



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**Análisis *in silico* de proteasas Mpro del SARS-CoV-2  
(Covid-19), evaluación de una base de datos de antivirales  
para elucidar la estructura farmacofórica mediante  
cribado virtual (Virtual Screening).**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADO EN FARMACIA**

**P R E S E N T A:**

**PABLO AGUIRRE VIDAL**

**ASESOR:  
DR. VICTOR HUGO VÁZQUEZ VALADEZ**

**COASESOR:  
DR. ENRIQUE RAMÓN ÁNGELES ANGUIANO.**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2022**



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNAM  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
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**

**Análisis in silico de proteasas Mpro del SARS-CoV-2 (Covid-19), evaluación de una base de datos de antivirales para elucidar la estructura farmacofórica mediante cribado virtual (Virtual Screening).**

Que presenta el pasante: **Pablo Aguirre Vidal**

Con número de cuenta: **41407647** para obtener el título de: **Licenciado 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 24 de junio de 2022.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Sandra Díaz Barriga Arceo	
<b>VOCAL</b>	Dr. Salvador Fonseca Coronado	
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Víctor Hugo Vázquez Valadez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M.C. Maritere Domínguez Rojas	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M.C. Luis Reyes García	

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



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.

*"Soy de las que piensan que la ciencia tiene una gran belleza.  
Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: también  
es un niño colocado ante fenómenos naturales que lo  
impresionan como un cuento de hadas".*

*Madame Marie Curie.*

**Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Medicinal de la facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, gracias a los proyectos PAPIIT IN2020 y a la secretaria de relaciones exteriores (AMEXCID) en el marco del grupo de trabajo en educación, cultura, investigación e innovación 2021-2023 México-Quebec.**

## Agradecimientos.



Para mis padres, mi gran apoyo, le agradezco a ustedes por ser mi alivio y por darme las cosas que siempre necesitaba siempre me dieron más apoyo del cual cualquier padre o madre podían hacer, quizás algunas veces no podían entender lo que pasaba en mi mente, pero trataban de comprenderme, mi madre Agustina Vidal siempre me levanto desde niño para ir a la escuela primaria y secundaria, siempre me salvo de los extraordinarios de la preparatoria y me ayudó cuando más lo necesitaba en la secundaria, también agradezco a mi hermano Jovanny Aguirre Vidal por siempre darme ánimos por siempre acompañarme en este mundo de aventuras, siempre darnos apoyo y ayuda cuando lo necesitamos, también a mi padre Román Aguirre, por siempre preguntarnos qué necesitamos, si tenemos problemas en la escuela o con algunas personas, gracias



Para el Doctor Enrique Ángeles Anguiano, muchas gracias por darme una oportunidad en su laboratorio, por siempre darnos ánimos, apoyo, por ser la inspiración de ser mejores científicos en cada momento y darnos buenas experiencias, también como mejorar profesionalmente y tratar de ser mejores en nuestras vidas, también por darnos café y pan.



Para mi maestro, Doctor, amigo y compañero de laboratorio Víctor Hugo Vásquez Valadez, por ser el primer profesor amigo que he tenido en mi universo, tú cambiaste mi forma de ver a los profesores, eres un gran amigo y un gran compañero, muchas gracias por compartir esta parte de mi vida y te agradezco por estar siempre enseñando cuando lo necesito, por abrirme tu corazón y conocer tu historia, jamás olvidaré esa pizza, ese primer concierto en mi vida, ese momento de ir a dejar un coche y también ese momento de ir o tomar cervezas en Canadá, eres una gran persona monsieur manito.



A mis amigos del Laboratorio de Química Medicinal LQM, Alejandro Manuel Serda, Aldo Yoshio Alarcón ustedes que me han enseñado todo y me han apoyado en todo este camino de la Química cuántica, por enseñarme un nuevo mundo que desconocía y que me ha encantado, ustedes son una parte importante de mi formación en esta rama, también por los momentos random, gracioso y musicales, también al Doctor Pablo Arturo Soriano Martínez, por abrirme tu casa, tu amistad y tu forma de pensar, manito tu amistad es muy importante, tu forma de ser es única e irremplazable, gracias por tu amistad Doctor manito, y un especial agradecimiento a todos mis amiguitos del LQM, sin ustedes los momentos, las risas, nuestras pláticas y sobre todo su forma de ver el mundo tan especial de cada uno lo valoro muchísimo gracias a Elizabeth Rul, Andrea Espejel, María Fernanda Jiménez, Rodolfo Farfán, Sabrina Guerrero, Fernanda Ramos, Erick Dávila, Christopher Barrera, Tlotzin Martínez, Antonio Ríos, Luis Alfonso Cárdenas y Omar Villegas cada uno mencionado en este párrafo son grandes amigos y los valoro mucho a cada uno.



Para mis amigos de la carrera, Alexis Sánchez Arias, Arturo Minjarez, Francisco Javier García Ramírez, Juan Carlos Carvajal, Agustín Colin, Grettel Cruz Nieto, Diana Téllez Huerta, Fernanda Garduño, Patty Juárez, Abdiel Salmerón, Karla Urbano y Gustavo Corpus por darme mucho apoyo, alegrías, muchas aventuras, muchos enojos juntos, muchas tristezas, estrés y sobre todo risas, ustedes siempre fueron mi amparo en los momentos más difíciles de mi vida estudiantil, les agradezco todo amigos ustedes son una parte importante de mi pasado, de mi presente y siempre estarán en mi futuro, gracias por estar en los equipos que

hemos hecho, gracias por las cervezas y comida que me han dado cuando no tenía ni un solo peso en mi bolsillo, gracias por esas risas en momentos difíciles de mi vida, gracias por ese abrazo dado en el momento indicado, gracias por el regaño en el momento justo, gracias por sus risas, sus historias y por abrirme sus corazones, los quiero mucho a cada persona que ha visto mi alma completa, gracias por soportarme con mis aficiones (one piece) por mis locuras o por ser representante una etapa donde tuve que ser responsable a más no poder, gracias por cada fiesta que me han ayudado y por cada momento en que hemos vivido, gracias amigos y siempre contarán con mi corazón para cada momento.



Para la persona que más me ha impulsado a ser mejor cada día, en todo este infinito momento, infinito tiempo, infinito lugar e infinito espacio te encontré, de todas las personas en las que puede encontrar, estar y conocer, te busque a ti, encontré una amiga, compañera, confidente, una sonrisa, una acompañante de vida que me hizo y me hará ser mejor cada día, la persona que me dará un poco de su esperanza y que me incitara a arriesgarme cada día y ser más fuerte en cada momento, a ti te debo este momento en mi vida, a ti te debo este momento en mi multiverso de posibilidades, gracias a ti soy más y más valiente, a veces siento que el destino te pone en ciertos lugares, en ciertos estados y ciertas dificultades, para conocer a la persona correcta que te hará llegar a algo igual o mayor que la grandeza y quizás estas palabras no demuestran totalmente lo que siento, pero es lo más sincero que está en mi corazón, te agradezco por estar conmigo, en mis peores momentos, en mis días malos, en los días buenos y los mejores días, y ahora que estoy en este momento de mi vida quiero que este siempre este conmigo, muchas gracias por todo Maritza eres la mejor y una mujer increíble.



## ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS.....	7
RESUMEN .....	8
Objetivo general .....	9
Objetivos particulares .....	9
INTRODUCCIÓN .....	9
1.-ANTECEDENTES.....	10
1.1.- VIRUS .....	10
1.2.- CORONAVIRUS .....	12
1.3.- CARACTERISTICAS DEL SARS-CoV-2.....	13
1.4.- MECANISMOS DE REPLICACION DEL SARS-CoV-2.....	14
1.5.- TRANSMICIÓN DEL VIRUS.....	16
1.6.- ESTADO DE LA ENFERMEDAD .....	16
1.7.- ANTIVIRALES .....	16
1.7.1.- Los antivirales que impiden la replicación genética viral .....	17
2.- DISEÑO DE FARMACOS ASISTIDOS POR COMPUTADORA .....	17
2.1.- LAS PROTEÍNAS .....	18
2.1.1.- DIAGRAMA DE RAMACHANDRAN .....	22
2.2.- CONSENSO DE PROTEÍNAS.....	24
2.3.- DOCKING MOLECULAR .....	25
2.3.1.- VIRTUAL SCREENING (CRIBADO VIRTUAL) .....	27
2.4.- DINAMICA MOLECULAR .....	29
2.4.1.- RMSD (Root Mean Square Deviation).....	31
2.4.2.- RMSF (Root Mean Square Fluctation).....	31
2.4.3.- RADIO DE GIRO (Rgr).....	32
3.- METODOLOGIA.....	33
4.-RESULTADOS .....	34
5.-CONCLUSIONES .....	63
6.- PERPECTIVAS .....	64
7.- REFERENCIAS.....	65
8.- ANEXOS.....	69



