



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Evaluación de la posible actividad inhibitoria *in silico* de compuestos tiomorfolínicos de la serie LQM 300 entre la subunidad S1 del spike y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2).

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN FARMACIA

PRESENTA

Jiménez Cabiedes María Fernanda

ASESOR: Dr. Enrique Ángeles Anguiano

COASESORA: Dra. Ana María Velázquez Sánchez

Cuautitlán Izcalli, Estado de México (FES Cuautitlán), 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

DEPARTAMENTO DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

DEPARTAMENTO DE

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de tesis y examen profesional.

Evaluación de la posible actividad inhibitoria in silico de compuestos tiomofolinicos de la serie LQM 300 entre la subunidad S1 del spike y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2).

Que presenta la pasante: **María Fernanda Jiménez Cabiedes**

Con número de cuenta: 314209081 para obtener el título de: Licenciada en Farmacia

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de febrero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dra. Jazmin Flores Monroy	
1er. SUPLENTE	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
2do. SUPLENTE	Q.I. Manuel Alejandro Hernández Serda	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

Evaluación de la posible actividad inhibitoria in silico de compuestos tiomofolinicos de la serie LQM 300 entre la subunidad S1 del spike y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2).

Que presenta la pasante: **María Fernanda Jiménez Cabiedes**
Con número de cuenta: **314209081** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de febrero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dra. Jazmin Flores Monroy	
1er. SUPLENTE	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
2do. SUPLENTE	Q.I. Manuel Alejandro Hernández Serda	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE
TITULACIÓN PROFESIONAL

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

Evaluación de la posible actividad inhibitoria in silico de compuestos tiomofolinicos de la serie LQM 300 entre la subunidad S1 del spike y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2).

Que presenta la pasante: **María Fernanda Jiménez Cabiedes**
Con número de cuenta: **314209081** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de febrero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	_____
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	_____
SECRETARIO	Dra. Jazmin Flores Monroy	
1er. SUPLENTE	Dra. Maritere Domínguez Rojas	_____
2do. SUPLENTE	Q.I. Manuel Alejandro Hernández Serda	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

DEPARTAMENTO DE
TITULACIÓN PROFESIONAL

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

Evaluación de la posible actividad inhibitoria in silico de compuestos tiomofolinicos de la serie LQM 300 entre la subunidad S1 del spike y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2).

Que presenta la pasante: **María Fernanda Jiménez Cabiedes**
Con número de cuenta: **314209081** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de febrero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	_____
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	_____
SECRETARIO	Dra. Jazmin Flores Monroy	_____
1er. SUPLENTE	Dra. Maritere Domínguez Rojas	_____
2do. SUPLENTE	Q.I. Manuel Alejandro Hernández Serda	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

DEPARTAMENTO DE
TITULACIÓN PROFESIONAL

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

Evaluación de la posible actividad inhibitoria in silico de compuestos tiomofolinicos de la serie LQM 300 entre la subunidad S1 del spike y la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 (ECA2).

Que presenta la pasante: **María Fernanda Jiménez Cabiedes**
Con número de cuenta: **314209081** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de febrero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	_____
VOCAL	M.F.C. Ma. Eugenia R. Posada Galarza	_____
SECRETARIO	Dra. Jazmin Flores Monroy	_____
1er. SUPLENTE	Dra. Maritere Domínguez Rojas	_____
2do. SUPLENTE	Q.I. Manuel Alejandro Hernández Serda	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga*

“Querer es una gran cosa...

Porque la Actividad y el Trabajo proceden generalmente de la Voluntad, y el Trabajo casi siempre va acompañado del éxito. Trabajo, Voluntad y Éxito llenan la vida de un hombre. La Voluntad abre las puertas del éxito, brillante y feliz; el Trabajo traspone estas puertas, y a final del viaje el Éxito corona los esfuerzos realizados”

Louis Pasteur

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, gracias a los proyectos PAPIIT IN202020, PIAPI2005 y DGTI LANCAD-UNAM-DGTIC-034 E.A. Este trabajo fue parcialmente apoyado por la NSERC, Beca de descubrimiento RGPIN / 04897-2017 a L.A., Premio de investigación para estudiantes de pregrado NSERC a N.M.M., quien realizó una pasantía bajo la supervisión de L.A. y la Secretaria de relaciones exteriores (AMEXCID) en el marco del grupo de trabajo en educación, cultura, investigación e innovación 2021-2023 México-Quebec.

“El agradecimiento es la memoria del corazón”

A mi madre Esther Cabiedes por ser mi fuerza cada mañana y mi soporte cada noche, gracias por guiarme con amor y sabiduría, caminaste a mi lado pese a todas las adversidades y nunca me soltaste, este logro es nuestro. Gracias por enseñarme a vivir con amor, bondad y magia.

¡Te amo mamá!

A Elias Jiménez mi compañero de aventuras, enojos, risas y aprendizaje gracias por permanecer a mi lado, apoyándome, amándome y cuidándome. Eres el hombre más leal, amoroso e inteligente que conozco, es un orgullo para mi tenerte como hermano. Solo nosotros sabemos lo difícil que ha sido cada etapa en nuestras vidas, pero juntos lo hemos logrado. Orgullosamente FES Cuautitlán.

¡Te amo Hermano!

A mi padre Jorge Jiménez por mostrarme que con perseverancia y esfuerzo se pueden alcanzar nuestros más grandes y locos sueños, gracias por ser un ejemplo de amor responsabilidad y dedicación. Sin importar la distancia que pueda existir entre nosotros en todo momento estas conmigo, por siempre tu cachorra de León.

¡Te amo papá!

A Leonel Espinosa Jiménez mi rey, llegaste en el momento menos esperado, pero más deseado a mi vida. Gracias por enseñarme el amor de una manera diferente, deseo ser una guía, un apoyo en tu camino y un ejemplo en tu vida. Cuando leas esto en unos años recuerda que esto es para ti.

A Carlos Jiménez por apoyarme y acompañarme en las etapas más importantes de mi formación, por siempre confiar en mi y ser un soporte en todo momento.

A Juan Sánchez por estar siempre pendiente de mi bienestar, no hay límites para nosotros hermano, ya estamos llegando a la recta final de este capítulo en nuestras vidas. Muchas gracias por ser un ejemplo de disciplina e inteligencia.

A Hanna Hurtado mi mejor amiga, gracias por demostrarme un amor incondicional, por siempre estar a mi lado, por escucharme y amarme. Eres un gran ejemplo a seguir, te admiro por todo lo que eres y lo que has logrado. Rubén Rocha mi amigo de primer semestre los años pasan y seguimos en el camino, gracias por todos los buenos momentos dentro y fuera de las aulas.

A Salma, Diego, José Antonio, Alfredo, Nancy, Zaira, Ashly, Kevin y Venus por hacer de la universidad un lugar divertido y responsable. Amigos, se logró llegar a la meta.

A las personas que llegaron a mi vida para enseñarme y dejar huella Mauricio Montesinos, José Arturo Tereso y Salvador, sin duda aportaron en gran cantidad a mi formación.

A mi grupo de compañeros del Laboratorio de Química Medicinal, Yoshio Alarcón, Alex Serda, Victor Valadez, Pablo Aguirre.

Al Dr. Enrique Ángeles Anguiano y a la Dra. Ana Maria Velázquez Sánchez, infinitas gracias por ser una guía académica y un ejemplo a seguir para siempre trabajar, compartir e investigar con el corazón.

A la UNAM por darme la oportunidad de desarrollarme académicamente, deportivamente y culturalmente, por brindarme diversos momentos que atesorare por el resto de mis días.

Abreviaturas

Å	Ángstrom
CoV	Coronavirus
DiFAC	Diseño de Fármacos Asistido por Computadora
DM	Dinámica Molecular
ECA1	Isoforma 1 de la Enzima Convertidora de Angiotensina
ECA2	Isoforma 2 de la Enzima Convertidora de Angiotensina
FF	Campo de fuerza
ICTV	Comité Internacional de Taxonomía de Virus
kDa	kilodalton
LQM	Laboratorio de Química Medicinal
MOE	Molecular Operating Environment
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDB	Base de Datos de Proteínas (Protein Data Bank)
RBD	Dominio de Unión al Receptor
RMSD	Desviación del Valor Cuadrático Medio (Root Mean Square Deviation)
RMSF	Fluctuación del Valor Cuadrático Medio (Root-Mean-Square Fluctuation)
RNA	Ácido Ribonucleico (Ribonucleic acid)
NAMD	Nanoscale Molecular Dynamics
SARS-CoV-2	Síndrome respiratorio agudo severo (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2)
VMD	Visual Molecular Dynamics

Índice de figuras

Figura 1: Estructura del síndrome respiratorio agudo coronavirus 2 [9]	13
Figura 2: Líneas de investigación representativas de un grupo académico enfocado en DiFAC [12].	14
Figura 3: Regiones estudiadas por Stout y su grupo de la Changrolina [13].	15
Figura 4: Estructuras 3D de los compuestos estudiados.....	26
Figura 5: Resultado de la validación del proceso de reconocimiento molecular. Estructura en color verde obtenida del PDB (1UZP) y estructura de color rosa el resultado de la validación con MOE.....	27
Figura 6: Resultado de superposición del proceso de reconocimiento molecular. Proteína de color naranja obtenida del PDB (3SCL) y proteína de color azul el resultado de la validación en MOE.	28
Figura 7: RMSD del complejo ECA2-SS1, el recuadro amarillo compara la cadena 1 y 4 de la ECA2 con 0.46 Å de desviación y el recuadro verde compara las cadenas 3 y 5 de la subunidad S1 con 0.47 Å de desviación.....	29
<i>Figura 8: Acoplamiento molecular y “pocket” del receptor ECA2 con los compuestos tiomorfolinicos de la serie LQM300.</i>	<i>31</i>
Figura 9: Regiones con mayor fluctuación en la proteína ECA2 (amarillo).	36
Figura 10: Acoplamiento molecular del complejo entre el spike viral de la subunidad S1 con la ECA2, representando los sets del RBD de color rosa y aminoácidos de los sets del receptor ECA2 involucrado en color verde.....	36

Índice de tablas

Tabla 1: Resultados previos de energía de interacción de los complejos ECA1-LQM en esta tabla se presentan al Captopril y Lisinopril como controles [6].	16
Tabla 2: Porcentaje total de la inhibición de la ECA y su inhibición relativa con respecto al Captopril [6].	17
Tabla 3: Estructuras 2D de los compuestos estudiados	19
Tabla 4: Set de aminoácidos para la subunidad S1 (RBD) del spike y la ECA2 ...	22
Tabla 5: Análisis de parches, hidrófobico, carga positiva y negativa para el Spike de la subunidad S1.	43
Tabla 6: Análisis de parches hidrófobico, carga positiva y negativa para el receptor ECA2 y los complejos ECA2-LQM.....	43

Índice de gráficos

Gráfico 1: Número de puentes de Hidrógeno del ligando LQM para los complejos estudiados ECA2-LQM.....	32
Gráfico 2: Puentes de Hidrógeno del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM.....	33
Gráfico 3: RMSD del ligando LQM para los complejos estudiados ECA2-LQM.	34
Gráfico 4: RMSD del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM.	34
Gráfico 5: RMSF del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM.	35
Gráfico 6: Número de puentes de Hidrógeno del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM-SS1	37
Gráfico 7: Número de puentes de Hidrógeno del Spike subunidad S1 para los complejos ECA2-LQM-SS1.....	38
Gráfico 8: Número de puentes de Hidrógeno del complejo ECA2-SS1 (3SCL).	39
Gráfico 9: Número de puentes de Hidrógeno del ligando del complejo ECA2-322-SS1.....	39
Gráfico 10: RMSD Spike de la subunidad S1 (3SCL) para el complejo ECA2-SS1.	40
Gráfico 11: RMSD para el complejo estudiados ECA2-322-SS1	40
Gráfico 12: RMSF del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM-SS1.....	41
Gráfico 13: RMSF del Spike subunidad S1 para los complejos estudiados ECA2-LQM-SS1.	42

Índice general

1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES.....	12
2.1 COVID 19	12
2.2 SARS-CoV-2	12
2.3 Diseño de Fármacos Asistido por computadora (DiFAC)	13
2.4 Moléculas con actividad biológica frente a la ECA1	15
2.5 Estudios entre la Enzima Convertidora de Angiotensina y los LQM300.....	16
3. HIPÓTESIS	18
4. OBJETIVOS.....	18
5. METODOLOGÍA	19
5.1 Modelado de las estructuras LQM.....	19
5.2 Validación del acoplamiento molecular proteína-ligando en MOE.....	20
5.3 Validación del acoplamiento molecular proteína-proteína en MOE.....	21
5.4 Acoplamiento molecular “Docking” en MOE.....	22
5.5 Dinámica molecular.....	24
5.5.1 Dinámica molecular para los complejos ECA2-LQM.....	24
5.5.2 Dinámica molecular para los complejos ECA2 - SS1	25
5.6 Análisis de “Parches” en MOE	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
6.1 Modelado de las estructuras.....	26
6.2 Validación del acoplamiento molecular en MOE.....	27
6.2.1 Acoplamiento molecular proteína-proteína	27
6.3 Acoplamiento molecular “Docking” en MOE y dinámica molecular MOE- NAMD.....	29
6.4 Análisis de “Parches” en MOE	42
7. CONCLUSIONES	44
8. REFERENCIAS.....	46
9. ANEXOS	49

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se está viviendo una pandemia debido al virus SARS-CoV-2, fue identificado el 11 de marzo de 2020 por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1]. Este virus ha sido responsable de miles de muertes por su facilidad de propagación, principalmente a través de gotículas de saliva o las secreciones nasales que son generadas cuando una persona infectada tose o estornuda [2]. Este evento ha tenido como consecuencia cambios drásticos dentro de la economía de diversos países debido al paro de actividades y modificaciones en la forma de vida que se contemplaban día a día.

La enfermedad causada por el SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) se presentó por primera vez en Wuhan, China en diciembre de 2019 es por ello que se le conoce como COVID 19. La gran mayoría de las personas infectadas por esta enfermedad presentan cuadros respiratorios que van de leves a moderados. Los adultos mayores y aquellas personas que padecen afecciones médicas como: enfermedades cardiovasculares, diabetes, enfermedades respiratorias crónicas o cáncer tienden a presentar un cuadro grave que puede ocasionar la muerte [2].

De acuerdo con estudios recientes se ha podido elucidar diversos mecanismos y aspectos del virus SARS-CoV-2. Entre ellos la velocidad de propagación, donde la movilidad humana es uno de los factores clave que fomentan la rápida propagación de enfermedades [3], la diversidad de afectaciones que tiene de un individuo a otro, su vía de replicación o mecanismos de ingreso a las células del hospedero. Recientemente se ha reportado que la isoforma 2 de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA2) es uno de los receptores de entrada para el SARS-CoV-2. Para ingresar a las células hospedadoras, el dominio de unión al receptor (RBD) de la subunidad S1 del spike busca unirse a la ECA2 en la superficie celular. Posteriormente a este reconocimiento, se lleva a cabo la fusión entre la envoltura del SARS-CoV-2 y la membrana de la célula huésped [4]

La pandemia del SARS-CoV-2 se caracterizó por la velocidad en la que se propagó a nivel mundial, las investigaciones sobre este virus han sido fundamentales para el entendimiento integral de su comportamiento. Junto a esto en las últimas dos décadas los avances tecnológicos en el área computacional han

ayudado a la realización de estudios cada vez más complejos en menor tiempo. Las técnicas computacionales son una herramienta para la investigación en el área de la salud. Se utilizan con la finalidad de estudiar las proteínas y fármacos, desde un punto de vista estructural, que se ven involucrados en diversos mecanismos. Gracias a los recursos computacionales que junto con los estudios *in vivo* e *in vitro* han podido dar soluciones más concretas en tiempos relativamente reducidos.

Los estudios *in silico* engloban métodos teóricos y técnicas computacionales que tienen como finalidad modelar, imitar y predecir el comportamiento de las moléculas. El modelado molecular son las representaciones estructurales y simbólicas de los compuestos químicos. El modelo de esferas y resortes propuesto por August Wilhelm Hoffmann es el más representativo actualmente [5].

El “Docking” o reconocimiento molecular y la Dinámica Molecular (DM) son las simulaciones que se utilizaron en el presente trabajo. El Docking es un estudio independiente del tiempo que busca las posiciones más favorables para la interacción entre dos o más especies a través de la evaluación de parámetros energéticos. En cuanto a la Dinámica Molecular, la cual, es un estudio dependiente del tiempo, se busca ampliar el entendimiento de un sistema, tanto termodinámico como químico a través de las vibraciones intramoleculares e intermoleculares.

