Virología Veterinaria

Libro de resúmenes

**26 al 28 de septiembre de 2017
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina**

Centro de Convenciones Palais Rouge
Jerónimo Salguero 1443/49
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

confirman que el fragmento de AcM monovalente Fab128.1 puede bloquear la entrada de arenavirus de FHS *in vitro* como el AcM completo, y contribuyen al diseño racional de un biofármaco que pueda ser producido a bajo costo en bacterias, y que constituya una terapia eficaz y segura contra las FHS.

ATV 06

ENSAYOS *IN-VITRO* DE ACTIVIDAD ANTIVIRAL DEL ÁCIDO NORDIHIROGUAIARÉTICO AISLADO DE *LARREA DIVARICATA* CAV Martínez F^{1,2}, Aguilar J¹, Contigiani M S¹, Núñez Montoya S C³, Königheim B S^{1,2}

¹Instituto de Virología "Dr. J. M. Vanella"- Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Enfermera Gordillo S/N, Ciudad Universitaria, X5000HUA Córdoba, Argentina. ²Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). ³IMBIV - CONICET, Dpto. Farmacia, Facultad Ciencias Químicas, Universidad Nacional Córdoba, Argentina. Haya de la Torre y Medina Allende, X5000HUA Córdoba, Argentina.

Larrea divaricata Cav. (Zygophyllaceae), conocida popularmente como "Jarilla" posee reconocida importancia medicinal que data desde la cultura de los aborígenes de nuestro país. El ácido nordihidroguaiarético (ANDG) es uno de los compuestos más abundantes y biológicamente activos que posee esta especie vegetal. En este trabajo, nos propusimos evaluar la actividad antiviral y virucida de ANDG sobre diferentes arbovirus: virus West Nile (WNV), virus de la Encefalitis de Saint Louis (SLEV), virus Chikungunya (CHIKV) y virus Dengue-1 (DENV-1).

Utilizando el método de captación de Rojo Neutro (RN), se evaluó la citotoxicidad sobre células Vero y LLC-MK2 del ANDG (entre 180 y 3 µM) aislado de *L. divaricata*. Por análisis de regresión logística ($R^2 > 0.9$), se obtuvo la concentración subtóxica (CC_{20} , 80% de viabilidad celular) y la citotóxica 50 (CC_{50}). La actividad antiviral y virucida se evaluó mediante el método de reducción de unidades formadoras de placa (UFP) en ambas líneas celulares. Las monocapas celulares se infectaron con 100 UFP de cada virus. Luego de 1 hora de incubación a 37°C con 5% CO_2 , se agregaron por triplicado concentraciones decrecientes de ANDG a partir de la CC_{20} , incubándose nuevamente (37°C y 5% CO_2) durante 3-7 días según el modelo viral para ensayar la actividad antiviral. Para la actividad virucida, cada virus se pre-incubó con ANDG a su CC_{50} durante 1 hora a 37°C con 5% CO_2 ; y posteriormente diluciones seriadas factor 1/10 se sembraron sobre las células, (n=2) incubándose (37°C y 5% CO_2) durante 3-7 días según el virus. En ambas bioactividades se incluyeron controles de células, virus (CV) y droga (n=4). En función de los resultados del screening de bioactividad, se evaluó la acción del ANDG en diferentes etapas del ciclo de replicación viral (pre-inoculación viral, durante la inoculación, durante + post inoculación y post-inoculación).

La CC_{20} del ANDG en células Vero fue de $35,5 \pm 0,8$ µM y de $99,0 \pm 4,9$ µM en células LLC-MK2; la CC_{50} fue de $37,9 \pm 0,5$ y $115,7 \pm 3,0$ µM para Vero y LLC-MK2, respectivamente. El ANDG no tuvo actividad antiviral ni virucida sobre WNV, SLEV y CHIKV, destacándose la actividad virucida sobre DENV-1, con una inhibición de $3,8 \pm 0,5$ log en comparación con el CV. Los resultados de la actividad antiviral demostraron que la inhibición del DENV-1 fue dependiente de la concentración de ANDG. El índice de selectividad obtenido fue 18,4. La evaluación de la acción del ANDG sobre las etapas del ciclo de replicación del DENV-1, demostró que es capaz de inhibir completamente la replicación viral (100 %), cuando es agregado 1 hora después de la inoculación del virus.

La inhibición total del DENV-1 por acción del ANDG reviste una potencial importancia sanitaria, ya que este virus está asociado a infecciones que aún no poseen un tratamiento terapéutico. Por lo tanto, estos resultados promisorios justifican futuros estudios para evaluar el mecanismo de acción por el cual el ANDG inhibe el DENV-1.