## ÍNDICE DE IMÁGENES

Fig 1.- Estructura de los virus (Elaboración propia con App BioRender).....	14
Fig 2.- Estructura del SARS-CoV-2 diferenciando las partes importantes del coronavirus. Imagen obtenida de BioRender) .....	16
Fig 3.- Estructura genómica del SARS-CoV-2 (Imagen generada en BioRender).....	17
Fig 4.- Ciclo de replicación del SARS-CoV-2 (imagen recuperada de Porta-Etessam, 2020) .....	18
Fig 5.-Estructura de las proteínas (imagen creada con BioRender.com).....	22
Fig 6.- Estructura primaria de las proteínas (imagen generada con BioRender) .....	23
Fig 7.- Estructura Secundaria mostrando la Alfa hélice y Beta plegada mostrando de lado izquierdo las láminas $\beta$ con la formación antiparalela y antiparalela, y de lado derecho una hélice $\alpha$ (imagen generada en BioRender).....	25
Fig 8.- Representación de la proteína Mpro del SARS-CoV-2 con sus conformaciones alfa hélice en rojo y hojas beta en amarillo (Figura generada en <i>Molecular Operating Environment (MOE)</i> , 2019.01).....	26
Fig 9.- Ejemplo del Diagrama de Ramachandran (Figura obtenida y modificada de Wikipedia Commons).....	26
Fig 10.- Ejemplo del consenso de proteínas en la Mpro del SARS-CoV-2 mostrando las zonas donde moléculas de agua se conservan en la proteína (imagen generada en <i>MOE</i> , 2019.01). .....	28
Fig 11.- Ejemplo de una interacción de una Proteína y Ligando, siguiendo la propuesta de Fisher del cual la proteína es una cerradura y el ligando una llave del cual entra en la cerradura (imagen generada por BioRender.com). .....	29
Fig 12.- Estación de trabajo y protocolo para un docking molecular proteína-ligando (Morris G.M et al.,2008).....	30
Fig 13.- Proteína Mpro del SARS-CoV-2 con la caja de interacción o grid (imagen utilizada del Autodock-tools).....	31
Fig.-14 Proceso de virtual screening (imagen generada en BioRender).....	31
Fig 15.- Estructural de una proteína demostrando una simulación de su trayectoria y el estudio de la conformación con un modelo refinado (Hollingsworth, S et al., 2018).....	33
Fig 16.- Demostración de la Gráfica de RMSD donde en el eje Y muestra la distancia en Armstrong del carbono alfa de la proteína y en el eje X se observa el tiempo en nanosegundos del cual estuvo sometida la simulación (imagen obtenida de strodel.info).....	34
Fig 17.- Demostración de la gráfica de RMSF en donde el eje Y muestra el desplazamiento en Å y el eje X el número de átomos presentes en la proteína (imagen obtenida de strodel.info).....	35
Fig 18.- Demostración del radio de giro de una proteína en el eje Y muestra la longitud de la proteína y en el eje X nos muestra el tiempo en nanosegundos. ....	35
Fig 19.- Metodología experimental para la búsqueda conformacional de antivirales.....	37
Fig 20.- Estructura del SARS-CoV-2 Mpro Proteasa, en color verde sitios posibles de interacción y en color azul el resto de la proteína. (imagen creada en <i>Molecular Operating Environment (MOE)</i> , 2019.01).....	39

Fig 21.- Similitud de proteínas Mpro en donde 100 % es una proteína exacta sin cambio en sus residuos y 0 % en otra proteína sin nada de parentesco a la utilizada (imagen creada en MOE, 2019.01).....	<b>21</b>
Fig 22.- Matriz de comparación geométrica entre las estructuras utilizan el RMSD de las estructuras Mpro del SARS-CoV-2 (imagen creada en <i>Molecular Operating Environment (MOE)</i> , 2019.01).....	<b>40</b>
Fig 23.- Diagrama de ramachandran de las proteínas Mpro del SARS-CoV-2 (imagen creada en <i>Molecular Operating Environment (MOE)</i> , 2019.01).....	<b>41</b>
Fig 24.- Sitefinder de los posibles lugares de interacción de los ligandos (imagen generada en MOE, 2019.01).....	<b>42</b>
Fig 25.- En morado se representa el sitio con una interacción favorable en la Mpro 5R80. Cálculo realizado por el servidor online "Protein Plus" .....	<b>44</b>
Fig 26.- Aminoácidos pertenecientes a la Mpro que tienen interacción con los ligandos.....	<b>45</b>
Fig 27.- Grid de la proteína 5r80 del SARS-CoV-2 en el cual se presenta la zona en la que se llevará a cabo la interacción de los ligandos.....	<b>48</b>
Fig 28.- Proceso de virtual screening para la selección de candidatos para SARS-CoV-2 Mpro.( Imagen generada en Biorender.com).....	<b>48</b>
Fig 29. Ligando de referencia llamado RZG.....	<b>49</b>
Fig 30.- Interacción del ligando RZG en los aminoácidos de la proteasa Mpro.....	<b>55</b>
Fig 31.- PLIF de los aminoácidos del SARS-CoV-2 de la Mpro, están en mayor interacción con la RZG.....	<b>56</b>
Fig 32.- Ligando MproL21 en el que están interaccionando los residuos Cys #145, Glu #166, Met #49, Thr #25, Thr #190 y Ser #46.....	<b>58</b>
Fig 33.- PLIF del ligando MproL21 en que muestra los aminoácidos con mayor interacción estos son Asn #142, Glu #166, His #41, Met 49, Thr #25 y Cys #145. ....	<b>58</b>
Fig 34.- Dinámica molecular del ligando MproL21. Izquierda: Se muestra la caja de solvatación con moléculas de agua mostradas alrededor de la proteína con puntos rojos y de lado derecho se muestra la ampliación de la proteína y el ligando MproL21.....	<b>59</b>
Fig 35.- Aminoácidos de interacción con el ligando MproL21 en la Dinámica Molecular, en el cual se muestra varias moléculas de agua realizando puentes de hidrógeno con el ligando, los residuos que se muestran en la interacción son los siguientes: Met #49, Cys #145, Gly #143, Glu #166, Pro #168, Gln #192 y Thr #190.....	<b>63</b>
Fig 36.- Comparación de los aminoácidos de Interacción del ligando MproL21, #1 muestra al ligando del Docking Molecular y los aminoácidos de interacción, #2 Muestra al ligando en la Dinámica Molecular a 100 ns.....	<b>64</b>
Fig 37.- Propuesta de inhibición que podría hacer del ligando MproL21, una vez que el virus de SARS-CoV-2 entra a la célula, en donde inhibe la proteasa de replicación Mpro o 3CL y cesa las funciones que esta proteasa podría causar.....	<b>65</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Estructuras de proteasas del SARS-CoV-2 que hemos utilizado en el análisis de este proyecto.....	<b>38</b>
Tabla 2.- Aminoácidos con posible interacción con los antivirales encontrados con la técnica de Sitefinder.....	<b>42</b>

Tabla 3.- Valores de DoGSiteScore de las proteínas Mpro señalando a la proteína 5r80. ....	<b>43</b>
Tabla 4.- Aminoácidos que están en el pocket de la proteína 5R80 .....	<b>44</b>
Tabla 5.- Aminoácidos con una interacción con los ligandos pertenecientes a las proteínas.....	<b>45</b>
Tabla 6.- Antivirales y números de compuestos con similitud de por lo menos un 90%.....	<b>46</b>
Tabla 7.- Ligando con mejor interacción con Mpro del SARS-CoV-2 .....	<b>54</b>
Tabla 8.- Tabla de ligandos que muestran los aminoácidos con interacción y las energías de interacción del virtual screening en Autodock Vina y docking molecular en MOE remarcando el ligando con mejor energía de interacción.....	<b>57</b>

## **ÍNDICE DE GRÁFICA**

Gráfica 1.- RMSD de los ligandos RZG (ligando de referencia) y MproL21 (ligando Candidato) .....	<b>60</b>
Gráfica 2.- RMSF de los ligandos RZG (ligando de referencia) y MproL21 (ligando Candidato) .....	<b>61</b>
Gráfica 3.- Radio de giro de los ligandos RZG (referencia) en rojo y el ligando MproL21 en azul.....	<b>62</b>

## Abreviaturas:

<b>SARS-CoV-2</b>	<b>Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2</b>
<b>VS</b>	<b>Virtual Screening</b>
<b>PDB</b>	<b>Protein Data Bank</b>
<b>COVID 19</b>	<b>Coronavirus Disease 19</b>
<b>CAS</b>	<b>Chemical Abstracts Service</b>
<b>OMS</b>	<b>Organización Mundial de la Salud</b>
<b>nm</b>	<b>Nanómetros</b>
<b>MOE</b>	<b>Molecular Operating Environment</b>
<b>Mpro</b>	<b>Main Protease</b>
<b>3 CL -Pro</b>	<b>3C Like Protease</b>
<b>VMD</b>	<b>Visual Molecular Dynamics</b>
<b>DiFAC</b>	<b>Diseño de Fármacos Asistidos por Computadora</b>
<b>RNA</b>	<b>RiboNucleic Acid</b>
<b>DNA</b>	<b>DeoxyriboNucleic Acid</b>
<b>MERS</b>	<b>Síndrome Respiratorio del Medio Oriente</b>
<b>ORF</b>	<b>Open Reading Frame</b>
<b>RBD</b>	<b>Receptor Binding Domain</b>
<b>SMILE</b>	<b>Simplified Molecular Input Line Entry Specification</b>
<b>PLIF</b>	<b>Protein Ligand Interactions Fingerprints</b>
<b>WHO</b>	<b>World Health Organization</b>
<b>ECA 2</b>	<b>Enzima Convertidora de Angiotensina II</b>
<b>VIH</b>	<b>Virus de Inmunodeficiencia Humana</b>
<b>MproL1</b>	<b>Main protease Ligand 1</b>

## RESUMEN

El presente trabajo está enfocado a la búsqueda de posibles moléculas con actividad antiviral sobre el virus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad COVID 19. El sitio específico en el cual podríamos tener un blanco sería la proteasa del SARS-CoV-2, la cual es llamada Mpro o 3CL-Pro. Esta proteína es vital para la reproducción del virus y en la literatura se considera como un blanco farmacológico. También se ha tomado esta estructura, porque los aminoácidos son altamente conservados, esto quiere decir que no tiene mutaciones notables en su conformación (Chen YW et al.,2020). Y con la ayuda de los antivirales comerciales que se generaron en una base de datos, podremos tener una mejor visión del comportamiento de la proteína de replicación del SARS-CoV-2 y su potencial inhibición. Este trabajo fue desarrollado en la Universidad Nacional Autónoma de México en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-Campo 1 en el Laboratorio de Química Medicinal, bajo la supervisión del Dr. Enrique Ángeles Anguiano y el Dr. Víctor Hugo Vázquez Valadez.