La aplicación principal del reconocimiento molecular (Docking) es para moléculas pequeñas o macromoléculas buscando una posición y orientación del ligando respecto al receptor también llamado “modo de unión”. Este proceso es iterativo, ya que las moléculas son estructuras flexibles y por lo tanto el reconocimiento involucra rearrreglos estructurales que afectan las propiedades energéticas del complejo formado.

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán en el Laboratorio de Química Medicinal (LQM) en años anteriores se propuso la síntesis de 27 nuevos compuestos denominados la serie LQM300. Algunas moléculas de esta serie presentaron actividad biológica favorable frente a la isoforma 1 de la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA1). Dicha actividad se corroboró a través de estudios teórico-experimentales. Mediante los estudios computacionales se logró realizar el acoplamiento molecular entre la ECA1 con los ligandos propuestos “LQM300”; así como las dinámicas moleculares de los complejos realizados. En

cuanto a los estudios experimentales de electroforesis capilar se confirmó la interacción favorable que permitió concluir que existe un grado de inhibición de la ECA1 por efecto de los LQM300 [6].

Es por esto que en el presente trabajo se realiza la investigación sobre la actividad de 5 compuestos de esta serie que fueron estudiados. Partiendo de estos resultados se propone demostrar por medio de estudios *in silico* si existe la inhibición en el proceso de interacción entre la subunidad S1 del spike y la ECA2.

2. ANTECEDENTES

2.1 COVID 19

La enfermedad de COVID 19 es ocasionada por el nuevo coronavirus “SARS-CoV-2”. La OMS supo de la existencia de este nuevo virus el 31 de diciembre de 2019, al ser informada de un grupo de casos de “neumonía vírica” que se había declarado en Wuhan (República Popular de China) [2]. La transmisión de este virus ocurre principalmente entre los miembros de la familia, amigos o personas que se comunican íntimamente con pacientes o portadores de incubación [7]

Esta enfermedad infecciosa respiratoria aguda emergente, se propaga principalmente a través del tracto respiratorio, por gotículas, secreciones respiratorias y contacto directo. Es altamente transmisible en humanos, especialmente en ancianos y personas con enfermedades subyacentes. Los síntomas más frecuentes de esta enfermedad son la fiebre, tos seca y cansancio, algunos síntomas menos frecuentes son la pérdida del gusto o el olfato, congestión nasal, conjuntivitis, dolor de garganta, dolor de cabeza, dolores musculares o articulares, diarrea, náuseas o vómitos [2].

2.2 SARS-CoV-2

Los coronavirus (CoV) son virus de RNA monocatenario con polaridad positiva, de acuerdo con estas características el virus pertenece al grupo IV según la clasificación de Baltimore, se encuentra dentro del género *Betacoronavirus*. El Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) clasifica la familia *Coronaviridae* en cuatro géneros: *alfacoronavirus* (14 subgeneros), *Betacoronavirus* (5 subgeneros), *Deltacoronavirus* (3 subgenereos) y *Gammaacoronavirus* (3 subgeneros) [8]

El término “coronavirus” se refiere a la apariencia de los viriones CoV cuando se observa bajo microscopía electrónica, donde las proyecciones en pico de la membrana del virus dan la apariencia de una corona solar [4], como se puede observar en la Figura 1. Estructuralmente, el SARS-CoV-2 tiene cuatro proteínas estructurales principales que incluyen la glucoproteína del spike (S), la

glucoproteína de envoltura pequeña (E), la glucoproteína de membrana (M) y la proteína de la nucleocápside (N) [9].

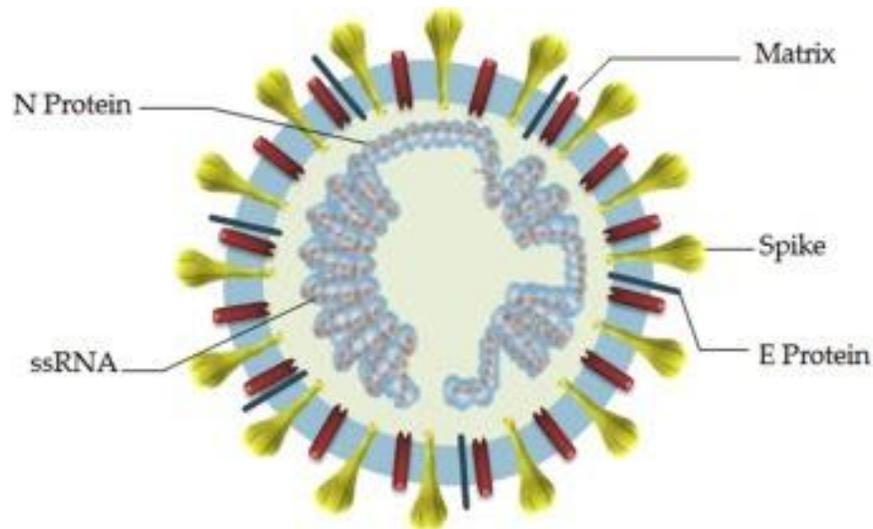


Figura 1: Estructura del síndrome respiratorio agudo coronavirus 2 [9]

El spike o glucoproteína S es una proteína transmembranal con un peso molecular aproximadamente de 150 kDa, se encuentra en la parte externa del virus. En la subunidad S1 del spike se encuentra el dominio de unión al receptor, mientras que la subunidad S2 actúa para promover la fusión del virus en las células transmisoras del huésped [9].

El spike forma homotrímeros que, al encontrarse expuestos en la superficie viral, facilita la unión de los virus con las células huésped a través de la ECA2 [9]. Esta proteína se encuentra en varios órganos humanos (mucosa oral y nasal, nasofaringe, pulmón, estómago, intestino delgado, colon, piel, ganglios linfáticos, timo, médula ósea, bazo, hígado, riñón y cerebro). La ECA2 está presente en abundancia en los seres humanos en el epitelio del pulmón y el intestino delgado, lo que podría proporcionar posibles vías de entrada para el SARS-CoV-2 [10].

2.3 Diseño de Fármacos Asistido por computadora (DiFAC)

El Diseño de Fármacos Asistido por Computadora (DiFAC) tiene como principio entender las relaciones estructura-actividad biológica o farmacológica de los compuestos. Los objetivos del DiFAC pueden dividirse en tres:

- Diseño o identificación de nuevos compuestos: Se refiere al diseño de nuevas estructuras con efecto biológico en una categoría terapéutica. Una alternativa es la búsqueda dentro de colecciones de compuestos ya existentes, moléculas que tengan una actividad biológica específica.
- Selección candidatos: Los métodos computacionales ayudan a distinguir las moléculas sobre las cuales se deben enfocar las pruebas experimentales desde un inicio, por ejemplo, compra de reactivos, síntesis y evaluación biológica. Sin embargo, los métodos computacionales no reemplazan a los experimentales.
- Optimización de líderes: Para mejorar las propiedades deseadas y disminuir los efectos adversos [11].

El DiFAC cobra cada vez mayor importancia en el área de investigación y desarrollo de medicamentos. Se ha visto beneficiado por la aplicación de exitosos métodos de cómputo para el desarrollo de compuestos que en la actualidad se encuentran en el mercado. El DiFAC forma parte de un esfuerzo multidisciplinario (Figura 2) integrado por diversas áreas de la investigación que incluyen el modelado molecular, quimioinformática, química teórica y química computacional [12].

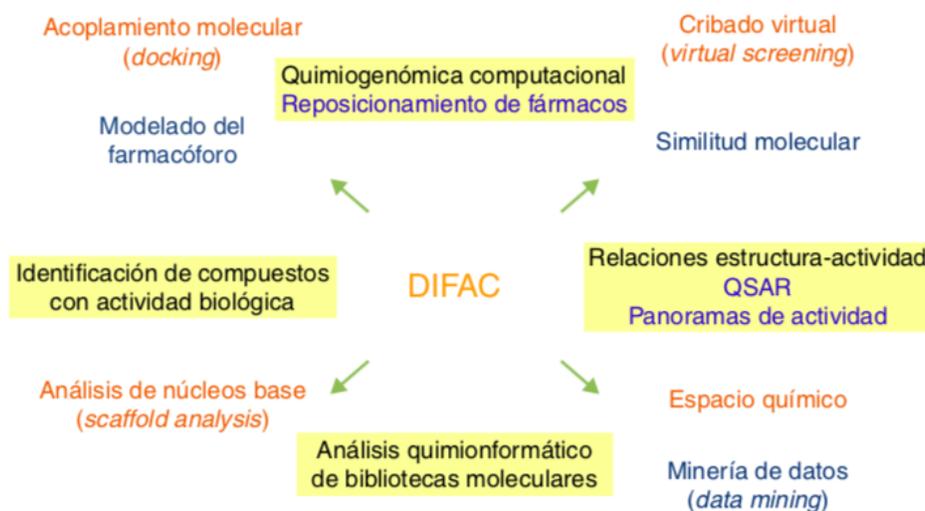


Figura 2: Líneas de investigación representativas de un grupo académico enfocado en DiFAC [12].

2.4 Moléculas con actividad biológica frente a la ECA1

En 1985 Stout y un grupo de investigadores realizaron un estudio de la Changrolina proponiendo una posible actividad antiarrítmica. Para el análisis de la actividad biológica dividieron la estructura en tres regiones. La investigación consistió en modificar cada una de las regiones para determinar qué parte de la molécula era necesaria para llevar a cabo su actividad.

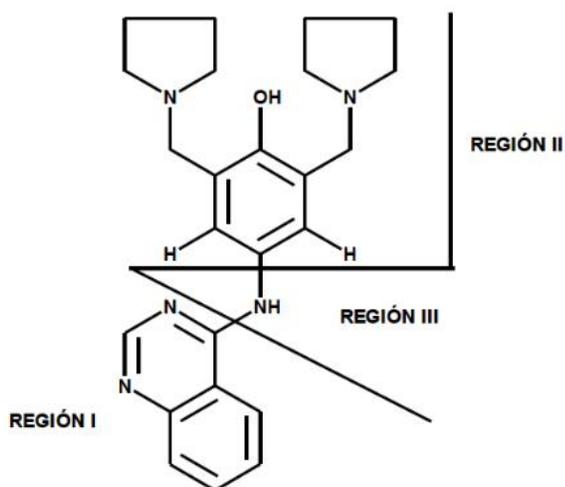


Figura 3: Regiones estudiadas por Stout y su grupo de la Changrolina [13].

Dentro de las conclusiones de esta investigación se encontró que la región II presenta actividad antiarrítmica y sin ésta la actividad es nula [6]. Partiendo de estos estudios la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán en el LQM propuso sustituir los grupos pirrolidínicos de la región II por otros heterociclos, publicando la síntesis de 27 nuevos compuestos derivados del fenol denominados la serie LQM300 [19]. Estos compuestos anteriormente se estudiaron comparándolos con captopril y lisinopril en ratas normotensas e hipertensas.

Todo esto llevó a nuestro grupo a estudiar compuestos análogos a la Changrolina, en los cuales los grupos pirrolidínicos se sustituyeron por morfolina, tiomorfolina y piperidina con diferentes sustituyentes, para ir construyendo series de entrenamiento y prueba [6].

2.5 Estudios entre la Enzima Convertidora de Angiotensina y los LQM300

En el estudio de “Síntesis y efectos antihipertensivos de nuevos derivados de metiltiomorfolinfenol se determinó que existen algunos compuestos de la serie LQM300 que reducen la presión arterial siguiendo un mecanismo semejante al de los inhibidores de la ECA1 [14]. Un segundo estudio teórico experimental sobre el reconocimiento molecular entre la ECA1 y compuestos heterocíclicos derivados del fenol realizó estudios multipaca con un híbrido de mecánica cuántica y mecánica molecular de Gaussian partiendo de la estructura promedio de la dinámica molecular durante la etapa de producción. Se obtuvo los siguientes resultados previos de la energía de interacción entre los complejos de ECA1-LQM300 y ECA1-Captopril (Tabla 1).

Tabla 1: Resultados previos de energía de interacción de los complejos ECA1-LQM en esta tabla se presentan al Captopril y Lisinopril como controles [6].

Complejo	Kcal/mol	Complejo	Kcal/mol
322	-87.31419	314	-38.962174
324	-59.860591	306	-32.35059
304	-56.064164	305	-32.296532
337	-53.301342	Lisinopril	-30.58583
Captopril	-51.175811	312	-26.231985
318	-50.969937	329	-15.276494
344	-50.80808	323	-14.659728
341	-47.870039	335	-14.000115
308	-46.264796	309	-11.676491
328	-46.233113	336	-6.6737138
319	-43.913425	307	-0.4188641

Se reportaron los resultados de la energía de interacción de los complejos, este parámetro da a conocer que compuesto tiene una interacción más estable con el receptor, al tener un valor más bajo de kcal/mol indica que se debe aplicar mayor energía para desestabilizarlo. Por lo tanto, el complejo que presenta mayor estabilidad y afinidad, con respecto a los otros compuestos estudiados, es el ECA1-322.

Parte de este estudio se realizó por medio de electroforesis capilar de zona, en la Tabla 2 se muestra que la inhibición más favorable la presenta el LQM322.

Tabla 2: Porcentaje total de la inhibición de la ECA y su inhibición relativa con respecto al Captopril [6].

Inhibidor	Tm AH/H₂O (min)	%Inhibición Total	%Inhibición Relativa
318	2.3210810	26.546422	28.838398
319	2.3399280	29.306379	31.836645
322	2.5046343	79.945930	86.848334
328	2.5035587	33.728765	36.640853
329	2.3856548	4.6994579	5.1052016
Captopril	2.7856420	92.052347	100
Sin inhibidor	2.6088328	0	0

Con base en lo anteriormente escrito se realizó este trabajo para estudiar la relación entre la isoforma de la proteína ECA2 con los compuestos que tuvieron una mejor interacción con ECA1.

3. HIPÓTESIS

Si existe una interacción favorable entre la ECA2 y los compuestos tiomorfolínicos de la serie LQM300 líderes del estudio frente a ECA1, entonces se presentarán cambios conformacionales que afectarán la estabilidad del complejo ECA2-spike del SARS-CoV-2.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Evaluar la posible actividad biológica de los compuestos de la serie LQM300 mediante estudios *in silico* con la finalidad de determinar la posible inhibición de la interacción del spike del SARS-CoV-2 y la ECA2.

4.2 Objetivos Particulares

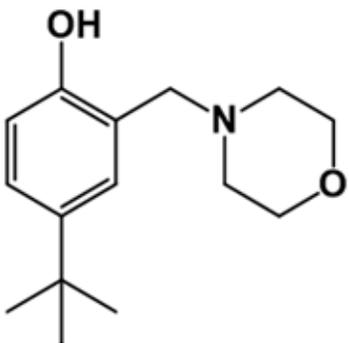
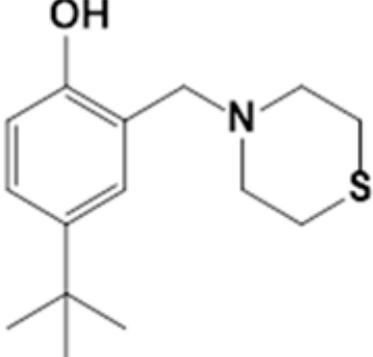
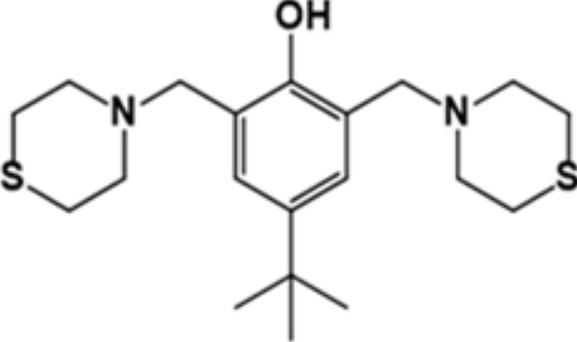
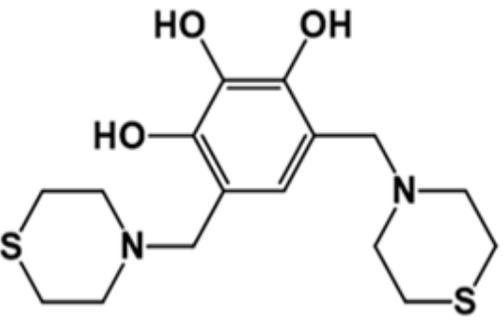
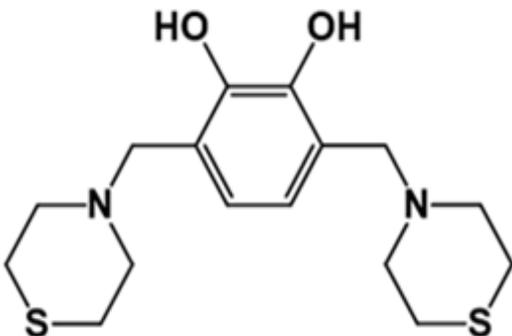
1. Obtener los parámetros para realizar el acoplamiento molecular a través de una validación del Docking.
2. Simular el proceso de reconocimiento molecular entre la ECA2 y los compuestos de la serie LQM300.
3. Realizar el acoplamiento molecular entre la ECA2 y el spike del SARS-CoV-2.
4. Determinar el posible acoplamiento molecular entre el complejo ECA2-LQM con el spike del SARS-CoV-2.
5. Cuantificar los parches de interacción para cuantificar las aportaciones generadas durante el reconocimiento molecular de cada uno de los complejos propuestos.
6. Calcular las trayectorias de dinámica molecular de cada uno de los complejos obtenidos del Docking.
7. Evaluar el nivel de inhibición de las interacciones a través de los parámetros termodinámicos.

