

Sección: Química Medicinal

ACTIVIDAD ANTIHERPÉTICA DE Δ^5 2-OXOPIPERAZINAS 1,4 DISUSTITUIDAS SINTÉTICAS.

Micaela Silbermins¹, Javier Eiras², Andrea Bruttomesso², Lydia R. Galagovsky² y Mónica B. Wachsman¹

1 - Laboratorio de Virología. Departamento de Química Biológica, Universidad de Buenos Aires, Pabellón 2, 4to Piso, C. Universitaria, C1428EGA C.A.B.A, Argentina. wachsman@qb.fcen.uba.ar

2 - Departamento de Química Orgánica y UMYMFOR (CONICET-FCEN), Universidad de Buenos Aires, Pabellón 2, 3er Piso, C. Universitaria, C1428EGA C.A.B.A., Argentina. aachiocc@qo.fcen.uba.ar

INTRODUCCIÓN

Los virus herpes simplex tipo 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) pertenecen a la familia *Herpesviridae*, que incluye a más de 100 virus humanos y animales. HSV-1 y HSV-2 son capaces de infectar y producir una enfermedad sobre las mucosas, o establecer infecciones latentes en neuronas ganglionares durante años, reactivándose espontáneamente ante diferentes estímulos.

El HSV-1 generalmente ataca las mucosas orofaríngeas, mientras que el HSV-2 suele infectar las mucosas genitales. En individuos inmunocompetentes, estas infecciones se autolimitan; sin embargo, en pacientes inmunocomprometidos, pueden ser graves y persistir por largos períodos de tiempo, e incluso llegar a la muerte. Por lo tanto, este tipo de pacientes, normalmente requiere tratamientos antivirales prolongados. En la actualidad, existe un número relativamente escaso de drogas antivirales de aplicación clínica. La droga de mayor éxito para el tratamiento de infecciones herpéticas es el aciclovir (ACV), un derivado nucleosídico que puede a largo plazo generar resistencia, por lo que la búsqueda de antivirales con un mecanismo de acción diferente es de vital importancia (1, 2).

Las cetopiperazinas (KP) son una clase de compuestos orgánicos que resultan de la ciclación de dos aminoácidos para formar una lactama (Figura 1). Estos análogos peptídicos cíclicos conformacionalmente restringidos son importantes farmacóforos utilizados para el descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos (3).

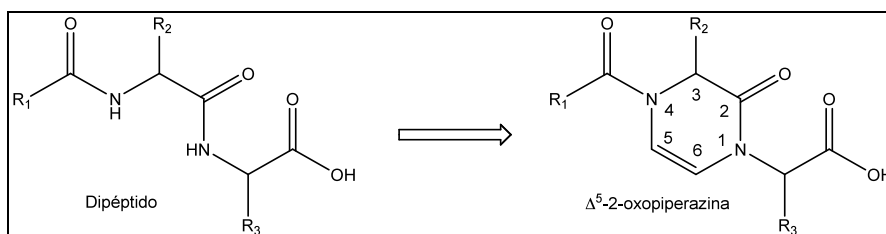


Figura 1: Δ^5 2-oxopiperazinas como dipeptidomiméticos.

Las cetopiperazinas forman parte de numerosos compuestos químicos con una amplia variedad de actividades biológicas incluyendo antitumoral (3), antiviral (4-6), antifúngica (7), antibacteriana (8) y como ligandos de distintos tipos de receptores (4).

En este trabajo estudiamos la actividad citotóxica y antiviral de 4 piperazinas sintéticas y hemos determinado su posible mecanismo de acción antiviral.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