Se realizó primero la búsqueda de proteínas de replicación del COVID-19, llamadas Main protease o Mpro. Estas se encuentran en la página de PDB o *Protein Databank*, en las cuales se analizaron sus energías, la estructura e integridad de las mismas proteínas. Estas se visualizaron en tres programas. El primero es MOE *Molecular Operating Environment*. Este programa es para analizar la estructura tridimensional y se revisaron las energías en las que se componen los aminoácidos de cada proteína. También para poder realizar *dockings* o acoplamientos moleculares, el segundo visualizador es VMD *Visual Molecular Dynamics*. Este último es un visualizador para realizar análisis de las dinámicas moleculares, que se obtuvieron con las proteínas y las mejores moléculas antivirales. Con estas se conoció las interacciones en las que se encuentran con otros aminoácidos a través del tiempo. Y el tercero es Autodock en el cual se realizó la búsqueda de coordenadas específicas para implementar el acoplamiento de moléculas de la base de datos.

El *Virtual screening* (VS) es una técnica de uso computacional que es utilizada para el descubrimiento de nuevos fármacos con ayuda de librerías o base datos de moléculas de peso molecular pequeño. Para así identificar estructuras que pueden tener una mayor interacción con el sitio de blanco, esta utiliza una gran variedad de compuestos que están en la librerías o bases de datos. Con el uso del VS se depuran, hasta encontrar un compuesto líder.

Y por último se realizó un *Docking* molecular, este procedimiento es para poder encontrar las interacciones entre ligandos y proteínas, se puede descifrar cuáles y cuántos aminoácidos son los que pueden estar interaccionando con el ligando. El ligando tendrá en esta ocasión la función de suprimir la acción de replicación del virus. Esta información puede ser de suma importancia para poder encontrar el farmacóforo o sitio blanco responsable de esta acción.

## **OBJETIVO GENERAL.**

Elucidar la posible interacción de la proteína Mpro del SARS-CoV-2 a través de cribado virtual (virtual screening) con una base de datos de estructuras antivirales obtenidas de *Chemical Abstracts Service* (CAS) con la finalidad de tener candidatos favorables que puedan presentar actividad frente a la replicación del virus.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Buscar y generar una base de datos de proteínas de replicación.
- Identificar los aminoácidos que sean importantes en la interacción del sitio activo con los antivirales.
- Realizar una base de datos de compuestos con posible actividad antiviral.
- Utilizar la técnica de virtual screening para la búsqueda de antivirales que puedan tener alguna unión o interacción con las proteasas de SARS-CoV-2.
- Determinar la relación de las interacciones entre las proteasas del SARS-CoV-2 y la base de datos de los antivirales.

## **INTRODUCCIÓN:**

El Coronavirus SARS-CoV-2 o también llamado de manera más general por el padecimiento que genera Covid-19, es una enfermedad que ha causado mucha preocupación alrededor del mundo. Esta se presentó por primera vez en la ciudad de Wuhan China, a finales del mes de diciembre del año 2019. Este nuevo virus se dio a conocer al mundo a principios del año 2020. Por su alta propagación y virulencia, países, científicos y la organización mundial de la salud (OMS) han podido rastrear esta nueva enfermedad, para poder ser contenida y erradicarla, pero los esfuerzos han sido en vano.

Varias universidades, empresas farmacéuticas y comunidad científica han reunido esfuerzos para poder encontrar una cura a esta enfermedad. Esta nueva clase de virus causa una enfermedad infecciosa y entre sus síntomas más regulares son: tos seca, fiebre, cansancio, dolores de garganta, dolor de cabeza, pérdida del olfato o del gusto, conjuntivitis, dificultad para respirar, sensación de falta de aire, dolor o presión en el pecho, hasta la pérdida de la capacidad del habla y del movimiento. Estos son efectos alusivos al contacto por este virus. Una vez que pasa la etapa de infección en los pacientes y entran a la etapa de recuperación, los pacientes pueden generar secuelas, entre las cuales se encuentran desde: Fatiga, dolor de cabeza, anosmia (pérdida de olfato), depresión, fibrosis quística, arritmia, pérdida de memoria, insuficiencia renal, entre otras secuelas, por su nivel de contagio y sus severas secuelas, se ha estado realizando un estudio a las proteínas de replicación del SARS-CoV-2 (Wegman-Ostrosky, Talia et al., 2021).

La organización mundial de la salud y la organización panamericana de salud han dado datos estadísticos de los casos de la enfermedad (Covid-19), y estos han estado en aumento en el mundo. Los datos estadísticos son más de 114 millones de casos confirmados de los cuales

2.54 millones son muertes confirmadas en más de 216 países y territorios del mundo. El aumento del brote en México también está sucediendo con un estimado de 2 millones de casos en aumento y un aproximado de 186 mil muertes confirmadas, por lo que este virus, ha sido más que una amenaza para nuestro país y ha sido un problema mundial (*World Health Organization/WHO, 2020*).

La industria farmacéutica, es la que más ha reunido esfuerzos, para la creación de esta nueva vacuna y también evalúa costos excesivos, hace la búsqueda de nuevas moléculas y realiza estos fármacos en tiempos cortos de elaboración. También cuenta el sobreesfuerzo humano para poder generarlos. Esto hace que los gobiernos tengan altas expectativas en las industrias farmacéuticas. Para poder realizar esta labor, usa una herramienta útil para la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas y candidatos a fármacos, esta es la química computacional. Esta es una rama de las ciencias químicas que permite el entendimiento de ciertos aspectos de proteínas y varios ligandos en interacción. El objetivo es la utilización de programas informáticos con el propósito de ayudar, facilitar, explorar y calcular las propiedades de las moléculas que se están estudiando (González-Romo, F et al 2015).

El diseño de fármacos asistido por computadora DiFAC hace que los costos de la preparación de los fármacos puedan bajar considerablemente. Por lo que el desarrollo de nuevas moléculas puede generar candidatos para los cuales se podrían realizar las pruebas experimentales tales como la síntesis, pruebas biológicas entre otras. La química computacional en la industria farmacéutica es una herramienta poderosa para entender el comportamiento farmacológico de las moléculas que pueden ser prospectos para ser fármacos (Saldívar G, F et al 2017).

## **1.- ANTECEDENTES**

### **1.1 VIRUS**

Los virus constituyen una forma de existencia de la materia y son los agentes infecciosos más pequeños que se conocen en la actualidad. Transfieren el ácido nucleico de una célula a otra, se multiplican y causan enfermedades a los microorganismos, las plantas, los animales y el hombre. Constituyen un grupo grande y heterogéneo de agentes infecciosos, son parásitos intracelulares obligados de las células de sus hospederos. Son tan pequeños que atraviesan los poros de los filtros que impiden el paso de las bacterias. El virus más grande es más pequeño que la cuarta parte de una bacteria de la fiebre tifoidea y los más pequeños caben en un estafilococo (Delgado Ortiz et al 2015).

Se consideran parásitos intracelulares obligados porque, al no realizar metabolismo, el material genético se replica y se sintetizan los componentes del virus a partir de las enzimas, las biomoléculas y los componentes celulares de la célula hospedera a la cual se incorporan. El hecho de ser parásitos intracelulares obligados marca el sello de patógenos de los virus, ya que, al multiplicarse a expensas de una célula, la destruye, atacando sucesivamente las células vecinas, provocando así la destrucción de los tejidos. En los animales causan: rabia, cólera, fiebre aftosa o glosopeda, influenza porcina, neumoencefalitis aviar, entre otras. Causan enfermedades al hombre, tales como: viruela, varicela, sarampión, rubéola, paperas,

influenza, gripe común, poliomielitis, hepatitis viral A, B y C, herpes genital, fiebre amarilla, encefalitis viral, entre otras. (Delgado Ortiz et al., 2015).

Los genomas virales son muy limitados en tamaño y codifican primariamente las funciones que no pueden adaptar de sus hospederos. Por tanto, durante la multiplicación dentro de una célula, los virus dependen de una manera determinante de los componentes estructurales y metabólicos de las células hospedera al servicio de su propia replicación y al ensamblaje de los nuevos virus (Delgado Ortiz et al., 2015).

Estas partículas infecciosas muy pequeñas (de entre 20 y 300 nm), están constituidas por un solo ácido nucleico, DNA o RNA, poseen una organización estructural simple y se replican por un mecanismo particular dentro de una célula viva. El ácido nucleico viral contiene la información necesaria para la programación de la célula infectada que la hospeda pueda sintetizar macromoléculas virales específicas necesarias para la producción de progenie viral. El universo de los virus tiene una gran diversidad. Éstos varían en gran medida en cuanto a estructura, organización y expresión genómicas, así como en las estrategias de replicación y transmisión (Collier L et al., 2008), en la figura 1 se muestran distintas formas y estructuras de los virus.

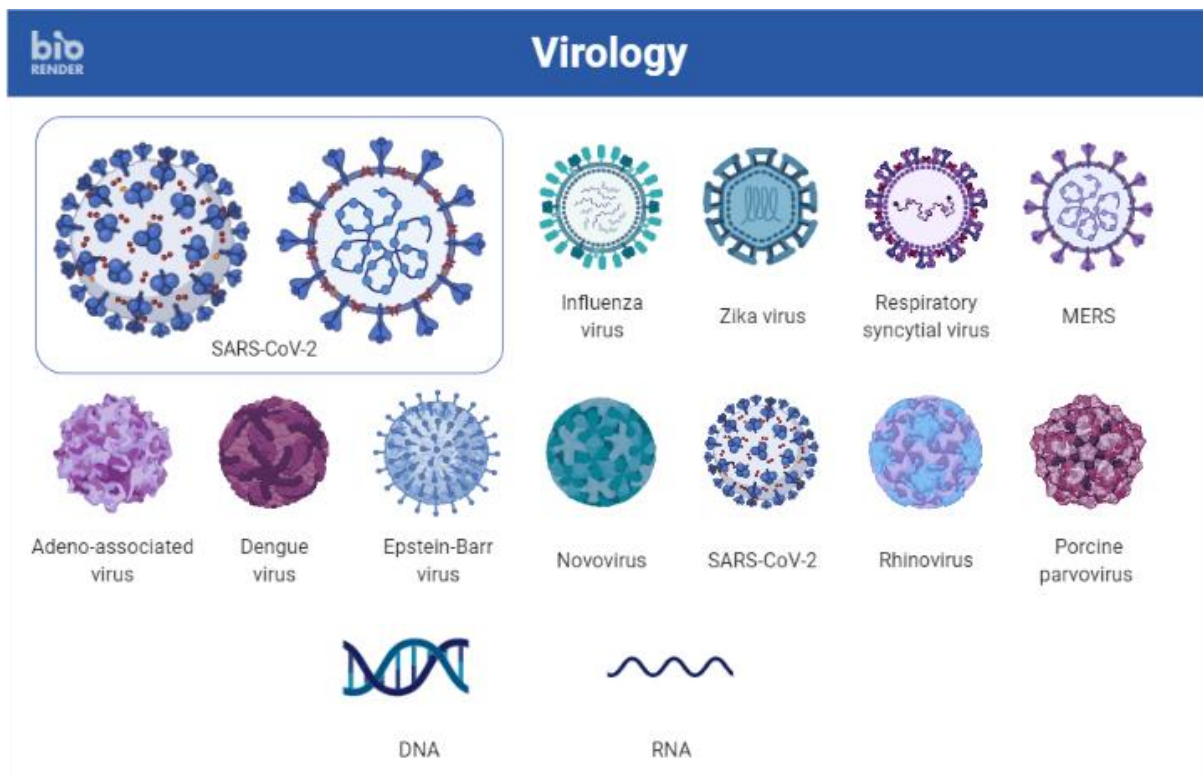


Fig 1.- Estructura de los virus (Elaboración propia con App BioRender)