5. METODOLOGÍA

5.1 Modelado de las estructuras LQM

Para generar las estructuras de los 5 compuestos tiomorfolínicos (Tabla 3) con posible actividad inhibitoria de la serie LQM300 en MOE (Molecular Operating Environment) [21]. Se dibujaron en el módulo "Builder", generando una base de datos.

Tabla 3: Estructuras 2D de los compuestos estudiados

LQM304	LQM318
	
LQM319	
	
LQM322	LQM324
	

5.2 Validación del acoplamiento molecular proteína-ligando en MOE.

De la base de datos Protein Data Bank (PDB) se descargó la estructura cristalina “Complex of the anti-hypertensive drug captopril an the human testicular angiotensin I-converting enzyme” (1UZF) [15]. La validación con esta isoforma se llevó a cabo debido a que el complejo y la familia de la ECA mantienen regiones conservadas entre las dos isoformas (ECA1 y ECA2) y el captopril (ligando) es la molécula que se encuentra interaccionando con esta proteína.

Se comenzó a trabajar en el programa MOE el sistema del PDB descargado. Teniendo unicamente la proteína “ECA2” en el programa, se preparó en el modulo QuickPrep la optimización geométrica y energética, utilizando una corrección que toma en cuenta los átomos junto con las cargas parciales con respecto a un campo de fuerza (FF) “Amber10:EHT”. También se ajustan las distancias y ángulos de los grupos OH permitiendo su óptima orientación, las moléculas de agua se mantuvieron rígidas y el gradiente utilizado para la minimización fue de 0.01 RMS Kcal/mol/Å.

Al terminar la optimización se reincorporó el captopril a la proteína en el programa MOE. El acoplamiento molecular entre estas dos especies se ejecutó con el módulo de “Dock” General. Los parámetros seleccionados son los siguientes: “Triangle Matcher” siendo el método para la búsqueda del posicionamiento inicial de cada uno de los ligandos, “London dG” con 100 posiciones del ligando en el sitio de posible interacción para la evaluación energética. En cuanto al refinamiento final de las posiciones “GBI/WSA dG” para la evaluación energética con 50 posiciones probables.

La mejor posición del acoplamiento molecular proteína-ligando se seleccionó con el cálculo de desviación media cuadrática (RMSD) de las coordenadas atómicas.

$$RMSD = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \delta_i^2}$$

Desviación de la raíz cuadrada media (RMSD) donde N es el número de átomos y δ_i es la distancia entre átomos. Los valores menores de 1 indican que el plegamiento de la proteína se conserva mejor entre el modelo y la plantilla.

Para obtener el RMSD se abrió en el programa MOE la estructura de referencia (1UZF) y se comparó visualmente con todas las posiciones que son generadas en la base de datos del acoplamiento molecular. Realizando la superposición de cada uno de los ligandos se seleccionó la molécula modelada que se encontraba en el mismo sitio que la estructura 1UZF y se descartaron los resultados donde ningún átomo se empalmaba con el de referencia. Una vez teniendo ambos complejos en MOE se fijaron y ataron los átomos.

El cálculo del RMSD se ejecuto en el módulo Aling/Superpose, seleccionando todos los átomos de la estructura de referencia (cadena A) y los átomos de la posición seleccionada (cadena B) llevando a cabo la alineación y superposición de ambas cadenas, posteriormente se realizó el cálculo del RMSD y una vez obtenido los resultados se promediaron.

5.3 Validación del acoplamiento molecular proteína-proteína en MOE.

De la base de datos Protein Data Bank (PDB) se obtuvo la estructura cristalina “Crystal structure of spike protein receptor-binding domain from SARS coronavirus epidemic strain complexed with human-civet chimeric receptor ACE2” (3SCL) [16].

Se trabajó en el programa MOE el sistema del PDB descargado, preparando por separado las dos estructuras del complejo. La primera correspondiente a la proteína de la subunidad del homotrímero del spike viral (subunidad S1) y la segunda correspondiente a la proteína “ECA2”. En el módulo “Sequence Editor” se seleccionaron los aminoácidos de las regiones de interés para cada proteína, creando los sets (Tabla 4) que posteriormente se utilizarán para el acoplamiento molecular entre la ECA2 y el Spike subunidad S1. Estos aminoácidos se han reportado previamente en otros estudios como el sitio de unión entre el spike viral y la ECA2 [16].

Tabla 4: Set de aminoácidos para la subunidad S1 (RBD) del spike y la ECA2

Set para la subunidad S1 (RBD)		Set para la ECA2
Serina109	Asparagina156	Serina1
Treonina110	Ac. Aspártico157	Treonina2
Prolina147	Tirosina158	Leucina6
Alanina148	Glicina159	Treonina9
Leucina149	Fenilalanina160	Treonina13
Asparagina150	Tirosina161	Tirosina16
Cisteina151	Treonina162	Ac. Gltámico20
Tirosina152	Treonina163	Glicina334
Triptofano153	Treonina164	Lisina335
Prolina154	Glicina165	Glicina336
Leucina155	Isoleucina166	Ac. Aspártico 337

En el módulo QuickPrep se llevó a cabo la optimización geométrica y energética, utilizando una corrección que toma en cuenta los átomos junto con las cargas parciales con respecto a un campo de fuerza (FF) “Amber10:EHT”. Se ajustaron las distancias y ángulos de los grupos OH utilizando 0.01 RMS Kcal/mol/Å² para la minimización.

Terminada la preparación de las proteínas se inició el acoplamiento molecular proteína-proteína mediante el módulo de “Dock” Protein-Protein de MOE. El receptor fue seleccionado por los “sets” de la ECA2 siendo el sitio de reconocimiento y para el ligando se eligieron como sitio de reconocimiento del spike viral (subunidad S1) los “sets” del RBD como posibles regiones de interacción.

La mejor posición del acoplamiento molecular se seleccionó con el cálculo de desviación media cuadrática (RMSD) de las coordenadas atómicas. Mediante la metodología “Validación del acoplamiento molecular proteína-ligando en MOE”.

5.4 Acoplamiento molecular “Docking” en MOE

Se llevaron a cabo tres procesos de acoplamiento molecular por las diferentes etapas que se plantearon en el trabajo: la primera fue la interacción del receptor ECA2 y los ligandos propuestos con posible actividad inhibitoria, en la segunda se

simuló el ingreso del virus cuando ocurre el reconocimiento molecular entre la ECA2 y el RBD de la subunidad S1 y la tercera se realizó para la interacción del receptor ECA2 y el Spike subunidad S1 con los ligantes de posible actividad inhibitoria.

Para generar los primeros complejos en MOE del acoplamiento molecular proteína-ligando fueron utilizados la ECA2 previamente preparada y las moléculas de la serie LQM300 para formar los complejos (ECA2-LQM), abriendo ambos archivos al mismo tiempo en el programa. Se ejecutó en el módulo Dock "General", el cofactor de la ECA2 (Zn^{++}) que fue incluido en la selección como parte del receptor y para el ligando se trabajó por separado las 5 estructuras con posible actividad inhibitoria obtenidos de la base de datos realizada. Los parámetros utilizados se mencionan en la metodología de "Validación del acoplamiento molecular proteína-ligando en MOE".

Posteriormente se llevó a cabo el acoplamiento molecular entre el receptor ECA2 y el ligando Spike subunidad S1, ambas estructuras previamente preparadas se abrieron en MOE. Se ejecutó en el módulo "Dock" Protein-Protein, los parámetros utilizados se mencionan en la metodología de "Validación del acoplamiento molecular proteína-proteína en MOE".

El último acoplamiento molecular realizado fue entre el receptor "ECA2-LQM" y el ligando "Spike subunidad S1" para formar el complejo ECA2-LQM-SS1. Este proceso se llevó a cabo mediante el programa MOE con el módulo y las condiciones descritas previamente en el proceso de "Validación del acoplamiento molecular proteína-proteína en MOE".

Una vez terminado el acoplamiento molecular de cada complejo se generaron diferentes bases de datos con las posibles posiciones entre el receptor y el ligando (ECA2-LQM, ECA2-SS1 y ECA2-LQM-SS1). La selección de los complejos más favorables se llevó a cabo bajo dos criterios de aceptación, el primero fue por medio de la búsqueda conformacional, esto quiere decir que la estructura debe conservar el modo de unión y el segundo fue por medio del cálculo de energía mediante la función evaluadora (Score final "S"). Al elegir la mejor posición de los diferentes ligandos estos se fijaron "Keep" y se guardaron.

5.5 Dinámica molecular

Para el estudio de dinámica molecular se utilizó el programa MOE como interfaz para preparar los archivos de la simulación. Estos archivos fueron realizados con NAMD (Nanoscale Molecular Dynamics) y se analizaron los resultados con el programa VMD (Visual Molecular Dynamics).

5.5.1 Dinámica molecular para los complejos ECA2-LQM

Los complejos utilizados para esta dinámica molecular fueron obtenidos del acoplamiento molecular entre la ECA2 y los compuestos de la serie LQM300. En el módulo "Solvate" se ajustaron las condiciones periódicas de cada sistema con la finalidad de mantener constante el número de moléculas, volumen y temperatura, aproximando las condiciones de los complejos para sistemas largos. La solvatación se realizó con moléculas de agua y contraiones Na^+ en un margen de 6 Å; se centraron los complejos y alinearon los ejes de la caja. Posteriormente los complejos fueron minimizados por medio de un script SVL, llevando a cabo cada minimización de manera progresiva comenzando con las áreas de mayor energía.

Para realizar los archivos en NAMD se utilizó como interfaz MOE, ejecutando en el módulo "Dynamics" los parámetros utilizados son: Forcefield Amber10:ETH, reparación de cargas y Gradiente: 0.2 RMS. Para la dinámica el Sample time fue de 0.5 ps y el time step de 0.002 ps. El tiempo total de la simulación fue de 35 ns, de los cuales 5 ns son del proceso de calentamiento y equilibrio del complejo.

Los resultados de la dinámica molecular se analizaron con el programa VMD, se ejecutaron los archivos previamente preparados y guardados en MOE por medio de una terminal "Tk Console". Una vez abierto el complejo se identificaron las especies presentes, en la extensión "Graphics" y "Representations" seleccionando las cadenas "Chain A y Chain B" según fuera el caso.

Al tener seleccionadas ambas especies se realizó el análisis, para los puentes de Hidrógeno, ejecutándolo en la extensión "Analysis" seguido de "Hydrogen Bonds". En este apartado se fueron seleccionando las cadenas, obteniendo gráficos de puentes de Hidrógeno para ECA2-LQM y puentes de Hidrógeno para el receptor ECA2. El RMSD se ejecutó en esta extensión "Analysis" seguido de "RMSD Trajectory Tool", de igual manera se seleccionaron las cadenas

de estudio, se alinearon y posteriormente se obtuvieron los gráficos del RMSD para el ligando (LQM) y del receptor (ECA2).

El gráfico de RMSF se obtuvo por medio de una consola “Terminus^a”, ejecutando el archivo previamente preparado de la dinámica molecular, las condiciones que se ejecutan son “steps inicial 100” y “muestreo 0.5” posteriormente se ingresó la cadena de interés (ECA2) y por último el número del primer residuo.

5.5.2 Dinámica molecular para los complejos ECA2-LQM-SS1

Las dinámicas moleculares para los últimos complejos ECA2-LQM-SS1 se terminaron de preparar en MOE mediante una corrección de errores localizados, ejecutando en el módulo “Protonate 3D”. Las condiciones periódicas para cada sistema se realizaron de igual manera como se menciona en la metodología “Dinámica molecular para los complejos ECA2-LQM”

En la preparación de los archivos NAMD se siguió la metodología de “Dinámica molecular para los complejos ECA2-LQM” realizando un cambio en el tiempo de simulación de 35ns a 45ns. Para los resultados del análisis de puentes de Hidrógeno, RMSD y RMSF se ejecutó la metodología de “Dinámica molecular para los complejos ECA2-LQM”, en este apartado se obtuvieron gráficos para el receptor ECA2-LQM, el Spike Subunidad S1 y del complejo ECA2-LQM-SS1.

5.6 Análisis de “Parches” en MOE

El análisis de parches fue realizado para el receptor ECA2 y el Spike de la subunidad S1 en el complejo ECA2-SS1 y posteriormente se comparó con los parches analizados de los complejos ECA2-LQM. Este cálculo se llevó a cabo con el módulo “Patch Analyzer” en MOE.

El análisis de parches se realizó en los sets de cada una de las proteínas con la finalidad de evaluar si existe algún cambio en el área de interacción de las estructuras tomando al complejo sin inhibidores como referencia. Las aportaciones del comportamiento de los parches se evaluaron dependiendo los tipos de interacción, los cuales pueden ser hidrofóbica, positiva o negativa.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Modelado de las estructuras

Se modelaron las estructuras presentes en la Tabla 4 obteniendo estructuras tridimensionales con geometría optimizada (Figura 4) para llevar a cabo el acoplamiento molecular con el receptor ECA2.

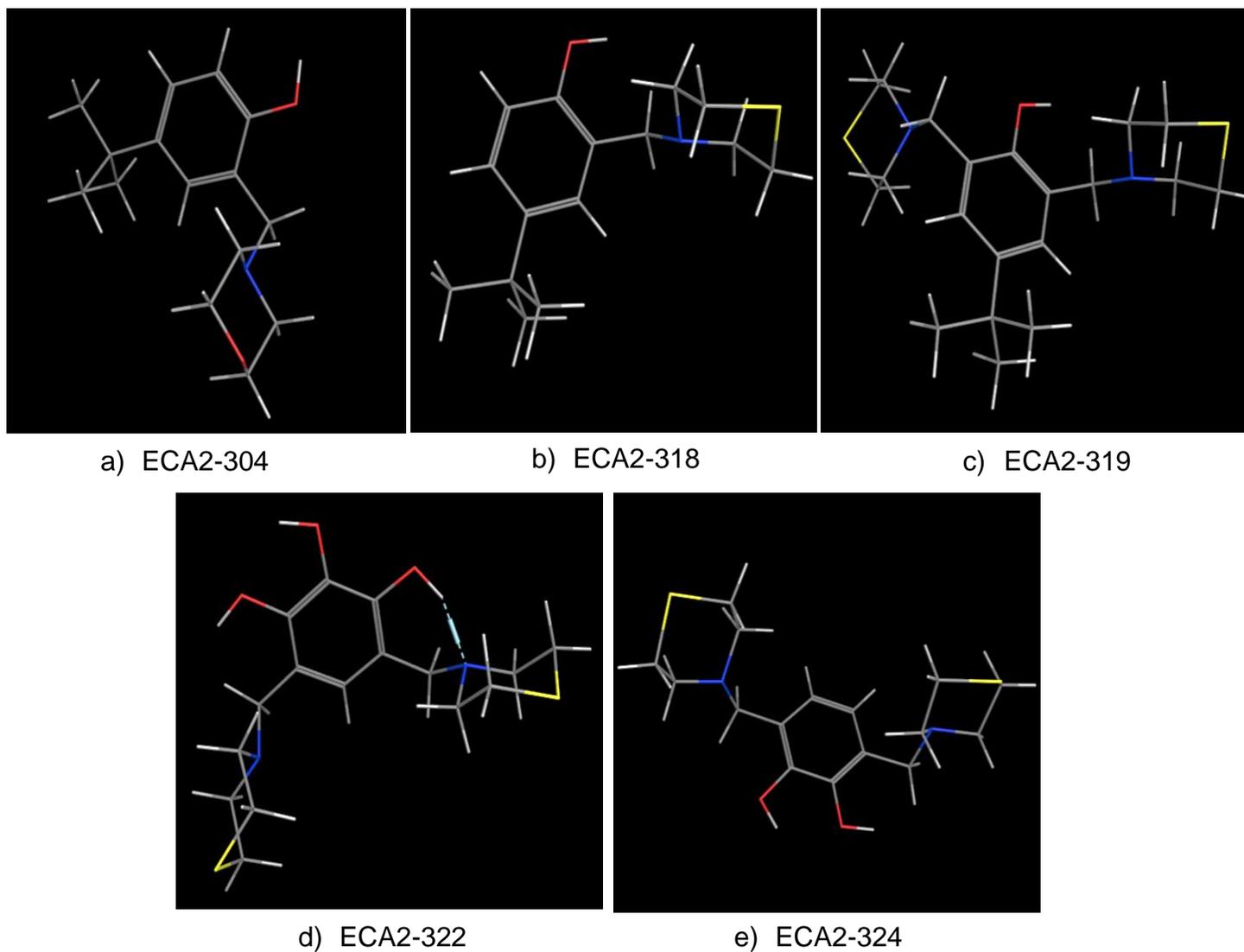


Figura 4: Estructuras 3D de los compuestos estudiados.