ATV 07

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD DEL DISULFURO AROMÁTICO NSC4492 SOBRE RNA Y DNA VIRUS

Sepúlveda C S, García C C, Damonte E B

Laboratorio de Virología, Departamento de Química Biológica-IQUIBICEN (CONICET-UBA), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Las proteínas con motivos *Zn-finger* representan un blanco atractivo para la terapia antiviral ya que estos suelen estar muy conservados dentro de cada especie viral. En particular, el disulfuro aromático NSC4492 (provisto por el NCI, EEUU) mostró efectiva actividad antiviral y virucida contra distintas cepas del virus Junín (JUNV) y otros arenavirus, por interacción con el motivo tipo RING *finger* de la proteína de matriz Z. A fin de establecer la relación entre la actividad inhibitoria de este compuesto y la presencia de motivos *Zn-finger* en las proteínas virales, se evaluó la susceptibilidad a NSC4492 de distintos RNA y DNA virus.

Los virus ensayados en forma comparativa con JUNV, cepa IV4454, fueron: herpes simplex tipo 1 (HSV-1) cepa KOS, estomatitis vesicular (VSV) cepa Indiana, Polio tipo 3 (PV-3), dengue serotipo 2 (DENV-2) cepa NCG y sarampión (MV) cepa vacunal. Todos ellos presentan diferentes tipos de motivos de unión a Zn, excepto VSV. La actividad antiviral se determinó mediante un ensayo de inhibición del rendimiento viral en células Vero y la actividad virucida midiendo la infectividad remanente luego de incubar el virus con el compuesto 1.5 h a 37 °C. La citotoxicidad del compuesto se determinó en células Vero por el ensayo de MTT, resultando en una concentración citotóxica 50% (CC_{50}) de $148 \pm 0,1$ µM. La actividad antiviral, indicada por los valores de concentración efectiva 50% (CE_{50}), fue inferior a la actividad virucida para JUNV, HSV-1, VSV y MV, en tanto que con DENV-2 y PV-3 se observó la situación inversa. Los valores de CE_{50} variaron en el rango de 2,5 a 32,0 µM, con índices de selectividad (CC_{50}/CE_{50}) moderados, de 4,5 a 63,0. Respecto de la actividad virucida, HSV-1 y JUNV fueron los virus más susceptibles a NSC4492 con valores de concentración inhibitoria 50% (CI_{50}) de $0,2 \pm 0,006$ y $0,08 \pm 0,001$ µM respectivamente. Para los restantes virus, las CI_{50} fueron significativamente más elevadas, con valores 6-8 veces mayores para VSV y MV ($1,21 \pm 0,08$ y $1,60 \pm 0,10$ µM) y más de 150 veces superiores para PV-3 y DENV-2 ($36,13 \pm 1,48$ y $94,21 \pm 3,49$).

Estos parámetros, así como las curvas de respuesta a la dosis, muestran que la potencia de la actividad virucida de este tipo de agente parece ser muy variable en función del virus. Cabe destacar que la proteína ICPO de HSV-1 así como la proteína Z de JUNV presentan un motivo de tipo RING *finger* con secuencias C3HC4, en tanto en las de DENV-2, MV y PV3 las secuencias corresponden a otros grupos estructurales de motivos *Zn-finger*. Las diferencias observadas podrían estar relacionadas al tipo de arreglo de los aminoácidos que participan en la coordinación de las moléculas de Zn en los distintos motivos, así como por la accesibilidad a los agentes nucleofílicos de las cisteínas reactivas. Asimismo, la baja susceptibilidad de VSV, que carece de proteínas con motivo *Zn-finger*, plantea la posibilidad de otro blanco secundario para esta clase de compuestos debido a su capacidad oxidante.

ATV 08

BÚSQUEDA DE NUEVOS ANTIVIRALES PARA EL VIRUS DE LA DIARREA VIRAL BOVINA: EVALUACIÓN DE COMPUESTOS SELECCIONADOS MEDIANTE SCREENING VIRTUAL FRENTE A LA ARN POLIMERASA VIRAL

Castro E, Fabiani M, Casal J, Bollini M, Cavallaro L

Cátedra de Virología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, CONICET, Buenos Aires, Argentina.

La familia *Flaviviridae* comprende los géneros *Flavivirus*, *Hepacivirus* y *Pestivirus* cuyos miembros causan importantes infecciones en humanos o en animales, como el virus del dengue (DV), de la hepatitis C (HCV) y de la diarrea viral bovina (BVDV), respectivamente. BVDV causa infecciones en el ganado bovino generando grandes pérdidas económicas. La detección y remoción de animales infectados y la vacunación no previene la infección vertical y, por lo tanto, la emergencia de animales con infección persistente. Por ello, se plantea la necesidad de contar con antivirales como herramientas de control efectivas.

La ARN polimerasa ARN-dependiente (RdRp) viral es esencial para la replicación del genoma del virus y constituye un blanco atractivo para el descubrimiento de antivirales. BVDV está aceptado como modelo para evaluar antivirales que puedan ser activos frente a HCV. Sus polimerasas presentan una estructura con motivos característicos, aminoácidos conservados y un perfil similar de actividad.

Con el fin de obtener inhibidores selectivos de BVDV, se realizó un *screening* virtual con la estructura cristalina de su RdRp (PDB 1s4f) y el programa AutodockVina para evaluar pequeñas moléculas provenientes de las bases de datos comerciales de *HitFinder* (14.000