

## Estudio de la actividad antiviral del ácido ursólico en infecciones *in vitro* por *Rotavirus Analysis* of the antiviral activity of ursolic acid in *in vitro* Rotavirus infections

M.J. Tohmé<sup>1,2</sup>; M.C. Giménez<sup>1,2,3</sup>; A. Peralta<sup>4</sup>; M.I. Colombo<sup>2</sup> y L. R. Delgui<sup>2</sup> <sup>1</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina <sup>2</sup>IHEM-CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentina <sup>3</sup>Facultad de Ciencias Veterinarias y Ambientales, Universidad Juan Agustín Maza, Mendoza, Argentina <sup>4</sup>INTA-CONICET, Buenos Aires, Argentina

Contacto: julitchapini@hotmail.com

**Palabras clave:** *Rotavirus*; Ácido Ursólico; Antivirales  
**Key Words:** *Rotavirus*; *Ursolic Acid*; *Antivirals*

**Introducción:** *Rotavirus* (RV) es un patógeno perteneciente a la familia *Reoviridae*. La partícula viral está constituida por una cápside icosaédrica no envuelta, que engloba once segmentos de ARN de doble cadena. RV es la causa más importante de gastroenteritis aguda viral y una de las principales causas de muerte por deshidratación en niños menores de 5 años. En Argentina, las infecciones por RV producen anualmente unas 23.100 hospitalizaciones, es por esto que a partir del año 2015 se incorporó la vacuna anti RV al Calendario Nacional de Vacunación.

El ácido ursólico (AU) es un triterpeno presente en diversos vegetales que posee actividades biológicas, tales como antiinflamatoria, antitumoral, antiviral, etc.

**Objetivos:** evaluar la actividad antiviral del AU en infecciones *in vitro* por RV.

**Metodología:** nuestro sistema de estudio está constituido por viriones de la cepa de RV de simio, SA-11 y la línea celular proveniente de riñón de mono, MA104. En primer lugar realizamos un estudio de viabilidad celular mediante la determinación cuantitativa de la actividad enzimática mitocondrial tras el tratamiento de nuestra línea celular con el AU. Luego, con el objetivo de descartar actividad virucida del AU, evaluamos número de viriones infectivos tras el tratamiento con o sin AU, empleando la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Para evaluar el efecto antiviral del AU utilizamos dos técnicas diferentes, por un lado cuantificamos el número de partículas virales infectivas intra- y extra-celulares presentes en células pre-tratadas con AU o mantenidas en situación control y, por otro, evaluamos la producción de las proteínas virales estructurales VP6 y VP7 en células pre-tratadas con AU o en condición control e infectadas con RV. Por último, con el fin de conocer la/s etapa/s del ciclo infeccioso del virus afectadas por el AU, estudiamos el efecto del AU en ensayos diseñados para evaluar las etapas iniciales (adsorción e internalización viral) y las etapas replicativas (replica-

ción, síntesis de proteínas virales y egreso) del mismo. Utilizamos como controles, inhibidores ya descritos en la literatura:  $\beta$ -metilciclodextrina y ácido glicirretínico, respectivamente, y determinamos el número de viriones infectivos intra- y extra-celulares.

**Resultados:** la viabilidad celular es alta (alrededor del 95%) hasta las 24 h de tratamiento con 10  $\mu$ M AU. A su vez, el tratamiento con 10  $\mu$ M AU durante todo el ciclo infectivo de RV afectó la producción de una nueva progenie viral, observado tanto por la disminución del número de viriones infectivos intra- y extra-celular, como por la disminución en los niveles de proteínas virales en las células infectadas. Además, este efecto antiviral no se debió a un efecto directo sobre las partículas virales, ya que el título de viriones incubados con AU fue el mismo que el de aquellos mantenidos en situación control. Observamos, también, que existe una disminución del número de viriones infectivos intra- y extra-celulares cuando el AU está presente durante las etapas tanto iniciales como replicativas de la infección.

**Conclusiones:** el tratamiento con AU presenta actividad antiviral en infecciones *in vitro* por RV, interfiriendo tanto con la internalización y adsorción del virus, como en la replicación del genoma viral, síntesis de proteínas virales y egreso de nuevos viriones.

**Discusión:** considerando la importancia que tiene RV en salud pública en los países en desarrollo, entre ellos Argentina, la búsqueda de tratamientos alternativos es de suma importancia para disminuir el número de pacientes afectados y reforzar la política de inmunización implementada en el año 2015. En la actualidad, nuestro grupo de trabajo se encuentra enfocado en el estudio del mecanismo que subyace la acción antiviral del AU en las infecciones por RV.