6.2 Validación del acoplamiento molecular en MOE

La validación de cualquier método es importante para la obtención de resultados confiables. En esta sección se validó el acoplamiento molecular proteína-ligando y proteína-proteína partiendo de dos estructuras cristalinas previamente mencionadas en la “Validación del acoplamiento molecular proteína-ligando y proteína-proteína en MOE” (1UZF y 3SCL).

6.2.1 Acoplamiento molecular proteína-ligando

La Figura 5 representa gráficamente la validación del acoplamiento molecular, se observa de color verde la posición del Captopril en el sitio activo de la estructura reportada del PDB y en color rosa se representa la estructura del ligando calculada por la metodología de la validación proteína-ligando. Esta representación nos permite tener una idea inicial de como la metodología utilizada se encuentra trabajando para el reposicionamiento del ligando.

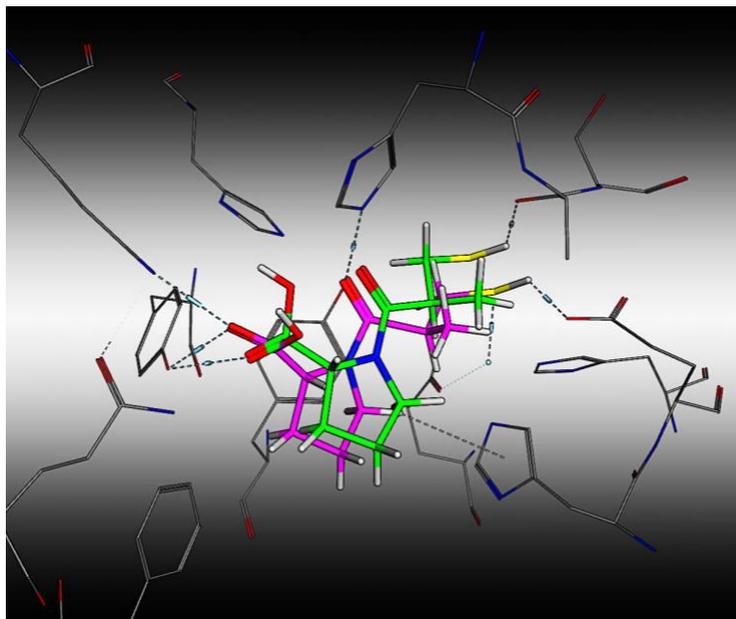


Figura 5: Resultado de la validación del proceso de reconocimiento molecular. Estructura en color verde obtenida del PDB (1UZF) y estructura de color rosa el resultado de la validación con MOE

El RMSD promedio obtenido entre la estructura 1 (1UZF) y la estructura 2 (posición obtenida de la validación) fue de 0.032 Å. El valor de RMSD puede variar

entre 1.5-2.0 Å, dependiendo del tamaño del ligando. Por lo tanto, cualquier valor por debajo de este intervalo es aceptable para validar un proceso de reconocimiento molecular.

6.2.2 Acoplamiento molecular proteína-proteína

En la Figura 6 se representa gráficamente la validación del acoplamiento molecular de ECA2-SS1 (proteína-proteína), se generaron 100 posiciones en la base de datos a partir de las condiciones descritas anteriormente, la posición número 98 se seleccionó por la similitud visual al complejo de referencia. Esta representación permite tener una idea inicial de como se encuentra trabajando el protocolo elegido para el reposicionamiento de las proteínas.

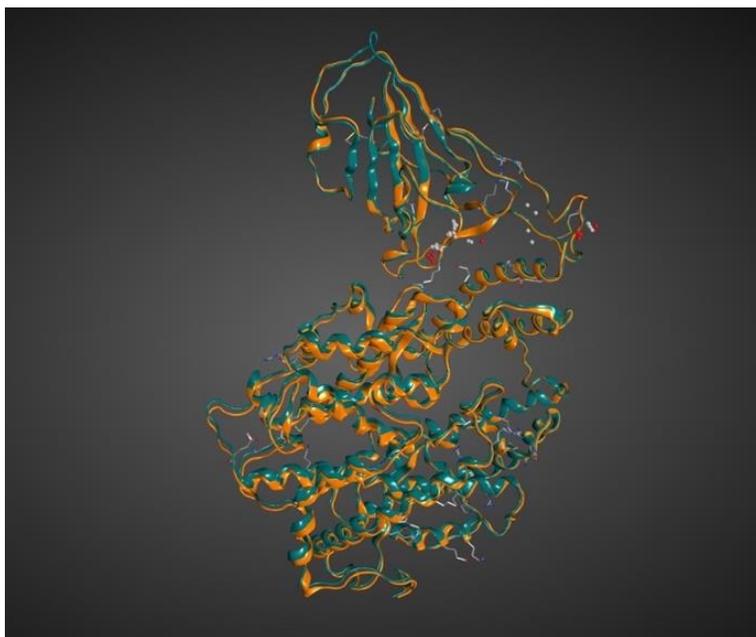


Figura 6: Resultado de superposición del proceso de reconocimiento molecular. Proteína de color naranja obtenida del PDB (3SCL) y proteína de color azul el resultado de la validación en MOE.

Partiendo de este resultado se cálculo el RMSD, ya que este valor es necesario para verificar si la validación es correcta. Al terminar el cálculo (Figura 7) se obtuvo que la diferencia para la posición del spike de la subunidad S1 con respecto a la experimental es de 0.47 Å y para la posición de la ECA2 con respecto a la experimental es de 0.46 Å. Los resultados indican que se está validando el

acoplamiento molecular para este complejo, ya que mientras menor sea el valor de esta desviación de coordenadas atómicas mejor es la similitud estructural.

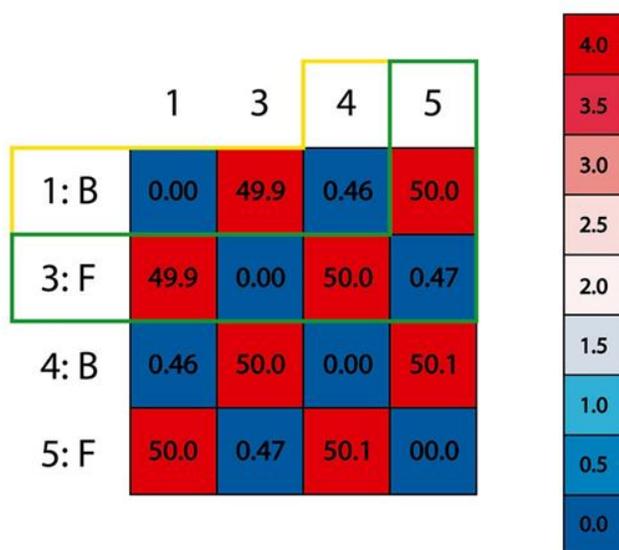
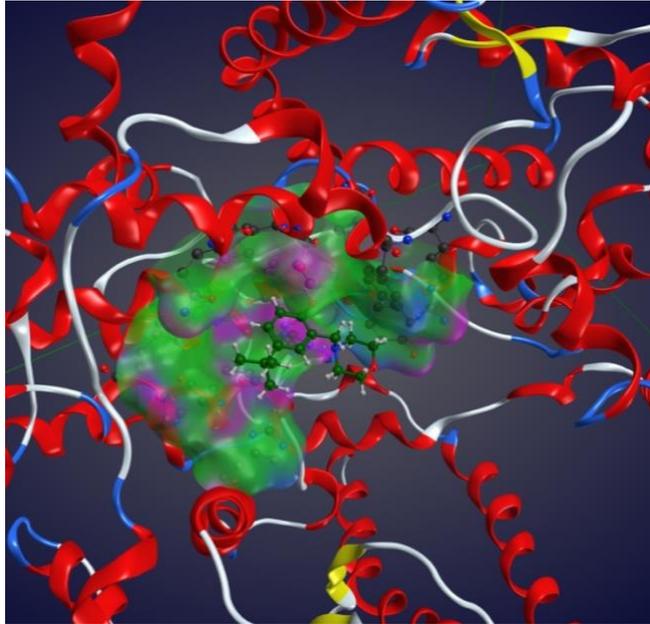


Figura 7: RMSD del complejo ECA2-SS1, el recuadro amarillo compara la cadena 1 y 4 de la ECA2 con 0.46 Å de desviación y el recuadro verde compara las cadenas 3 y 5 de la subunidad S1 con 0.47 Å de desviación.

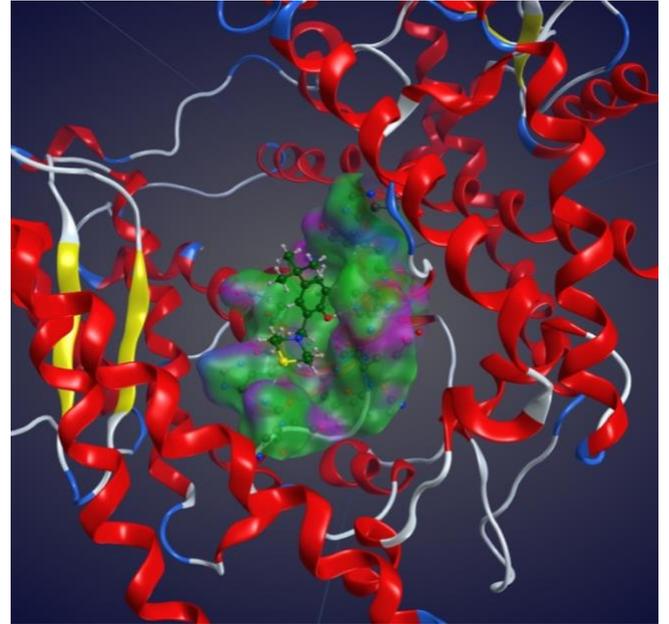
6.3 Acoplamiento molecular “Docking” en MOE y dinámica molecular MOE-NAMD.

Los resultados en esta sección se reportan juntos debido a que los complejos utilizados para la dinámica molecular fueron obtenidos previamente del acoplamiento molecular. Como se mencionó en la metodología se realizaron diferentes etapas de “Docking”, con esta herramienta obtenemos información independiente del tiempo sobre la unión, posición y orientación de las estructuras en estudio.

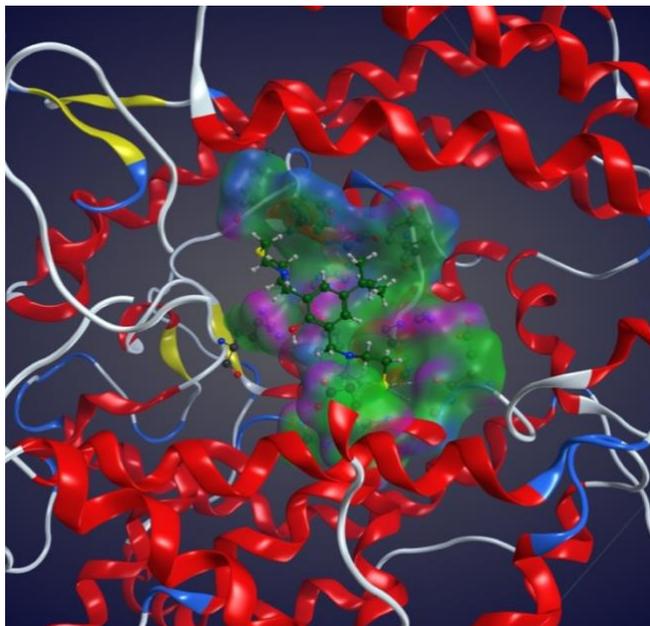
Los primeros complejos formados fueron entre la interacción de los compuestos LQM300 con el receptor ECA2 (ECA2-LQM), este acoplamiento se llevó a cabo principalmente entre el Zn^{++} que es el cofactor de la ECA2 y los compuestos tiomorfolínicos propuestos. En la Figura 8 se representa el acoplamiento molecular de estos complejos y el “pocket” o bolsillo que nos da información sobre el posible acceso a un lugar de acoplamiento de otras estructuras.



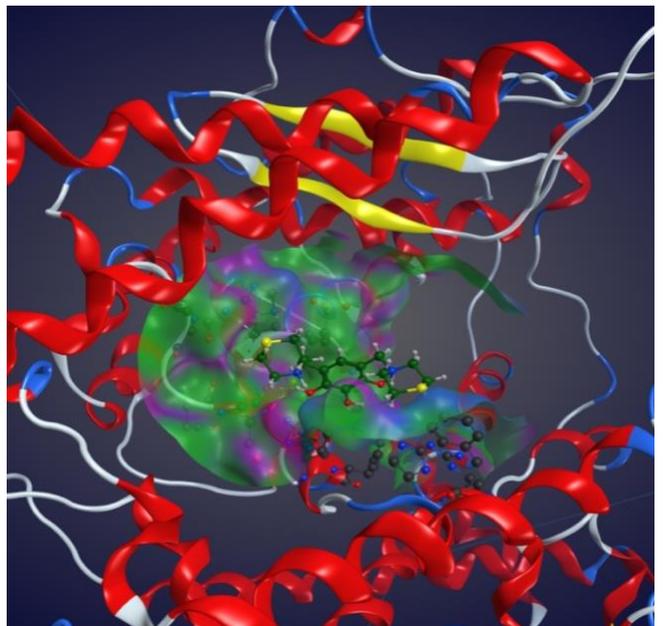
b) ECA2-LQ304



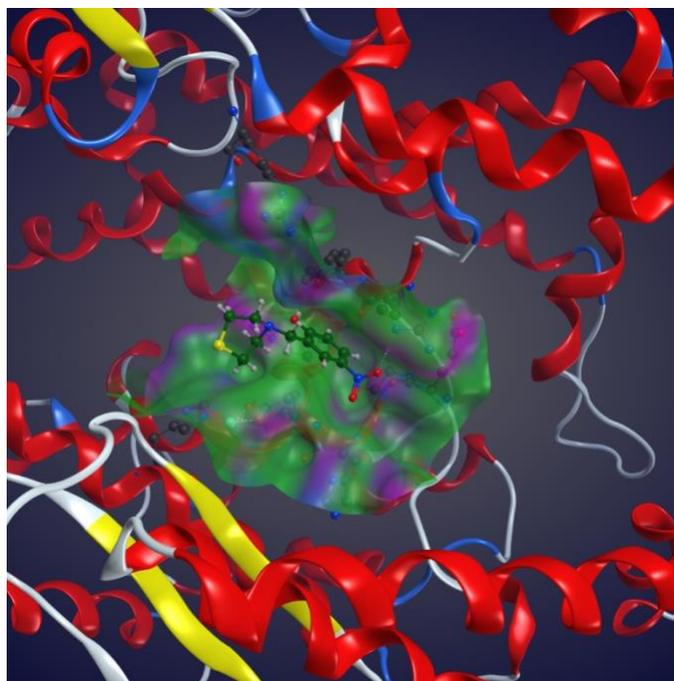
a) ECA2-LQ318



c) ECA2-LQ319



d) ECA2-LQ322



d) ECA2-LQ324

Figura 8: Acoplamiento molecular y “pocket” del receptor ECA2 con los compuestos tiomorfolinicos de la serie LQM300.