En primer lugar se determinó la citotoxicidad de los compuestos ensayados (piperazinas 1, 2, 9 y 15) sobre monocapas confluentes de células Vero crecidas en microplacas de 96 pocillos utilizando el método colorimétrico del MTT. Los valores de CC_{50} (concentración de compuesto capaz de reducir la viabilidad celular en un 50 %) para los cuatro compuestos fue alrededor de 50 μ M. La actividad antiviral fue evaluada con ensayos de reducción del rendimiento viral, de los cuatro compuestos ensayados el compuesto 15 fue el menos activo. Dado que en literatura se ha ligado la actividad antiviral de piperazinas a su acción sobre la etapa de adsorción, se estudio el efecto de los compuestos 1, 2, 9 y 15 sobre esta etapa del ciclo. Hemos encontrado, que ninguna de las 4 piperazinas tiene efecto sobre la adsorción, este resultado estaría en concordancia con los datos bibliográficos ya que las piperazinas capaces de inhibir esta etapa son catiónicas, a diferencia de las piperazinas ensayadas en este trabajo que son neutras. El mecanismo propuesto para las piperazinas catiónicas consiste en adherirse a las cargas negativas de los sulfatos y carbonilos del heparan sulfato (4, 5). Dado que la adsorción viral no es la etapa afectada se realizó un ensayo de agregado a distintos tiempos post-infección (p.i) del compuesto 9, la piperazina más activa. Se encontró que cuando se agregaba el compuesto 9 a una concentración de 20 μ M a 1, 3, 5 u 8 h p.i. se producía una inhibición tanto del virus extracelular como del total de por lo menos 1log, lo que indicaría que lo que esta inhibiendo el compuesto es una etapa tardía del ciclo de multiplicación probablemente relacionada con el ensamblado o la brotación. Por otra parte, también se comprobó que los compuestos ensayados, no presentan actividad virucida, es decir no producen la inactivación directa de las partículas virales.

Los resultados obtenidos demuestran que algunos de los compuestos ensayados exhiben una actividad antiviral significativa frente a HSV-1. Dicha actividad no es consecuencia de un efecto deletéreo sobre la partícula viral sino de la acción inhibitoria de estos compuestos sobre la replicación del virus en la célula infectada. En particular, la etapa de la multiplicación viral afectada sería una etapa tardía, mientras que los análogos de nucleósidos actúan a nivel de la DNA polimerasa viral. La continuación de estudios de relación estructura-actividad con nuevos derivados sintéticos permitirá profundizar el conocimiento sobre la influencia de distintos sustituyentes para detectar aquellos que incrementen la actividad antiviral y disminuyan su citotoxicidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Azwa, A., Barton, S., 2009. Aspects of herpes simplex virus: a clinical review. *J. Fam. Plann. Reprod. Health Care* 35, 237–242.
- 2.- Piret, J., Boivin, G., 2011. Resistance of Herpes Simplex Viruses to Nucleoside Analogues: Mechanisms, Prevalence, and Management. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55, 459-472.
- 3.- Martins, M., Carvalho, I., 2007. Diketopiperazines: biological activity and synthesis. *Tetrahedron* 63, 9923-9932.

- 4.- Schmidtke, M., Riabova, O., Dahse, H., Stelzner, A., Makarov, V., 2002. Synthesis, cytotoxicity and antiviral activity of N,N'-bis-5-nitropyrimidyl derivatives of dispirotripiperazine. *Antiviral Res.* 55, 117-127.
- 5.- Schmidtke, M., Karger, A., Meerbach, A., Egerer, R., Stelzner, A., Makarov, V., 2003. Binding of a N,N'-bisheteryl derivative of dispirotripiperazine to heparan sulfate residues on the cell surface specifically prevents infection of viruses from different families. *Virology* 311, 134-143.
- 6.- Artemenko, A., Muratov, E., Kuzmin, V., Kovdienko, N., Hromov, A., Makarov, V., Riabova, O., Wutzler, P., Schmidtke, M., 2007. Identification of individual structural fragments of N,N'-(bis-5-nitropyrimidyl)dispirotripiperazine derivatives for cytotoxicity and antiherpetic activity allows the prediction of new highly active compounds. *J. Antimicrob. Chemotherapy* 60, 68-77.
- 7.- Houston, D. R., Synstad, B., Eijsink, V. G. H., Stark, M. J. R., Eggleston, I. M., van Aalten, D. M. F., 2004. Structure-Based Exploration of Cyclic Dipeptide Chitinase Inhibitors. *J. Med. Chem.* 47, 5713–5720.
- 8.- Kwon, Oh Sung; Park, Sang Ho; Yun, Bong-Sik; Pyun, Yu Ryang; Kim, Chang-Jin, 2000. Cyclo(dehydroala-L-Leu), an α -glucosidase inhibitor from *Penicillium* sp. F70614. *J. Antibiotics* 53, 954–958.