## 1.2 CORONAVIRUS

Los coronavirus son una clase de virus que tiene una amplia familia, estos se subdividen en 4 géneros estos son alfa, beta, gamma y delta. Esta clasificación está desde ~~los años de~~ la década de los años 30's. El virus que ha estado afectando a todo el mundo, es un coronavirus tipo beta. Este tipo de coronavirus infecta a varias especies de animales y estos son: roedores, ganado, puercos, gatos, perros, camellos, murciélagos y pollos (Munir, Khalid et al.,2020).

Estos tipos de coronavirus causan problemas respiratorios, gastrointestinales, hepáticos, neurológicos y entre otros problemas en el sistema de especies. Los betacoronavirus son virus pertenecientes a la subfamilia orthocoronavirinae o comúnmente llamado coronavirus. Es una subfamilia de virus RNA monocatenario positivos que pertenecen a la familia coronaviridae. Los beta coronavirus más importantes en la rama clínica humana son el SARS-CoV, virus que tiene como nombre síndrome respiratorio agudo grave. Estos causan una neumonía atípica, aparecieron por primera vez en la provincia de Guangdong en china. El segundo más importante es MERS o síndrome respiratorio de oriente medio, este es un coronavirus que afecta a humanos, murciélagos y camellos. Este tipo de coronavirus causa tos, expectoración, neumonía, insuficiencia respiratoria y fallo renal, este tipo de coronavirus se encontró en el año 2012. Y por último el coronavirus de tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo o abreviado SARS-CoV-2, como ya se sabe este se reportó en la provincia de Wuhan a finales del año 2019 (Munir, Khalid et al.,2020). El genoma del coronavirus tiene 4 proteínas estructurales: *Spike glycoprotein* (S), pequeña proteína de envoltura, Matrix glicoproteína (M) y una proteína Glucocapside (N), además de las 4 proteínas antes mencionadas, se encuentra la *3-chymotrypsin like protease* (3CLpro) o llamada también *Main Protease* (Mpro), esta es una de las principales proteasas para la maduración del coronavirus. (Shuhui Tian, 2020) en la siguiente figura 2 se muestra la estructura del SARS-CoV-2.

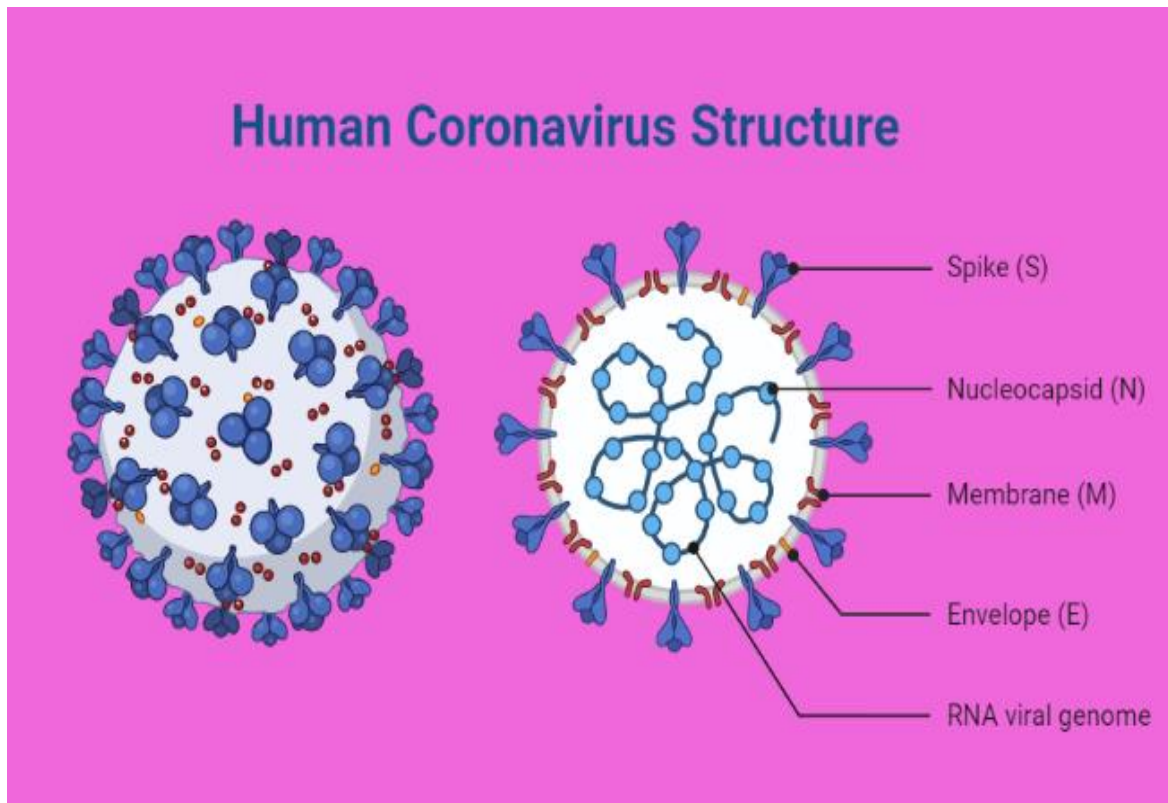


Fig 2.- Estructura del SARS-CoV-2 diferenciando las partes importantes del coronavirus. Imagen obtenida de BioRender)

### 1.3 CARACTERÍSTICAS DEL SARS-CoV-2

El genoma del SARS-CoV-2 contiene elementos específicos que facilitan la replicación del virus, la formación de la nucleocápside y la proteína S de anclaje a la célula. El genoma tiene un número variable de Marcos Abiertos que facilitan la lectura. Estos son de 6 a 11 marcos, en inglés se llaman ORFs (*Open Reading Frame*). El marco es una referencia, y lo que está leyendo es el código de RNA y este lo están interpretando los ribosomas para producir una proteína. Y el término abierto significa que seguir leyendo la información, el ribosoma podrá continuar interpretando el código de RNA y agregar otro aminoácido uno tras otro. Este se emplea para definir la secuencia de RNA comprendida entre un codón de inicio de la traducción y un codón de terminación. En el coronavirus, el de mayor tamaño se llama ORF 1a/b y codifica la poliproteína 1a/b y 15 o 16 proteínas no estructurales (Porta-Etessam et al., 2020).

Aproximadamente dos tercios del RNA viral del SARS-CoV-2, que se localizan en el primer ORF (llamado ORF 1a y ORF 1b) codifican a 2 poliproteínas llamadas pp1a y pp1b. Estas son escindidas proteolíticamente generando a su vez 16 proteínas y que forman el complejo transcriptasa replicasa viral. En cambio, el resto de los ORFs (entre ellos ORF3a, ORF6, ORF7, ORF8 y ORF9) codifican proteínas accesorias y estructurales. La función de las proteínas no estructurales es la de integrar las membranas que se originan del retículo endoplásmico rugoso en vesículas de doble membrana donde ocurre la replicación viral y la transcripción.

Diversas proteasas, helicasas y proteínas accesorias son necesarias para facilitar la traducción y replicación del virus (Porta-Etessam et al., 2020).

El resto del genoma codifica cuatro proteínas estructurales esenciales: la glucoproteína de superficie S, la proteína de la envoltura E, la proteína M de la membrana y la proteína N de la nucleocápside, necesarias para el ensamblaje y capacidad infecciosa del virus. Así como diversas proteínas accesorias que interfieren con la respuesta inmune.

La proteína S es una glucoproteína situada en la superficie externa del virus que facilita el anclaje y la entrada del virus a la célula huésped. La proteína S tiene dos subunidades, la subunidad S1 determinada el grado de tropismo celular (afinidad a un tejido en concreto) por el receptor específico es importante, mientras que la subunidad S2 media el proceso de fusión de la membrana celular con el virus. En la figura 3 se muestran el genoma y las estructuras totales del SARS-CoV-2 (Porta-Etessam, 2020).