Durante los estudios de dinámica molecular de los complejos ECA2-LQM se cuantificaron los puentes de Hidrógeno de cada ligando con el receptor ECA2 durante su interacción. Obteniendo que cuanto mayor es el tiempo y el número de puentes de Hidrógeno es más favorable la interacción para los complejos.

Como se muestra en el Gráfico 1, el ligando del complejo ECA2-304 es el que tiene un menor número de puentes de Hidrógeno durante el tiempo de simulación, permaneciendo únicamente ese enlace. Por otro lado, el ligando del complejo ECA2-322 fue el que mantuvo con mayor fluctuación los puentes de Hidrógeno en un rango de 2 y 4 durante toda la simulación.

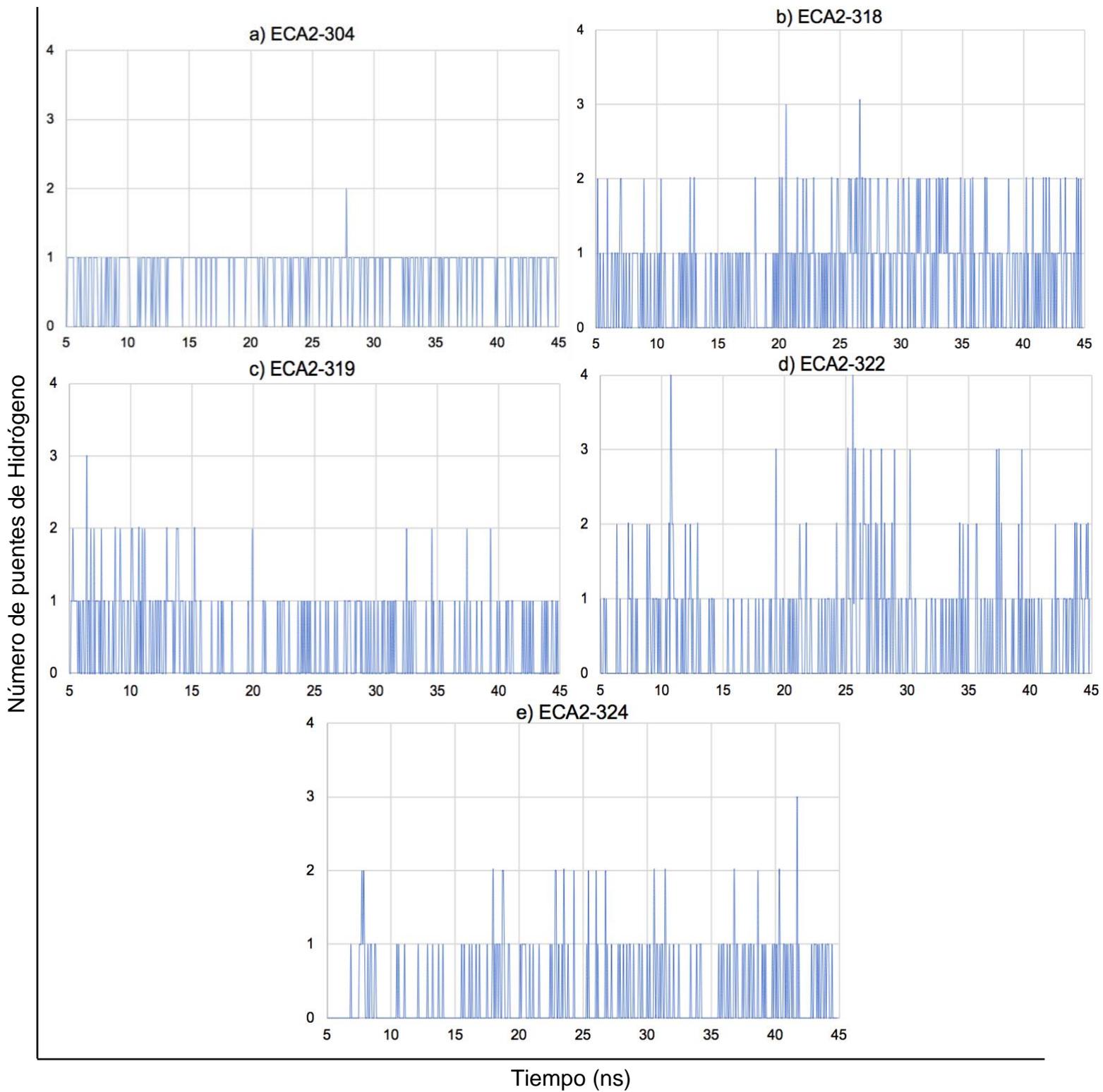


Gráfico 1: Número de puentes de Hidrógeno del ligando LQM para los complejos estudiados ECA2-LQM

Los puentes de Hidrógeno de estos ligandos se justifican debido a la cantidad de centros de enlace que tienen dichos compuestos. El ligando LQM304 tiene dos centros de enlace, el OH en el benceno y el N en morfolina, en cambio el ligando LQM322 presenta en su estructura tres OH del polifenol disponibles para hacer puentes de Hidrógeno (Anexo 1). Esta información es una forma para evaluar la posible complementariedad que tendrá el receptor. Si existiera alguna disminución de los puentes de Hidrógeno durante la dinámica molecular podría indicar junto con otros parámetros que el ligando carece de afinidad.

El Gráfico 2 representa los puentes de Hidrógeno del receptor ECA2 bajo el rango de 100 a 160, con estos resultados se corrobora que no hay desnaturalización de la proteína, ya que se conservan todos los puentes de Hidrógeno de los complejos estudiados.

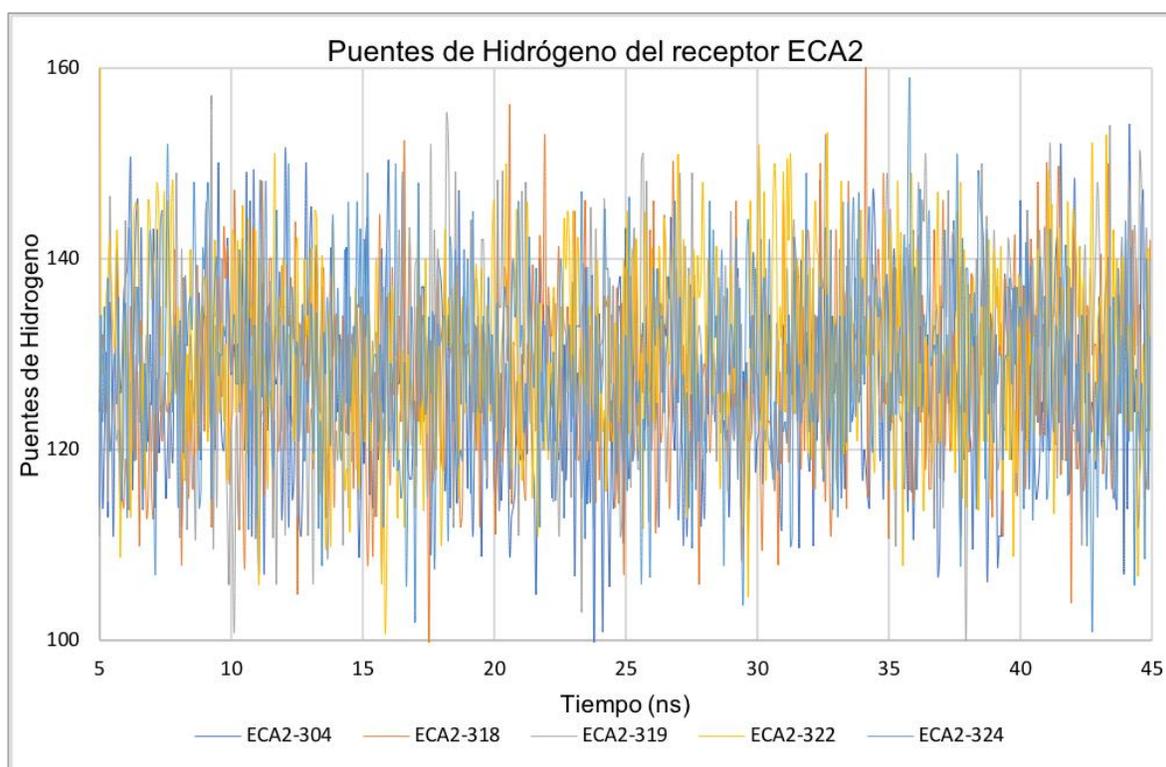


Gráfico 2: Puentes de Hidrógeno del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM

Se calculó el RMSD de los complejos ECA-LQM, el Gráfico 3 representa los resultados únicamente del ligando y el gráfico 4 los resultados del receptor (ECA2). El complejo ECA-304 obtuvo los valores de RMSD más bajos, $0.2951 \pm 0.1941 \text{ \AA}$ para el ligando y $1.4067 \pm 0.1843 \text{ \AA}$ del receptor. Por otro lado el complejo ECA-319

presentó los valores más altos de RMSD, $1.101 \pm 0.3266 \text{ \AA}$ para el ligando y $1.8567 \pm 0.4058 \text{ \AA}$ del receptor. Los resultados indicaron que se alcanzó la estabilidad de estos complejos durante la simulación de la dinámica molecular ya que no presentaron desviaciones que sugirieran lo contrario para este parámetro.

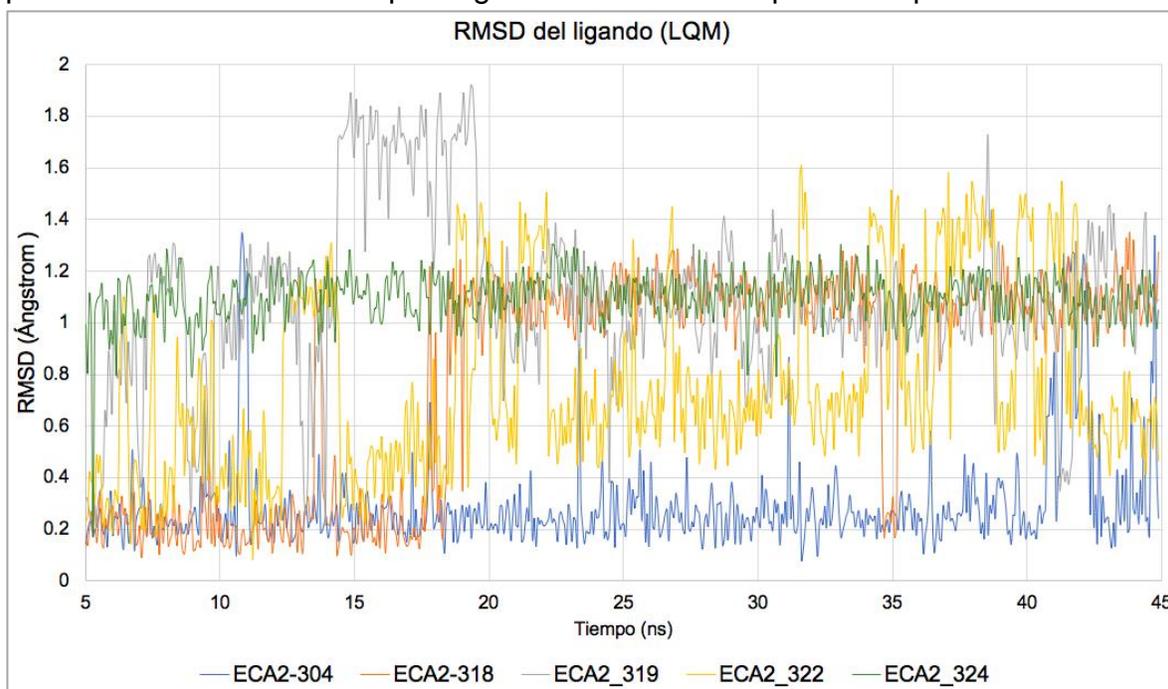


Gráfico 3: RMSD del ligando LQM para los complejos estudiados ECA2-LQM.

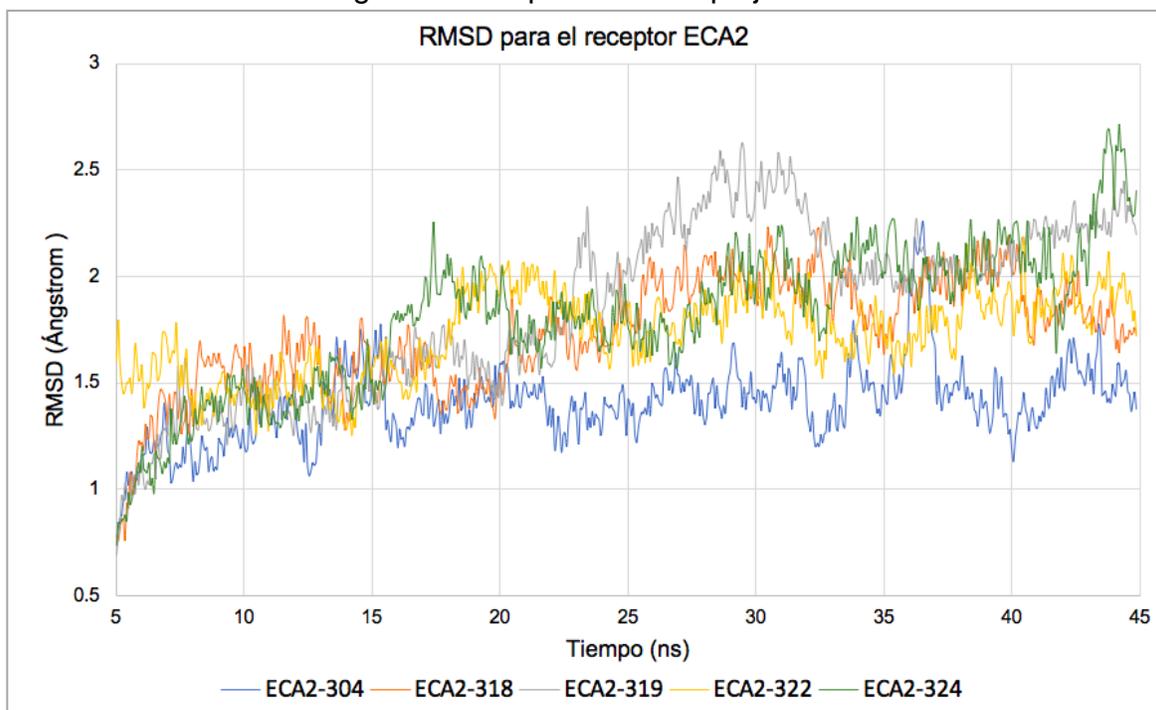


Gráfico 4: RMSD del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM.

El RMSF calculado es el parámetro que nos indica cuando un sistema dinámico fluctúa alrededor de una posición bien definida (residuos). El RMSF se calculó para determinar el nivel de fluctuación de cada aminoácido en los complejos estudiados (ECA2-LQM), con la finalidad de determinar si durante la dinámica molecular se encontraba alguna desviación que se pudiera considerar. Para este caso, el RMSF no presenta fluctuaciones mayores a 0.6 Å en ninguna posición definida entre los complejos estudiados por lo tanto no sugiere que estos sistemas se desestabilicen o pierdan su conformación.

En el Gráfico 5 se observa que los niveles de fluctuación más importantes en todos los complejos estudiados se encuentran entre los residuos 120, 325, 400 y 600. Al realizar una revisión de los aminoácidos de estas regiones (Figura 9) se obtiene que estos aminoácidos se encuentran expuestos y no tienen una geometría bien definida careciendo de estabilidad, por lo tanto el nivel de fluctuación durante la dinámica molecular aumenta.