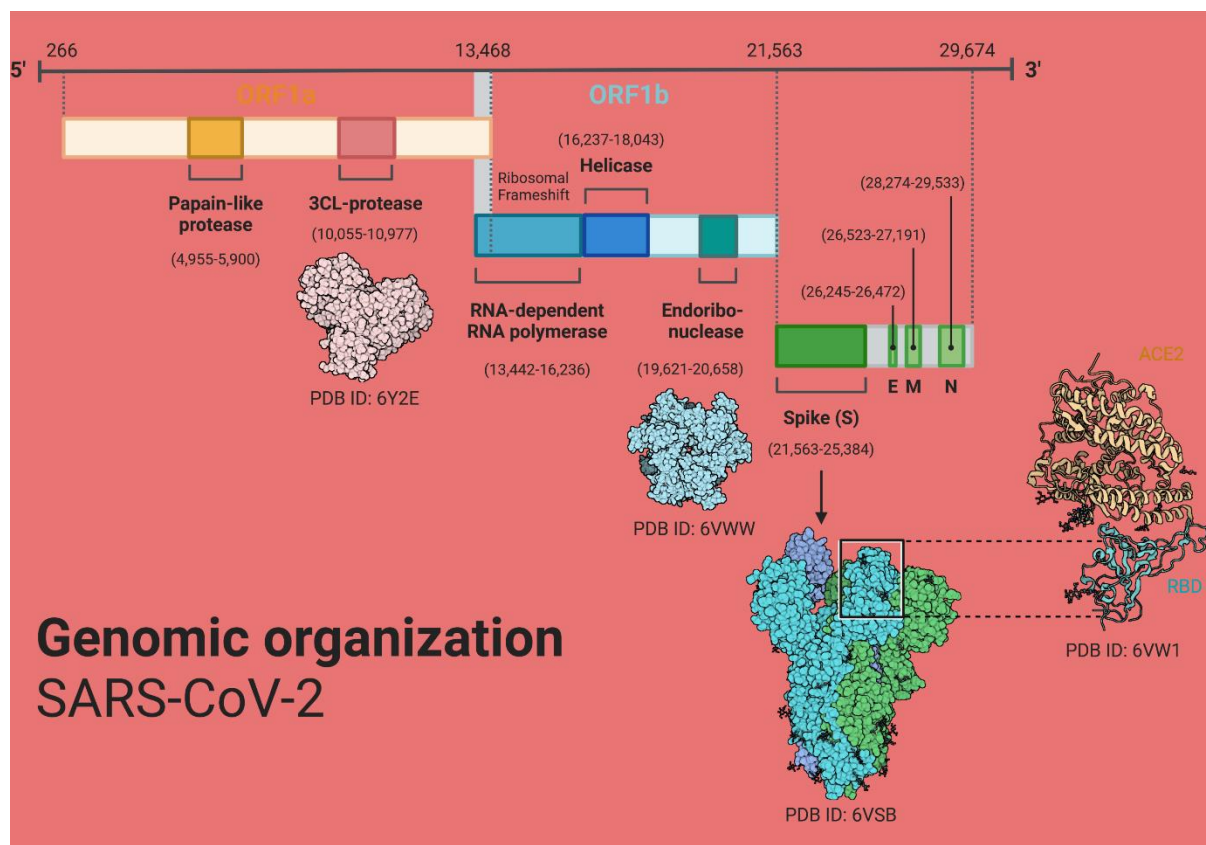


Fig 3.- Estructura genómica del SARS-CoV-2 (Imagen generada en BioRender)

#### 1.4 MECANISMOS DE REPLICACIÓN DEL SARS-CoV-2

El mecanismo de invasión de las células humanas se realiza mediante la unión al receptor de la enzima convertidora de angiotensina II (ECA 2). Las células de los pulmones que expresan dicho receptor son la diana principal del SARS-CoV-2, si bien estos receptores se expresan también en otros tejidos como riñón, corazón, intestinos entre otros órganos. La proteína S

del SARS-CoV-2 conforma una estructura tridimensional en la región RBD (llamado en inglés Receptor-Binding- domain) que sería el sitio de unión para fármacos. De manera que el residuo de glutamina 394 de dicha región es reconocido por el residuo de lisina 31 del receptor humano de la ECA2 (Porta-Etessam, 2020).

El ciclo vital del SARS-CoV-2 se inicia una vez que la proteína S, se liga al receptor celular de la ECA-2, una vez unida al receptor, se produce un cambio en la conformación de la proteína S que facilita la fusión de la envoltura vírica con la membrana celular. De este modo el SARS-CoV-2 libera su RNA en la célula huésped. El RNA genómico se traduce en poliproteínas helicasas ppa1a y pp1b, que a su vez se escinde en otras proteínas menores mediante la acción de proteasas virales. A continuación, las polimerasas inician la síntesis de RNA mensajeros sub-genómicos mediante un procedimiento de transcripción discontinua que finalmente se traduce en proteínas víricas. A su vez, las proteínas víricas y el RNA genómico se ensamblan en viriones en el retículo endoplasmático y aparato de Golgi, y transportados vía vesículas, se liberan fuera de la célula en la figura 4 se muestra el ciclo viral del SARS-CoV-2 (Porta-Etessam, 2020).

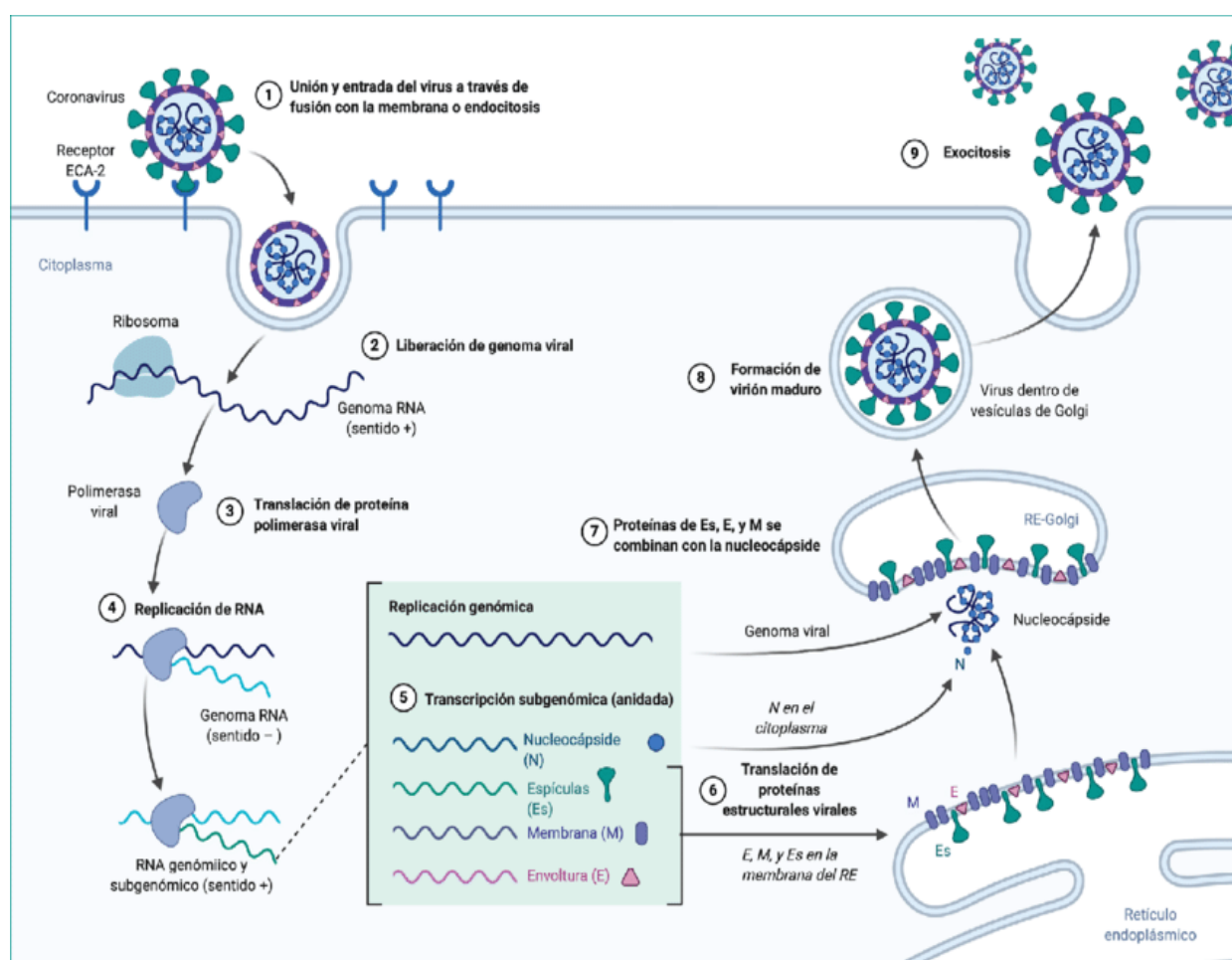


Fig 4.- Ciclo de replicación del SARS-CoV-2 (imagen recuperada de Porta-Etessam, 2020)

## **1.5 TRANSMISIÓN DEL VIRUS**

La transmisión entre los seres humanos se produce mediante pequeñas gotículas al toser, hablar o respirar, por contacto directo, así como mediante aerosoles en habitaciones y espacios cerrados. Esta última forma de contagio es particularmente relevante para el personal sanitario que trabaja en unidades de cuidados intensivos y para aquellos profesionales de la salud. La transmisión por fómites también es posible. Estudios experimentales han mostrado que el virus puede persistir viable durante al menos 3 horas en aerosoles y hasta 72 horas en superficies de plástico o de acero inoxidable. El virus se ha detectado en el tracto gastrointestinal, heces, saliva y orina, rutas de potencial transmisión que será o se necesitará evaluar en un futuro cercano. (Porta-Etessam, 2020)

## **1.6 ESTADO DE LA ENFERMEDAD.**

El periodo de incubación varía de media entre 3 y 7 días, aunque se han descrito intervalos de tiempo desde la infección hasta el inicio de los síntomas de dos semanas. La fase replicativa dura varios días y en ella se produce una respuesta inmune innata que es incapaz de contener la replicación del virus. En esta fase replicativa pueden aparecer síntomas leves consecuencia del efecto citopático directo del virus y de la respuesta inmune innata. Si el sistema inmune innato no consigue limitar la propagación del virus, entonces se sucede una fase de afectación pulmonar con sintomatología variada, consecuencia del efecto citopático directo en las células pulmonares (Porta-Etessam, 2020).

Posteriormente, se produce una fase en la que actúan la inmunidad adquirida o adaptativa en la que la carga viral disminuye. Sin embargo, en algunos pacientes se ha observado un aumento de los niveles de citocinas inflamatorias, con daño tisular y síntomas de deterioro clínico. En la fisiopatología de la COVID-19 conviene discernir dos aspectos: el SARS y la "tormenta de citosinas". En el SARS se ha comprobado la existencia de daño citopático directo de los neumocitos por el virus, así como un daño difuso alveolar que incluye membranas hialinas en las formas más graves. Además, muchos pacientes desarrollan síntomas de hiperinflación sistémica grave (Porta-Etessam, 2020).

## **1.7 ANTIVIRALES**

Los virus como hemos mencionado anteriormente son parásitos intracelulares y su replicación depende básicamente del huésped que invade. El sistema inmune es la primera defensa para esta invasión, sin embargo, en muchos casos esta protección es insuficiente, por lo que se requiere el uso de agentes que retrasan a la replicación viral y fortalezcan el sistema inmune de tal forma que pueda combatir la infección. Mientras el virus se está replicando utilizan muchas vías bioquímicas y metabólicas de las células hospedadas. Ha resultado difícil alcanzar una actividad antiviral útil sin afectar el metabolismo normal de la célula infectada, causando también efectos tóxicos en células no infectadas. Los antivirales ejercen su acción inhibiendo ya sea la entrada del virus, bloqueando enzimas importantes en la replicación o ensamblaje viral, así como la salida del virus en la célula. La

eficacia óptima clínica va a depender del tiempo que transcurra antes de empezar el tratamiento y a la vez de la prevención de la infección. Como máxima el tratamiento lo antes que se inicie se obtendrá el mejor efecto. Hoy en día hay muchos fármacos antivirales que se encuentran disponibles en el mercado presentan algunas características tales como: requerir la inmunidad del huésped para desarrollar su efecto y actúan inhibiendo replicación, por lo que el crecimiento viral puede reiniciar una vez que se suspenda el tratamiento un ejemplo de esto sería el virus del VIH (De León Gálvez, Francisco, 2012).

La cantidad de antivirales disponibles hoy en día ha aumentado no solo por la cantidad de virus oportunistas que se presentan, sino principalmente como una reacción a la pandemia generada por la infección por SARS-CoV-2. La terapia para la enfermedad viral en general sólo tiene dos opciones, vacunas o antivirales. Las vacunas sin duda es la forma de prevención más apropiada pero no es una opción si se tiene una infección en proceso. Los fármacos antivirales por lo tanto tienen un papel secundario que aplica como preventivo de corto plazo o terapéutico una vez que la infección se ha establecido. Por esta razón, la búsqueda de antivirales que pueden ayudar al control de SARS-CoV-2 es importante en nuestro tiempo y puede poner precedentes para el futuro de nuevas cepas o nuevos virus (De León Gálvez, Francisco, 2012).

### **1.7.1 Los antivirales que impiden la replicación genética viral**

Algunos de estos fármacos son compuestos análogos de las bases que conforman las hebras de DNA, por lo que al momento en que el proceso de replicación se encuentra con una de ellas, dicha replicación se detiene, lo que conlleva a que los virus no tengan material genético para poder propagarse. También pueden actuar impidiendo la unión del ácido nucleico al de la célula infectada. Los antivirales que pertenecen a este grupo son aciclovir, abacavir, adefovir entre otros antivirales (Porta-Etessam, 2020).

También hay antivirales que impiden el ensamblaje de las partículas virales, este tipo de antivirales se encarga de impedir que las partículas nuevas de los virus que se han generado puedan ser utilizadas en su forma útil. Muchas de estas partículas son proteínas que para que sean funcionales, son cortadas en sitios específicos, lo que les dará una conformación para ser utilizada por los virus. Los antivirales de este grupo atacan a las moléculas encargadas de realizar estos cortes, motivo por el cual, aunque se sintetice la proteína no podrá ser utilizada ya que no estará disponible en su versión funcional. El blanco de estos antivirales es: Proteasas del virus del VIH y de la hepatitis C, por ejemplo. Entre los antivirales que tienen este tipo de mecanismo de acción podemos mencionar a lopinavir-ritonavir, saquinavir, darunavir y simeprevir. (Porta-Etessam, 2020)

## **2. DISEÑO DE FÁRMACOS ASISTIDOS POR COMPUTADORA**

Diseño de Fármacos Asistidos por Computadora (DIFAC), es una herramienta útil para la industria farmacéutica y para el uso de varias universidades, forma una parte de un esfuerzo multidisciplinario y está conformado por una serie de disciplinas científicas que abarcan modelado molecular, quimioinformática, química teórica y química computacional. A pesar

de los avances en el desarrollo de programas computacionales que son de fácil acceso y uso, entender el modo de acción de moléculas activas a nivel molecular tienen gran interés científico y práctico. Una de las aplicaciones es proponer cambios específicos a las estructuras químicas para ayudar a incrementar su afinidad con la diana terapéutica y, en un principio, aumentar su actividad biológica (Saldívar-González, Fernanda et al., 2017).

El DiFAC es una herramienta muy útil para el uso de capacidad computacional o de elementos tecnológicos a la disposición de encontrar nuevas estrategias de búsqueda de fármacos. En cuanto más la tecnología avanza más instrumentos son implementados para el uso de esta herramienta, DIFAC lo utiliza la industria farmacéutica para disminuir costos en síntesis de nuevos compuestos, disminuir costos de procesos y también reduce el tiempo para poder implementar una metodología del uso de nuevas moléculas (Guillermo Francisco Ramírez Reyes, 2019). Se estima que el desarrollo de un fármaco tarda aproximadamente entre 10 a 15 años y se invierten en un promedio de 800 millones de dólares, teniendo mayor costo y tiempo las pruebas clínicas en humanos. El tiempo y costo tan elevados están asociados en gran medida a la cantidad de moléculas que fallan una o varias etapas de desarrollo de fármacos (Saldívar-González, Fernanda et al., 2017) y así descartar moléculas hasta obtener una molécula apta para el consumo humano. Por lo que producir un producto farmacéutico es costoso, tardado y no hay seguridad de obtener lo invertido en las empresas farmacéuticas. Por lo que hacer métodos computacionales, podría ser una opción para disminuir los costos de producción, investigación, desarrollo y disminuir tiempos de creación de estas nuevas moléculas, una herramienta útil e importante dentro del DiFAC es las proteínas que se utilizarán para realizar el diseño de fármacos.

## **2.1.- LAS PROTEÍNAS**

Las proteínas poseen una misma estructura química central, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos. Lo que hace distinta a una proteína de otra es la secuencia de aminoácidos de qué está hecha, a esta secuencia de aminoácidos se le llama estructura primaria de la proteína. La estructura primaria de una proteína determina la función que pueda llevar a cumplir. Sin embargo, la secuencia lineal de aminoácidos puede adoptar múltiples conformaciones en el espacio que se forman gracias al plegamiento de los mismos polímeros lineales. Esta parte se puede generar de forma espontáneamente, debido a los efectos de repulsión de los aminoácidos hidrófobos por el agua, la atracción de aminoácidos cargados y la formación de puentes de disulfuro y también en parte es ayudado por otras proteínas. Así la estructura primaria viene determinada por la secuencia de aminoácidos en la cadena proteica, esto es decir que, el número de aminoácidos presentes y el orden en que están enlazados y la forma en que se pliega la cadena se analiza en términos de estructura secundaria. También las proteínas adoptan diferentes conformaciones en el espacio, por lo que se describe una tercera estructura. De este modo es la cadena polipeptídica que se pliega en el espacio, es decir, se enrolla en una determinada proteína. Así mismo, las proteínas no se componen en su mayoría, de una única cadena de aminoácidos, sino que suelen agruparse en varias cadenas polipeptídicas (o monómeros) para formar proteínas poliméricas mayores. A esto se le llama estructura cuaternaria de las proteínas, a la agrupación de varias cadenas de aminoácidos (o polipéptidos) en complejos macromoleculares mayores. En la siguiente figura 5 se muestran las estructuras de las proteínas (Luque Guillén, 2009)



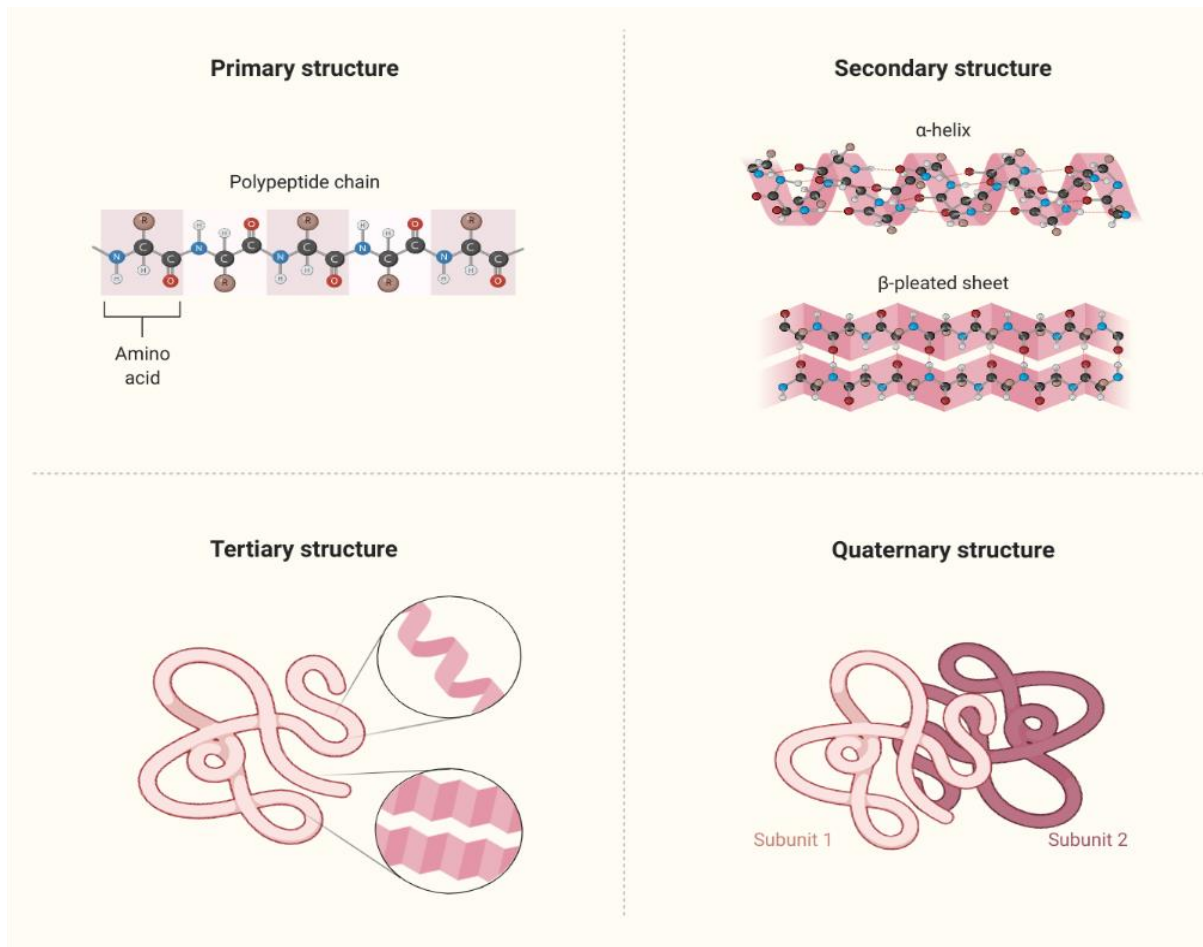


Fig 5.-Estructura de las proteínas (imagen creada con BioRender.com)