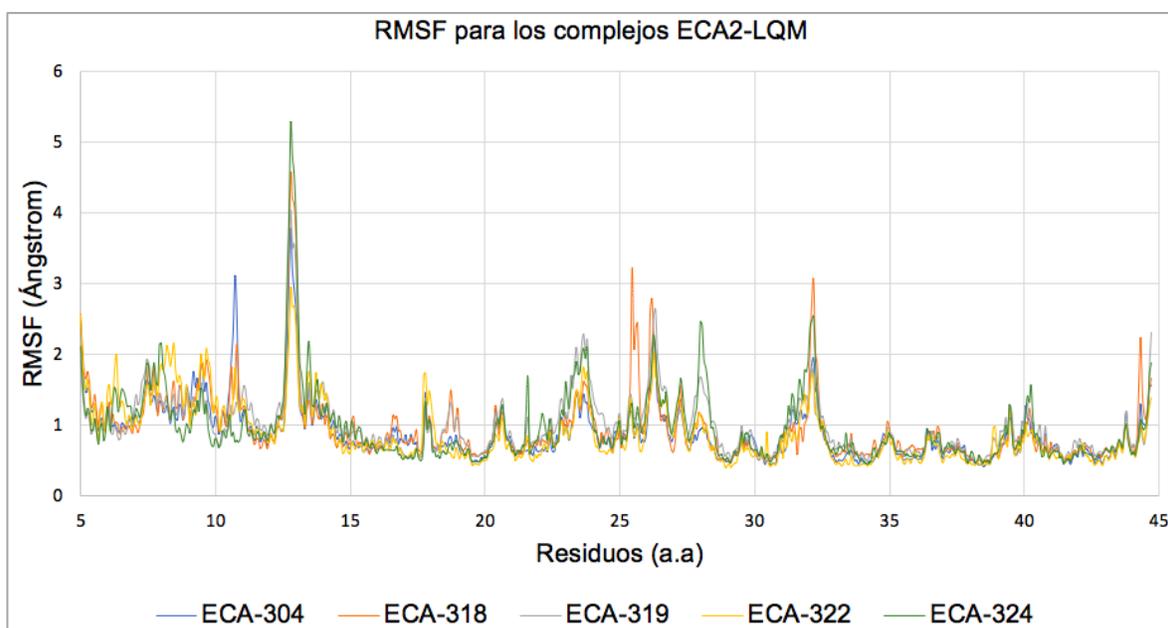


Gráfico 5: RMSF del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM.

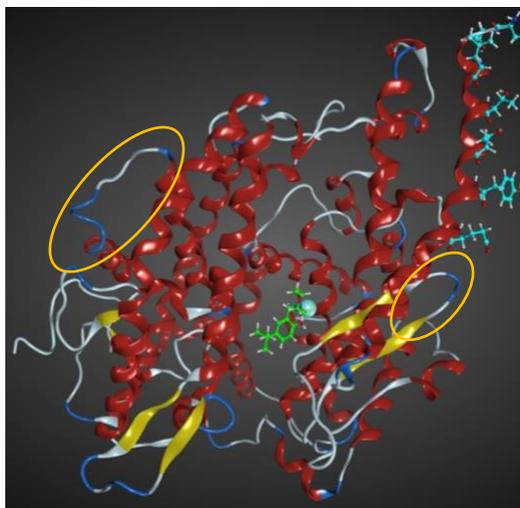


Figura 9: Regiones con mayor fluctuación en la proteína ECA2 (encerradas en amarillo).

La Figura 10 representa el reconocimiento molecular del complejo ECA2-SS1 sin inhibidor, se señalan de color verde los sets del receptor ECA2 y de color rosa los sets del RBD del spike viral.

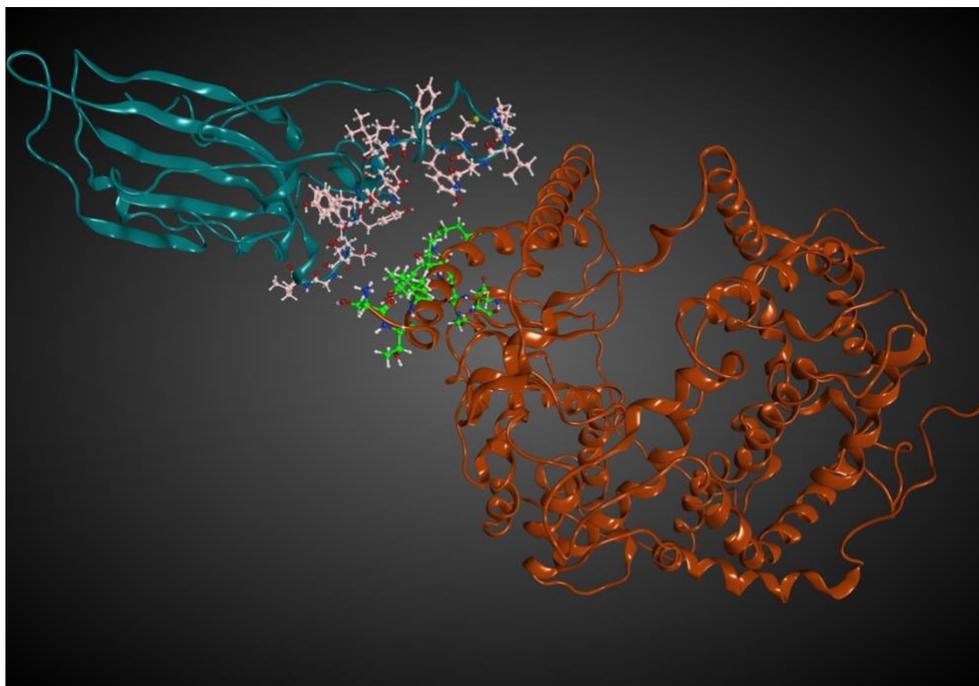


Figura 10: Acoplamiento molecular del complejo entre el spike viral de la subunidad S1 con la ECA2, representando los sets del RBD de color rosa y aminoácidos de los sets del receptor ECA2 involucrado en color verde.

Los resultados obtenidos de los puentes de Hidrógeno del receptor ECA2 de la simulación para los complejos ECA2-304-SS1 (ligando menos estable) y ECA2-322-SS1 (ligando más estable) en comparación con el complejo de referencia (3SCL) nos da información que una vez interaccionando el receptor con los diferentes ligandos, esta proteína sigue conservando de 96 a 159 puentes de Hidrógeno como se muestra en el Gráfico 6. Si existiera la desnaturalización de esta proteína durante la dinámica molecular se vería reflejado en la disminución de estos enlaces.

Durante la simulación se reportaron de 17 a 52 puentes de Hidrógeno del spike viral en los complejos (ECA2-304-SS1, ECA2-322-SS1 y Referencia(3SCL), obteniendo que la estabilidad de esta proteína de igual manera se mantiene durante toda la dinámica molecular (Gráfico 7).

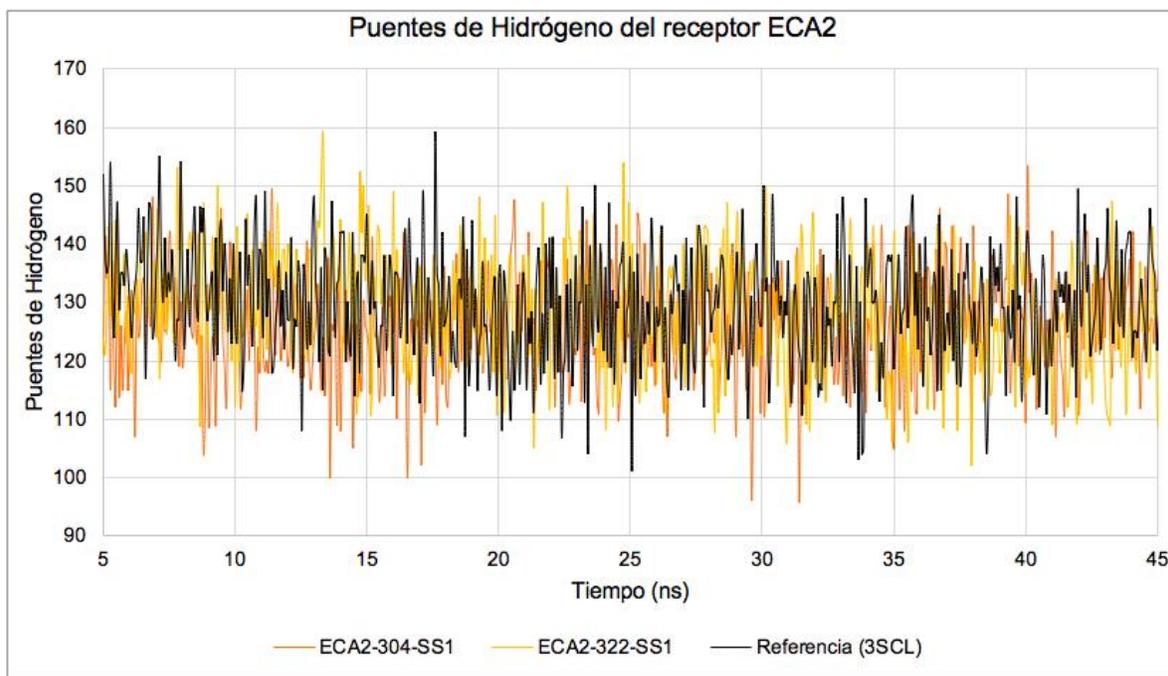


Gráfico 6: Número de puentes de Hidrógeno del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM-SS1

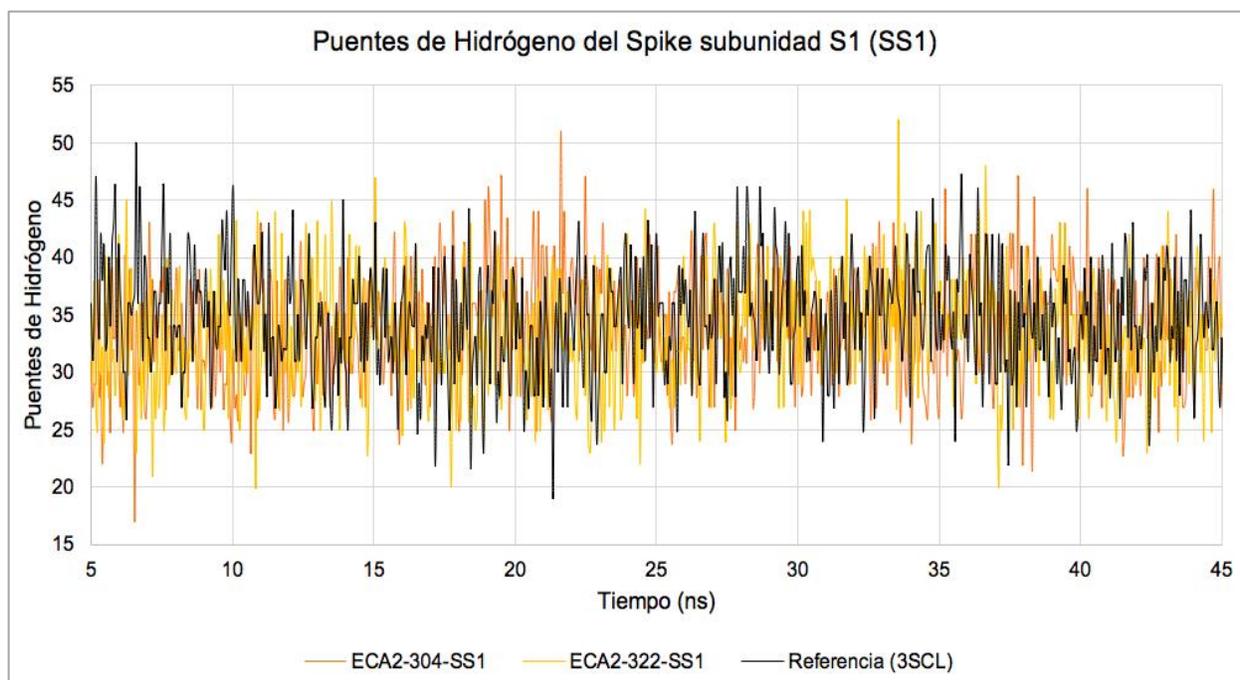


Gráfico 7: Número de puentes de Hidrógeno del Spike subunidad S1 para los complejos ECA2-LQM-SS1.

Los puentes de Hidrógeno que se cuantificaron entre la ECA2 y el spike viral Subunidad S1 evalúan junto con otros parámetros la estabilidad de la interacción entre el complejo. En el Gráfico 8 se obtiene que los puentes de Hidrógeno que ocurrieron entre la ECA2 y el Spike oscilan entre 4 enlaces durante la simulación de 45ns.

Al cuantificar los puentes de Hidrógeno en el complejo ECA2-322-SS1 se observó una disminución de 2 enlaces entre las dos especies ECA2-SS1 (Gráfico 9). Este inhibidor (LQM322) afecta la interacción entre la ECA2 y el spike Subunidad S1 de tal manera que desestabiliza el complejo y la interacción entre la ECA2 y el spike Subunidad S1 no es completa.

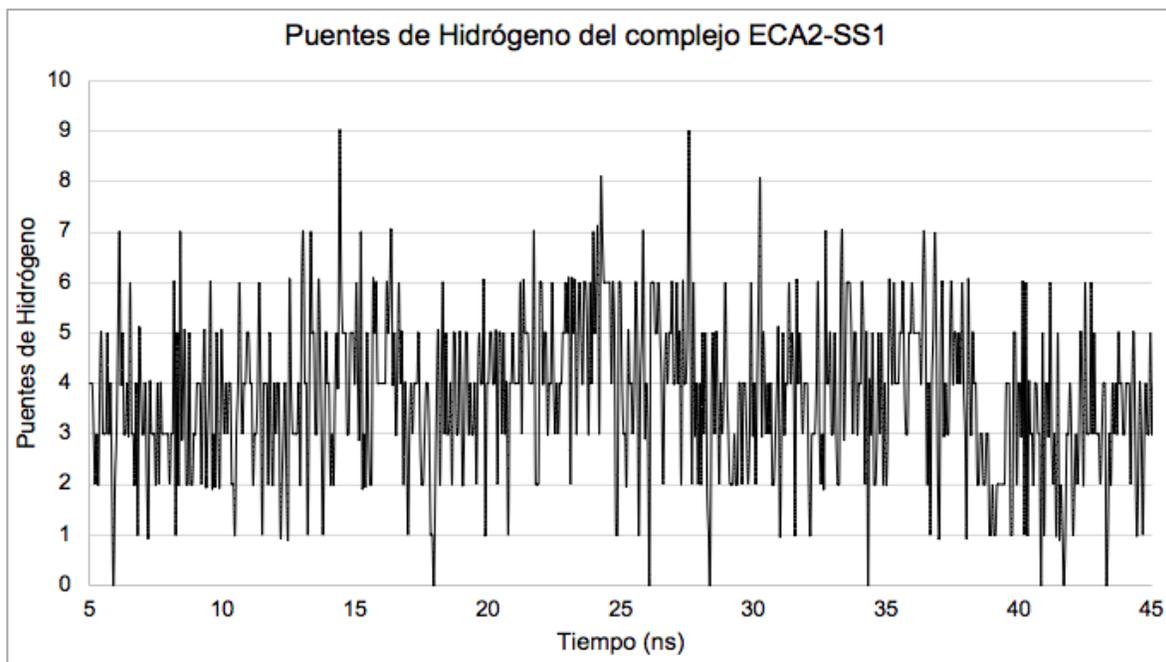


Gráfico 8: Número de puentes de Hidrógeno del complejo ECA2-SS1 (3SCL).

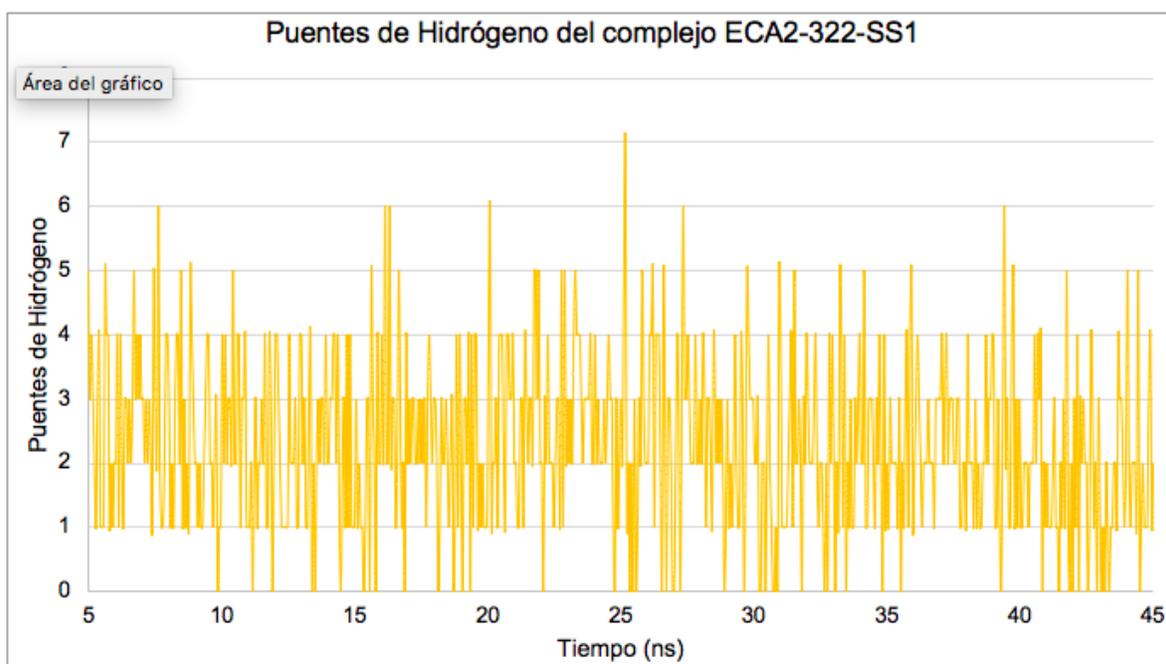


Gráfico 9: Número de puentes de Hidrógeno del ligando del complejo ECA2-322-SS1.