La estructura primaria está determinada por la secuencia de aminoácidos de la cadena proteica, es decir, el número de aminoácidos presentes y el orden en que están enlazados. Las posibilidades de estructuración a este nivel son prácticamente ilimitadas, el establecimiento de los enlaces peptídicos entre los distintos aminoácidos que forman la proteína, se origina una cadena principal o “esqueleto” a partir del cual emergen las cadenas laterales de los aminoácidos. Los átomos que componen la cadena principal de la proteína son el N del grupo amino (este es condensado del aminoácido precedente), el C (del cual emerge la cadena lateral) y el C del grupo del carboxilo (que se condensa con el aminoácido siguiente), (Luque Guillén, 2009), por lo tanto, la unidad básica que aparece en la cadena principal de una proteína es la siguiente en la figura 6: (-NH-C=CO-)



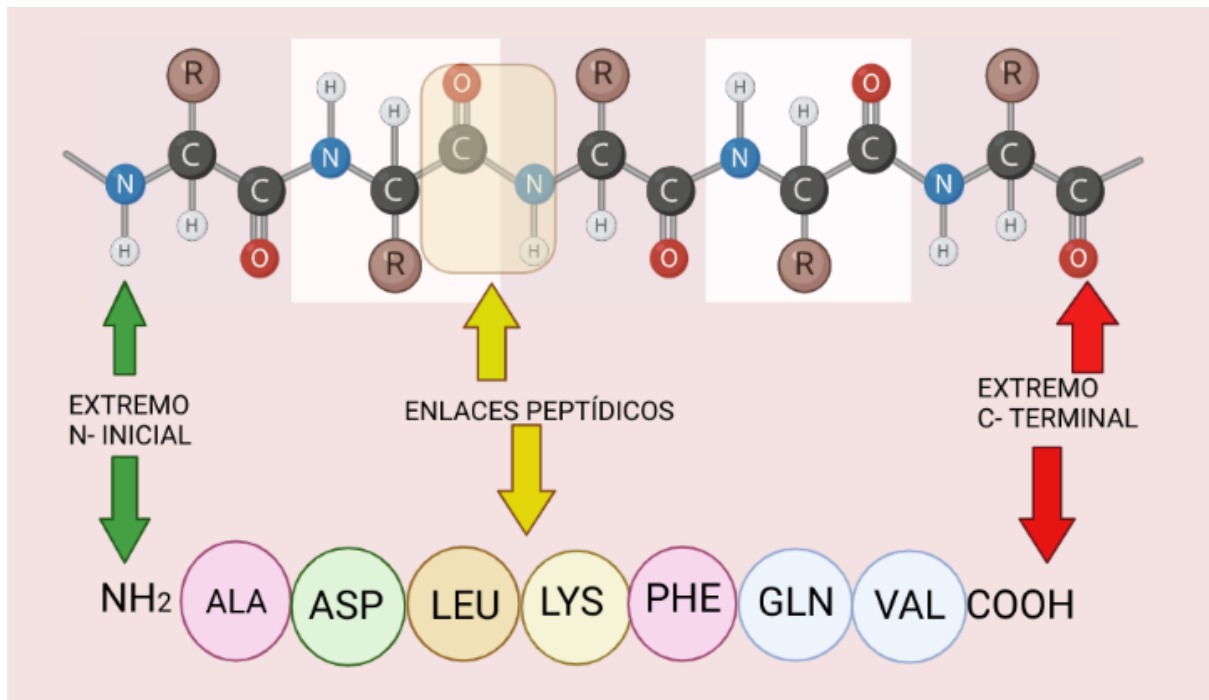


Fig 6.- Estructura primaria de las proteínas (imagen generada con BioRender)

Ahora las estructuras secundarias de las proteínas, es el plegamiento que la cadena polipeptídica adopta gracias a la formación de los puentes de hidrógenos entre los átomos que forman el enlace peptídico. Los puentes de hidrógeno se establecen entre los grupos -CO- y -NH- del enlace peptídico, de esta forma la cadena polipeptídica es capaz de adoptar conformaciones de menor energía y por lo tanto más estables (Luque Guillén, 2009).

### Hélice alfa

En esta estructura la cadena se mantiene gracias a los enlaces de hidrógenos intracatenarios formados entre el grupo -NH de un enlace peptídico y el grupo -C=O del cuarto aminoácido que le sigue. Cuando la cadena polipeptídica se enrolla en espiral sobre sí misma debido a los giros en torno al carbono alfa de cada aminoácido se adopta una conformación denominada hélice alfa. Esta estructura es periódica y en ella cada enlace peptídico puede establecer dos puentes de hidrógeno, un puente de hidrógeno se forma entre un grupo -NH- del enlace peptídico del aminoácido en posición  $n$  y el grupo -CO- del enlace peptídico del aminoácido situado en posición  $n-4$ . El otro puente de hidrógeno se forma entre el grupo -CO- del enlace peptídico del aminoácido en posición  $n+4$  (Luque Guillén, 2009). Las cadenas laterales de los aminoácidos se sitúan en la parte externa del helicoide, lo que evita problemas de impedimentos estéricos. En consecuencia, esta estructura puede albergar a cualquier aminoácido, a excepción de la prolina, cuyo carbono alfa no tiene libertad de giro, por estar integrado a un heterocíclico. Por este motivo, la prolina suele determinar una interrupción en la conformación en hélice alfa. Los aminoácidos muy polares (Lys, Glu) también desestabilizan la hélice porque los enlaces de hidrogeno pierden importancia frente a las interacciones electrostáticas de atracción o repulsión (Luque Guillén, 2009).

Existen otras conformaciones helicoidales en las que la cadena principal puede adoptar un conformación más laxa que una hélice  $\alpha$  y con poco contacto entre sus átomos (con puentes de hidrogeno), las hélices  $\pi$  este es un tipo de estructura secundaria de las proteínas encontrada particularmente en las proteínas de membrana, los aminoácidos están dispuestos en forma helicoidal en sentido horario, el grupo N-H de un aminoácido forma un enlace por puente de hidrogeno con el grupo C=O del aminoácido cinco residuos anterior; en donde estas repeticiones de enlace de hidrógeno se forman de  $i+5$  en donde  $i$  (cadenas laterales de los residuos) define la hélice  $\pi$ , o menos laxa como las hélices  $3_{10}$  este es un tipo de estructura secundaria de proteína poco común, son más estrechas y largas que una hélice alfa, estas están dispuestas en una estructura helicoidal de sentido horario. El grupo N-H de un aminoácido forma un enlace por puente de hidrogeno con el grupo C=O del aminoácido tres residuos anteriores; estos enlaces de hidrógenos repetidos forma  $i+3$ , en donde la  $i$  define las hélices  $3_{10}$  (Santos, Javier, 2009).

El segundo elemento estructural regular, fácilmente identificable en las estructuras proteicas son las láminas  $\beta$ , estas están compuestas de por varias regiones de la cadena polipeptídica. Cada porción (cada hebra de lámina), típicamente, está formado por 5-10 residuos con una periodicidad aproximada de 2 residuos y contrariamente con la disposición de los puentes de hidrogeno en las hélices, en las láminas los puentes de hidrogeno se forman entre hebras, esto quiere decir entre el grupo amida -NH y el carbonílico C=O de residuos de dos hebras distintas. Así, en el caso de las hojas o láminas  $\beta$  intramoleculares las interacciones entre hebras se dan entre residuos distantes en la estructura primaria. También puede tratarse de hebras que corresponden a distintas cadenas polipeptídicas. Las hebras pueden interactuar, principalmente, de dos maneras diferentes, si ambas hebras alternan el sentido se trata de hebras antiparalelas en cambio sí corren con el mismo sentido (N-C-terminal) entonces se conocen como hebras antiparalelas; en la figura 7 se muestran las estructuras de hélice  $\alpha$  y lámina  $\beta$ .