Para seguir evaluando la estabilidad de la interacción de los complejos ECA2-LQM-SS1 primero se midió el RMSD del complejo ECA2-SS1 como referencia, posteriormente se realizó la comparación con los complejos estudiados. El Gráfico 10 muestra el RMSD de referencia (3SCL) teniendo un valor por debajo de los 2.5 Å. El complejo ECA2-322-SS1 mostró un RMSD mayor a 2.5 Å (Gráfico 11), indicando que hay mayor movimiento de los átomos de ambas especies durante la simulación.

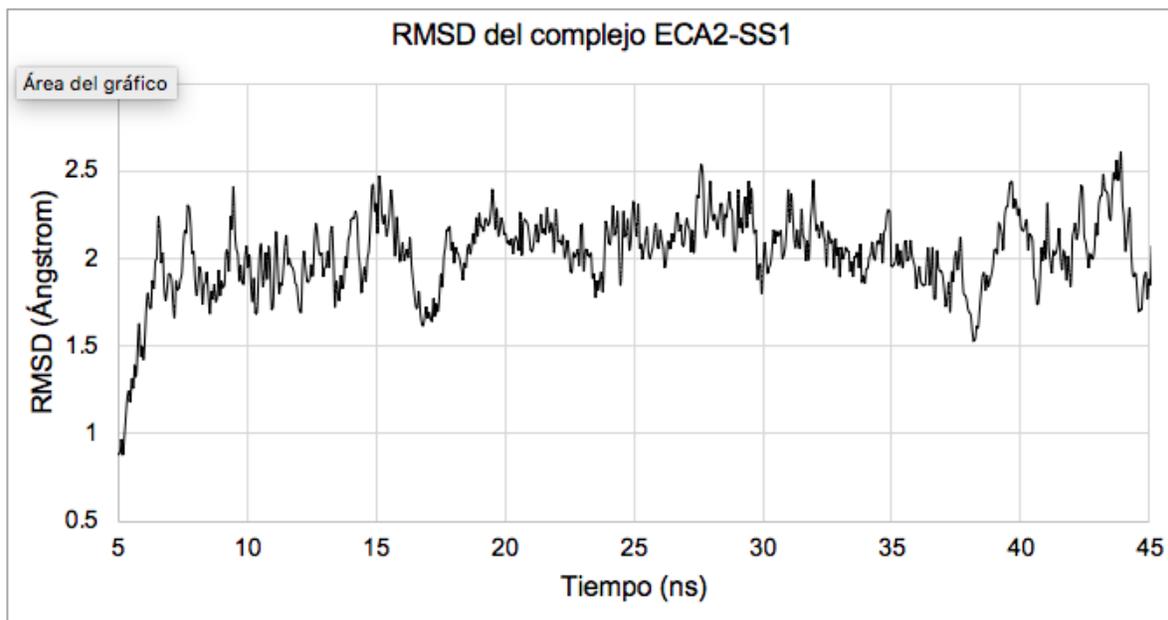


Gráfico 10: RMSD Spike de la subunidad S1 (3SCL) para el complejo ECA2-SS1.

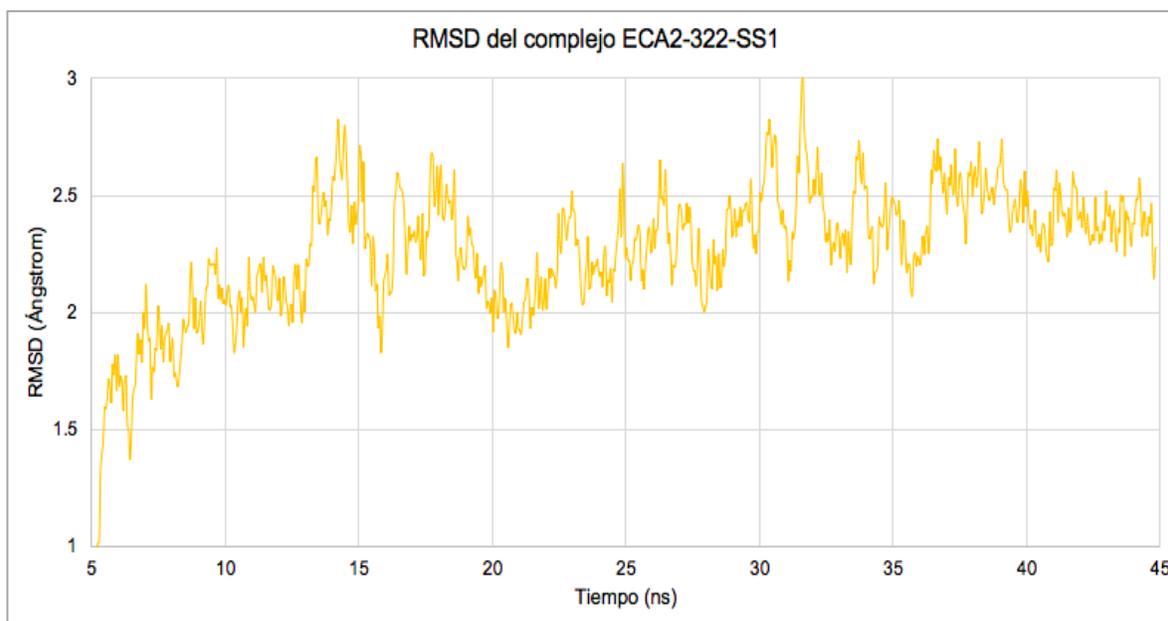


Gráfico 11: RMSD para el complejo estudiados ECA2-322-SS1

Se obtuvieron los valores de RMSF, los cuales no presentan fluctuaciones mayores a 0.8 Å en ninguna posición definida entre los complejos estudiados para ECA2 lo que indica que no existe alguna alteración relevante (Gráfico 12), por lo tanto se mantuvo estable durante toda la simulación junto con el ligando preservando la estabilidad de interacción del complejo. En cuanto a la subunidad S1 mostró una fluctuación en el RBD (Gráfico 13), la región señalada con rojo, en el complejo ECA2-322-SS1 la fluctuación fue mayor por 0.6 Å, suponiendo que puede existir un cambio conformacional para el spike viral frente a este ligando.

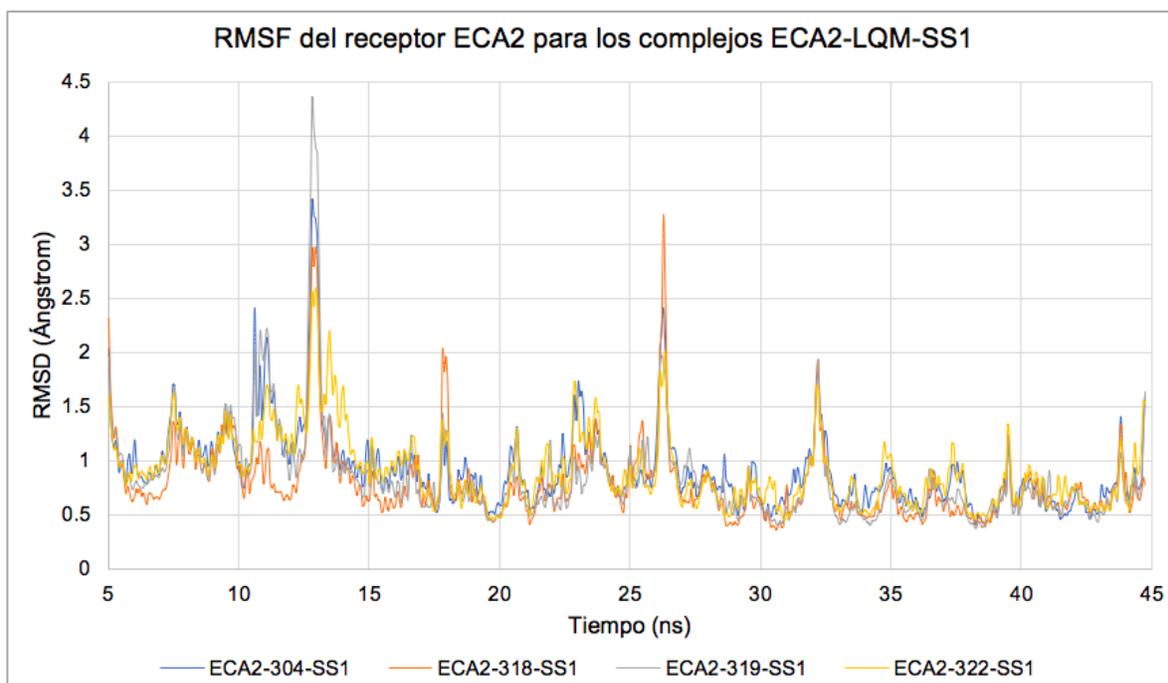


Gráfico 12: RMSF del receptor ECA2 para los complejos estudiados ECA2-LQM-SS1.

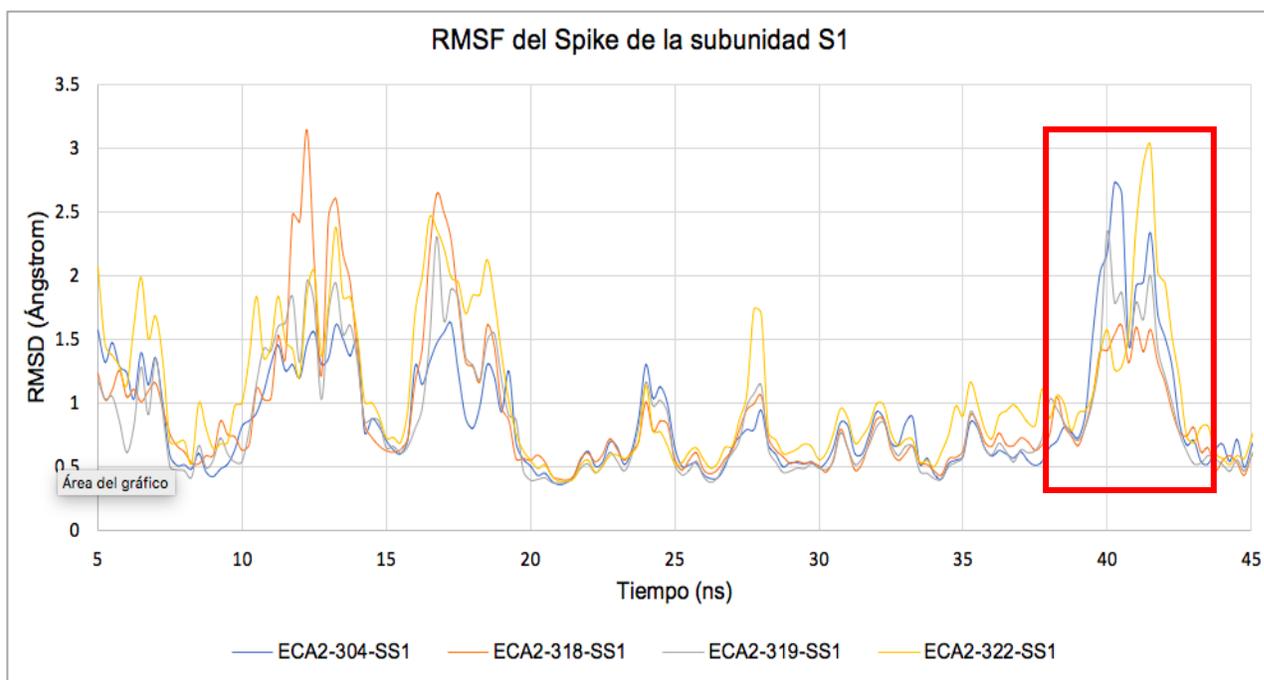


Gráfico 13: RMSF del Spike subunidad S1 para los complejos estudiados ECA2-LQM-SS1.

6.4 Análisis de “Parches” en MOE

Para finalizar el trabajo se realizó un análisis de parches con la finalidad de analizar la complementariedad química existente entre los complejos ECA2-SS1 y ECA2-LQM-SS1. Los resultados obtenidos para el Spike viral subunidad S1 se muestran en la Tabla 5, únicamente en los sets previamente realizados (RBD). Se muestran tres diferentes tipos de parches, donde cada una de estas regiones tiene su contraparte con el receptor ECA2. Se presenta el área y porcentaje.

Esto incluye los diferentes tipos de parches, donde cada una de estas regiones tiene su contraparte en el receptor ACE2. Además, se muestra el número de identificación del parche, seguido de los aminoácidos presentes en cada parche. También está el área en Å de cada uno de los parches y al final el porcentaje del área con respecto a la superficie total en Å

Tabla 5: Análisis de parches, hidrófobico, carga positiva y negativa para el Spike de la subunidad S1.

Spike subunidad S1		
	Área Å	%ASA
Hidrofóbico	419.4	4.87
Negativo	224.7	2.62
Positivo	204.3	2.38

Tabla 6: Análisis de parches hidrófobico, carga positiva y negativa para el receptor ECA2 y los complejos ECA2-LQM.

	ECA2		ECA2_304		ECA2_318		ECA2_319		ECA2_322		ECA2_324	
	Area	%Asa	Area	%Asa	Area	%Asa	Area	%Asa	Area	%Asa	Area	%Asa
Hidrofóbico	127.45	0.57	112.25	0.50	66.37	0.30	73.40	0.33	72.85	0.33	63.90	0.29
Negativo	150.20	0.67	157.65	0.70	156.35	0.72	148.50	0.66	165.10	0.73	152.15	0.68
Positivo	58.60	0.26	0.00	0.0	214.00	0.95	50.50	0.20	163.40	0.74	164.10	0.73

7. CONCLUSIONES

Se llevaron a cabo los estudios *in silico* para evaluar la actividad biológica posible de los compuestos LQM300 en la inhibición de la interacción del spike del SARS-CoV-2 y la ECA2.

Se cumplieron los objetivos particulares en cuanto a la determinación de los parámetros adecuados para llevar a cabo el acoplamiento molecular a través de una validación del Docking, generando los resultados de reconocimiento molecular entre la ECA2 y los compuestos LQM (304, 318, 319, 322 y 324), se obtuvo el acoplamiento molecular entre la ECA2-LQM y el spike del SARS-CoV-2, se analizaron los parches de interacción para cuantificar las aportaciones generadas durante el reconocimiento molecular de cada uno de los complejos propuestos, se calcularon las trayectorias de dinámica molecular de cada uno de los complejos obtenidos previamente en Docking.

Se evaluó el nivel de inhibición de las interacciones a través de los parámetros termodinámicos y estadísticos: por medio de puentes de hidrógeno, el complejo ECA2-SS1 durante la simulación conserva 4 enlaces, por otro lado, el complejo ECA-322-SS1 disminuye a 2 puentes de hidrógeno durante la simulación. El segundo parámetro fue el cálculo del RMSD donde el valor para el complejo ECA2-SS1 es de 2.5 Å, en cuanto el complejo ECA2-322-SS1 su valor de RMSD fue mayor de 2.5 Å. Por último, se calculó el RMSF para los aminoácidos de la ECA2 y del Spike obteniendo una fluctuación relevante en el spike frente al ligando LQM322.

Los estudios computacionales realizados en este trabajo para evaluar la interacción entre el receptor ECA2 humano y la subunidad S1 del Spike viral "SARS-CoV-2", indican que el candidato LQM322 disminuye la interacción entre ambas proteínas. Los resultados de los análisis computacionales permitieron determinar que las estabilidades e interacciones complejas se ven afectadas al utilizar el compuesto antes mencionado al comparar el comportamiento con un sistema sin inhibidores (referencia) para así conocer el comportamiento de la interacción del complejo proteico con respecto al tiempo (45ns).

Al realizar la comparación de los diferentes sistemas propuestos con inhibidores, los parámetros como enlaces de Hidrógeno, RMSD, RMSF y parches de interacción indican que la interacción entre ambas proteínas se reduce significativamente con el compuesto LQM322. A pesar de que con los otros

compuestos LQM se observa una ligera alteración en la interacción, estos estudios no nos permiten afirmar si es significativa.

Por otro lado, el compuesto LQM304 fue el candidato con menor alteraciones durante todo el estudio computacional de dinámica molecular, cabe resaltar que debido al tipo de estudio no es necesario utilizar todo el sistema completo del Spike viral, esto permite que el tiempo de cálculo sea menor. Obteniendo un beneficio en la optimización del tiempo.

Con base en todo lo anteriormente expresado, es posible afirmar que el compuesto LQM322 es un buen candidato para la inhibición de estas dos proteínas (ECA-SS1), se espera que posterior a esta investigación se pueda llegar a la etapa de estudios *in vitro* y de esta manera evaluar su actividad.

8. REFERENCIAS

- [1] Panel de control de coronavirus de la OMS (COVID-19). (2021). Consultado el 17 de junio de 2021 en <https://covid19.who.int/>.
- [2] Coronavirus (CoV) GLOBAL. (2021). Consultado el 17 de junio de 2021 en https://www.who.int/es/health-topics/coronavirus#tab=tab_1.
- [3] Irini, F., Kia, A., Shannon, D., Jannusch, T., Murphy, F., & Sheehan, B. (2021). Associations between mobility patterns and COVID-19 deaths during the pandemic: A network structure and rank propagation modelling approach. *Array*, 11, 100075. <https://doi.org/10.1016/j.array.2021.100075>.
- [4]. Wang, Q., Zhang, Y., Wu, L., Niu, S., Song, C., & Zhang, Z. et al. (2020). Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using Human ACE2. *Cell*, 181(4), 894-904.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.03.045.
- [5] Alarcon, A. (2020). Estudios de reconocimiento molecular de amidas derivadas del ácido cinámico y fenil acético y su posible blanco biológico (apoptosis). [Tesis de maestría]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- [6] Vázquez, V. (2019). Estudio teórico y experimental del reconocimiento molecular entre la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) y compuestos heterocíclicos derivados del fenol. [Tesis de doctorado]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- [7] Yan, R., Qing, C., Hong, Z., Tan, Y., Chen, S., Jin, H., Tan, K. & Whanf, D. (2020). The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status. *Military Med Res*, 7. <https://doi.org/10.1186/s40779-020-00240-0>.
- [8]. ICTV. [Talk.ictvonline.org](http://talk.ictvonline.org). (2021). Consultado el 24 de junio de 2021 en <https://talk.ictvonline.org/>.
- [9] Astuti, I., & Ysrafil. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes & Metabolic: Syndrome Clinical Research & Reviews*, 14(4), 407-412. doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.020
- [10] Hamming, I., Timens, W., Bulthuis, M., Lely, A., Navis, G. y van Goor, H. (2004). Distribución tisular de la proteína ACE2, el receptor funcional del

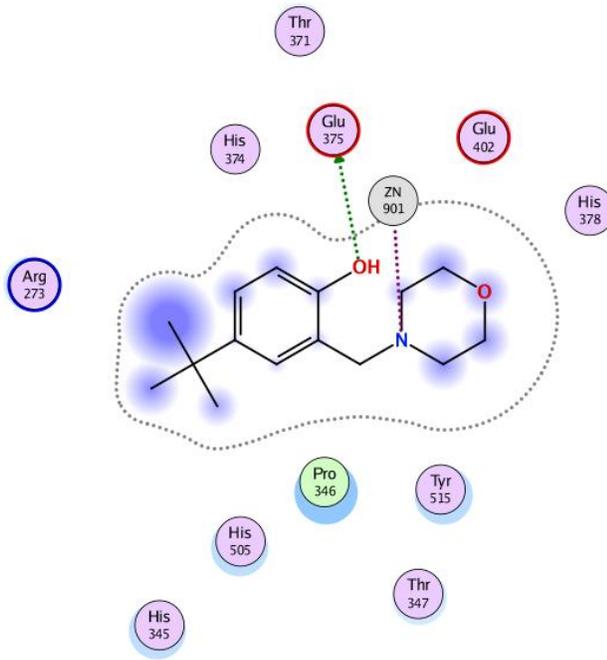
- coronavirus del SARS. Un primer paso para comprender la patogénesis del SARS. *Revista de patología* , 203 (2), 631-637. <https://doi.org/10.1002/path.1570>
- [11] Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. y Medina-Franco, J. (2017). Drug discovery and development: A computational approach. *Educación Química* , 28 (1), 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002>.
- [12] Medina-Franco, J., Fernández-de Gortari, E. y Naveja, J. (2015). Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química* , 26 (3), 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2015.05.002>
- [13] Stout, D., Matier, W., Barcelon-Yang, C., Reynolds, R., & Brown, B. (1985). ChemInform Abstract: Synthesis and antiarrhythmic and parasympatholytic properties of substituted phenols. 2. Amides. *Chemischer Informationsdienst*, 16(9). <https://doi.org/10.1002/chin.198509208>
- [14] Velázquez, A., Martínez, L., Abrego, V., Balboa, M., Torres, L., & Camacho, B. et al. (2008). Synthesis and antihypertensive effects of new methylthiomorpholinphenol derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43(3), 486-500. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2007.04.003>.
- [15] Bank, R. (2021). RCSB PDB - 1UZF: Complex of the anti-hypertensive drug captopril an the human testicular angiotensin I-converting enzyme. *Rcsb.org*. Retrieved 26 July 2021, from <https://www.rcsb.org/structure/1UZF>.
- [16] Bank, R. (2021). RCSB PDB - 3SCL: Crystal structure of spike protein receptor-binding domain from SARS coronavirus epidemic strain complexed with human-civet chimeric receptor ACE2. *Rcsb.org*. Retrieved 17 August 2021, from <https://www.rcsb.org/structure/3SCL>.
- [17] Hernández, M. (2019). Estudios *in silico* para la evaluación de compuestos derivados del ácido carbámico como agentes ixodicidas. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- [18] Phillips, J., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., & Villa, E. et al. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal Of Computational Chemistry*, 26(16), 1781-1802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>

- [19] Vázquez-Valadez, V., Hernández-Serda, A., Jiménez-Cabiedes, M., Aguirre-Vidal, P., González-Tapia, I., & Carreño-Vargas, L. et al. (2021). Evaluation of Inhibitory Activity In Silico of In-House Thiomorpholine Compounds between the ACE2 Receptor and S1 Subunit of SARS-CoV-2 Spike. *Pathogens*, 10(9), 1208. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091208>
- [20] Vázquez-Valadez, V., Hernández-Serda, A., Jiménez-Cabiedes, M., Aguirre-Vidal, P., González-Tapia, I., & Carreño-Vargas, L. et al. (2021). Evaluation of Inhibitory Activity In Silico of In-House Thiomorpholine Compounds between the ACE2 Receptor and S1 Subunit of SARS-CoV-2 Spike. *Pathogens*, 10(9), 1208. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091208>.
- [21] Molecular Operating Environment. (2022). MOE.

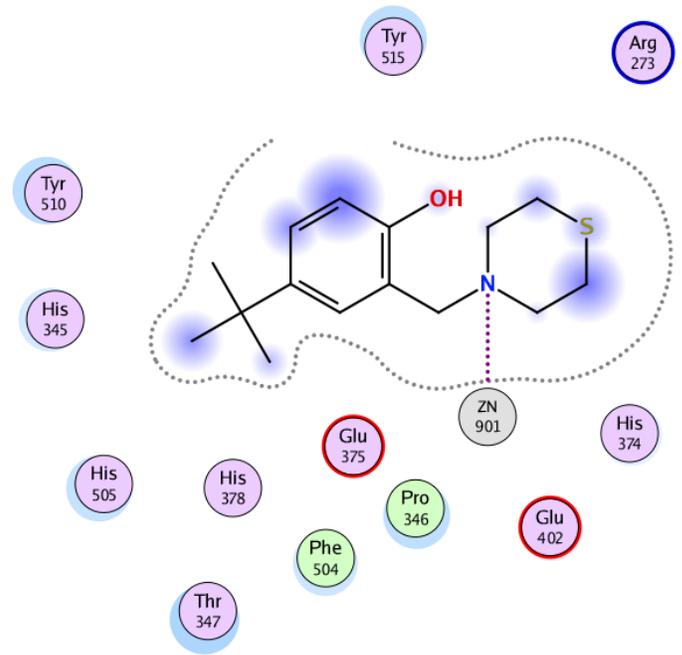
9. ANEXOS

Anexo 1: Interacción de ligandos para los compuestos LQM

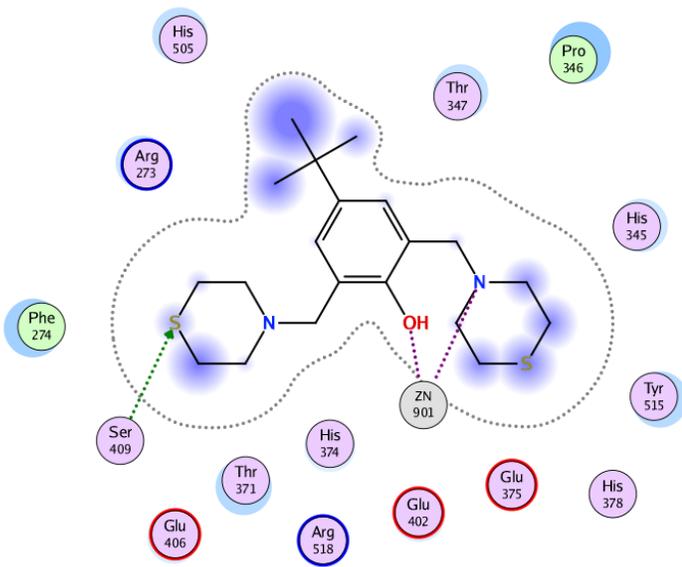
LQM304



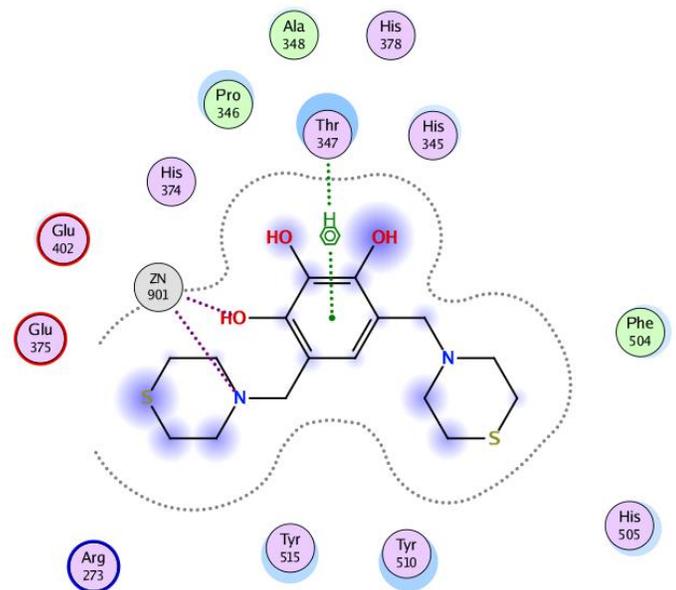
LQM318



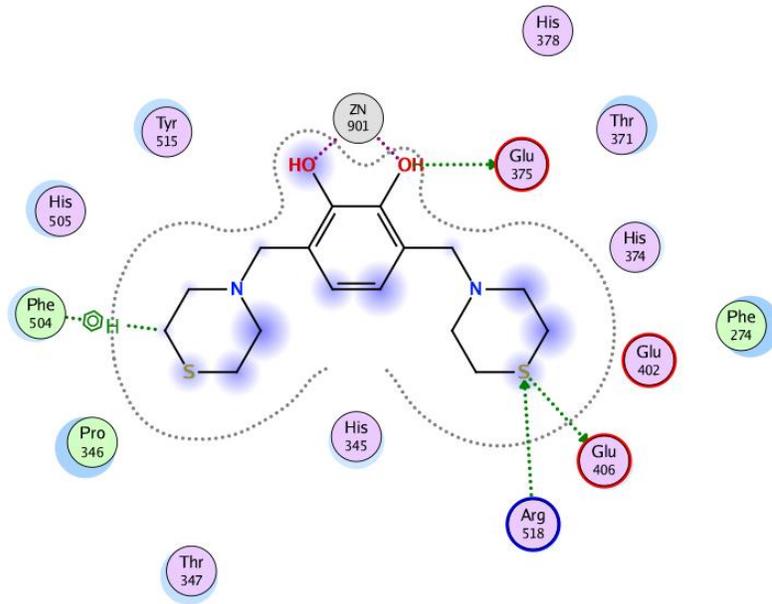
LQM319



LQM322



LQM324



Anexo 2: Artículo publicado en la revista "Pathogens": *Evaluation of Inhibitory Activity In Silico of In-House Thiomorpholine Compounds between the ACE2 Receptor and S1 Subunit of SARS-CoV-2 Spike. Pathogens.*



Article

Evaluation of Inhibitory Activity In Silico of In-House Thiomorpholine Compounds between the ACE2 Receptor and S1 Subunit of SARS-CoV-2 Spike

Victor H. Vázquez-Valadez ¹, Alejandro Hernández-Serda ², Ma. Fernanda Jiménez-Cabiedes ³, Pablo Aguirre-Vidal ³, Ingrid González-Tapia ³, Laura Carreño-Vargas ³, Yoshio A. Alarcón-López ³, Andrea Espejel-Fuentes ³, Pablo Martínez-Soriano ², Miguel Lugo Álvarez ³, Ana María Velázquez-Sánchez ², Nathan Marko Markarian ⁴, Enrique Angeles ² and Levon Abrahamyan ^{4,*}



Citation: Vázquez-Valadez, V.H.; Hernández-Serda, A.; Jiménez-Cabiedes, M.F.; Aguirre-Vidal, P.; González-Tapia, I.; Carreño-Vargas, L.; Alarcón-López, Y.A.; Espejel-Fuentes, A.; Martínez-Soriano, P.; Lugo Álvarez, M.; et al. Evaluation of Inhibitory Activity In Silico of In-House Thiomorpholine Compounds between the ACE2 Receptor and S1 Subunit of SARS-CoV-2 Spike. *Pathogens* **2021**, *10*, 1208. <https://doi.org/10.3390/pathogens10091208>

Academic Editor: Tomomi Takano

Received: 6 August 2021

Accepted: 13 September 2021

Published: 17 September 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

¹ Departamento de Ciencias Biológicas FES Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Av. 1 de Mayo SN Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México CP 54750, Mexico; hugounam83@gmail.com

² Departamento de Ciencias Químicas FES Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Av. 1 de Mayo SN Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México CP 54750, Mexico; asdfgfamail@gmail.com (A.H.-S.); arturin_sirio@yahoo.com.mx (P.M.-S.); velquezanamara@gmail.com (A.M.V.-S.); angeles@unam.mx (E.A.)

³ Laboratorio de Química Medicinal y Teórica FESC, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Av. 1 de Mayo SN Cuautitlán Izcalli, Estado de México, México CP 54750, Mexico; feanda980420@gmail.com (M.F.J.-C.); pyogenes2heli@gmail.com (P.A.-V.); ingridrew1@gmail.com (I.G.-T.); lauracarrear@gmail.com (L.C.-V.); yoshalar@gmail.com (Y.A.A.-L.); andrea.espejel95@gmail.com (A.E.-F.); mlugo@gmail.com (M.L.Á.)

⁴ Swine and Poultry Infectious Diseases Research Center (CRIPA) and Research Group on Infectious Diseases in Production Animals (GREMIP), Faculty of Veterinary Medicine, University of Montreal, Saint-Hyacinthe, QC J2S 2M2, Canada; nathan.marko.markarian@umontreal.ca

* Correspondence: levon.abrahamyan@umontreal.ca

Abstract: At the end of 2019, the world was struck by the COVID-19 pandemic, which resulted in dire repercussions of unimaginable proportions. From the beginning, the international scientific community employed several strategies to tackle the spread of this disease. Most notably, these consisted of the development of a COVID-19 vaccine and the discovery of antiviral agents through the repositioning of already known drugs with methods such as de novo design. Previously, methylthiomorphic compounds, designed by our group as antihypertensive agents, have been shown to display an affinity with the ACE2 (angiotensin converting enzyme) receptor, a key mechanism required for SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) entry into target cells. Therefore, the objective of this work consists of evaluating, in silico, the inhibitory activity of these compounds between the ACE2 receptor and the S1 subunit of the SARS-CoV-2 spike protein. Supported by the advances of different research groups on the structure of the coronavirus spike and the interaction of the latter with its receptor, ACE2, we carried out a computational study that examined the effect of in-house designed compounds on the inhibition of said interaction. Our results indicate that the polyphenol LQM322 is one of the candidates that should be considered as a possible anti-COVID-19 agent.