# Estructura Secundaria

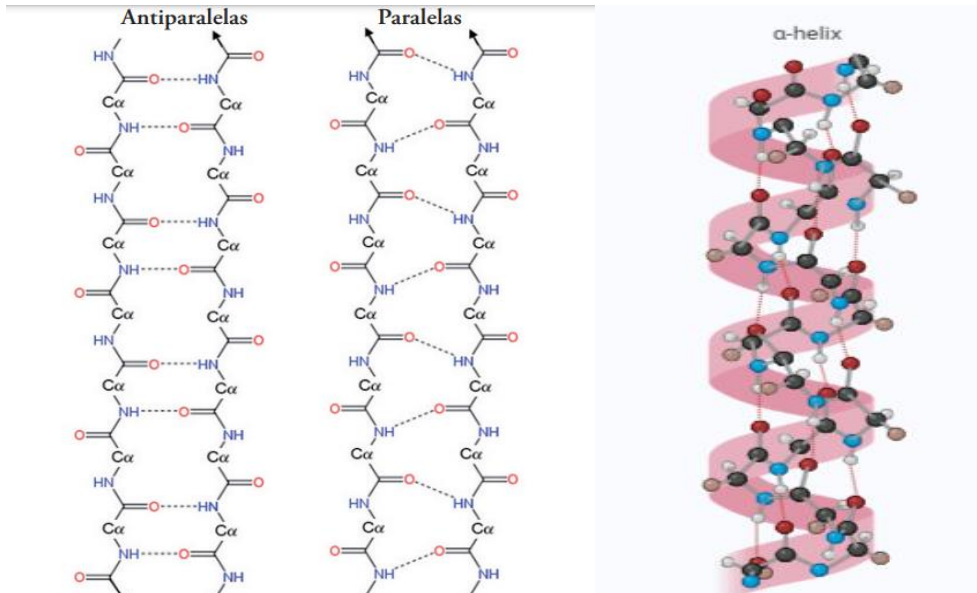
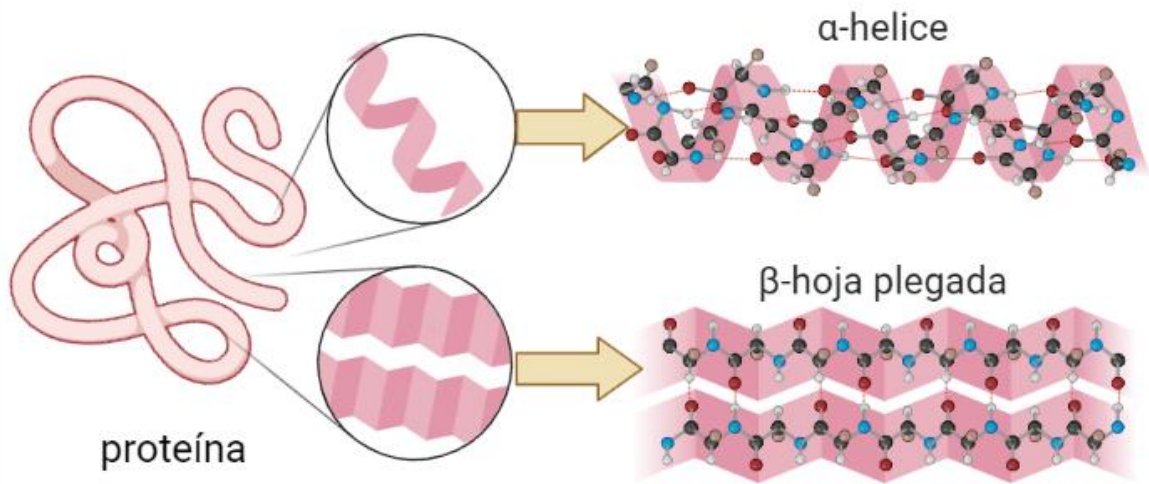


Fig 7.- Estructura Secundaria mostrando la Alfa hélice y Beta plegada mostrando de lado izquierdo las láminas  $\beta$  con la formación antiparalela y antiparalela, y de lado derecho una hélice  $\alpha$  (imagen generada en BioRender).

Una vez obteniendo las formas y la relación estructural de las proteínas, una forma de analizar su estructura geometría, sería con el análisis del Diagrama de ramachandran.

## 2.1.1 Diagrama de Ramachandran

Con esta breve explicación de la estructura secundaria y sus formas, se explicará el diagrama de ramachandran, como ya observamos anteriormente las Hojas betas o laminas  $\beta$  (hoja  $\beta$ ) y alfa hélices ( $\alpha$ -hélice). Son las estructuras en las que se pueden componer las proteínas, estas son las propiedades en las que pueden estar correctas de las proteínas por las cuales, en la figura 8 se muestran las hojas betas en color amarillo y las alfas hélices en color rojo, la proteína es la Mpro del SARS-CoV-2.

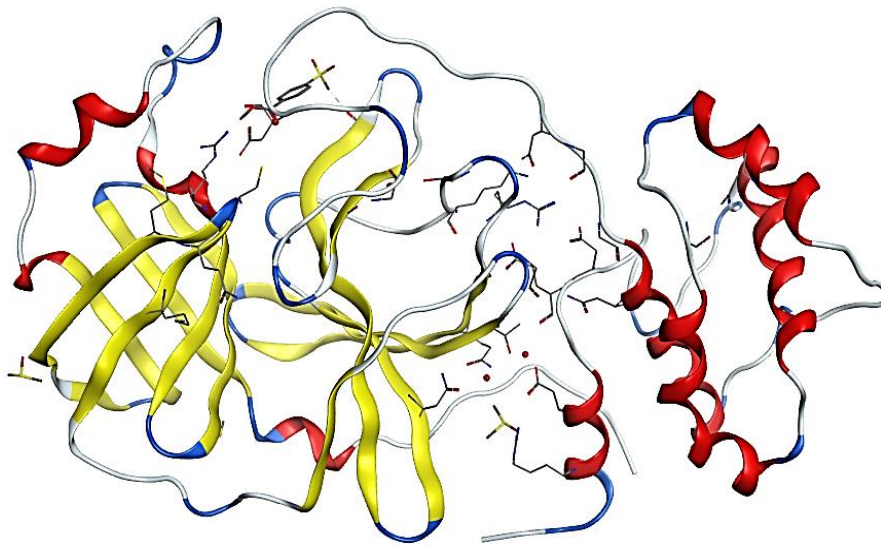


Fig 8.- Representación de la proteína Mpro del SARS-CoV-2 con sus conformaciones alfa hélice en rojo y hojas beta en amarillo (Figura generada en *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2019.01).

Las conformaciones equivocadas de las proteínas pueden dar errores en su estructura y esos errores pueden costar en la unión de los ligandos, haciendo que estos mismos no puedan interactuar con la proteína diana. Para ello se utilizan técnicas para verificar la estructura correcta de las proteínas. Unos de ellos es el diagrama de Ramachandran. Esta técnica fue creada por el bioquímico indio Gopalasamundran Narayana Ramachandran y el diagrama ilustra todas las combinaciones de los ángulos diedros  $\Psi$  (psi) contra los  $\Phi$  (phi) en los aminoácidos de un polipéptido y que contribuyen a la conformación de las estructuras de las proteínas. En la figura 9 está representada un diagrama de Ramachandran.

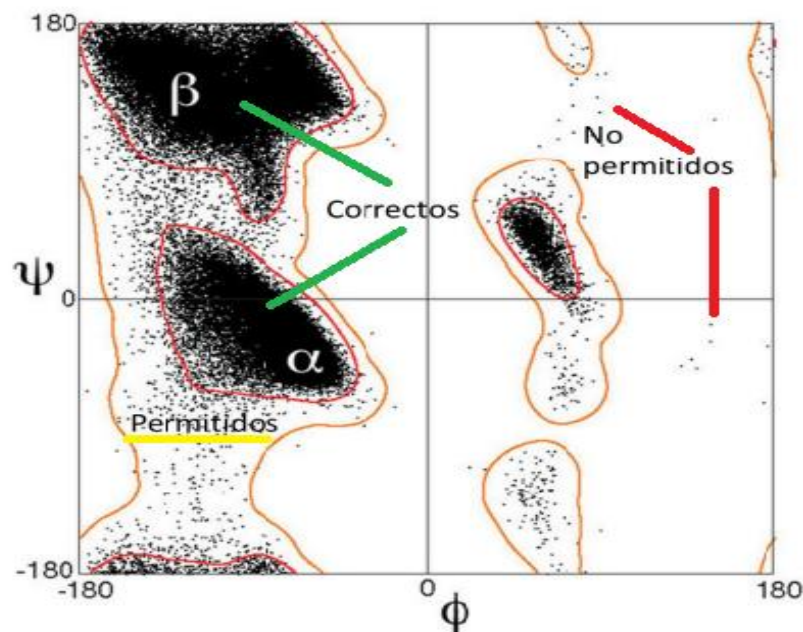


Fig 9.- Ejemplo del Diagrama de Ramachandran (Figura obtenida y modificada de Wikipedia Commons)

Este gráfico permite aproximar cuál será la estructura secundaria del péptido, ya que existen combinaciones de ángulos típicas para cada estructura ( $\alpha$ -hélice y hoja  $\beta$ ). Comprueba qué residuos de la secuencia, se encuentran en conformaciones o regiones favorables, como medida calidad de la estructura. Ayuda a averiguar en la base de la geometría del esqueleto proteico el estado de estructura secundaria de segmentos de residuos. Y demuestra teóricamente los valores y conformaciones de los ángulos  $\Psi$  y  $\Phi$  que son posibles para el residuo de los aminoácidos en una proteína y verifica la validación de la estructura, otra validación es el consenso de proteínas.

## 2.2 Consenso de proteínas

La aplicación de consenso de proteínas calcula un conjunto de proteínas, de estas analiza y hace un consenso para las relaciones entre las proteínas. El conjunto de consenso se construye utilizando índices como el RMSD *Root Mean Square Deviation* entre los átomos en residuos alineados. En el cual se calcula el consenso sobre una alineación determinada y una superposición de los átomos 3D (MOE, 2019.01)

La aplicación del consenso de proteínas es útil para realizar una variedad de tareas que incluyen:

- 1.- Mejorar alineamientos de homólogos relacionados lejanamente, cuando tienen una dificultad para hacer alineamientos automáticos.
- 2.- Examina múltiples modelos de la misma estructura para establecer qué áreas son confiables.
- 3.- Examinar alineaciones y crear plantillas de modelos familiares para el desarrollo de fármacos.

En la figura 10, se muestra la agrupación de las proteínas de la Mpro en color azul y moléculas que agua que se mantiene en cada estructura. Estas moléculas pueden ser importantes para el manejo de los ligandos, ya que sus interacciones con ellas mejoran o empeora las uniones con los aminoácidos de la proteína.

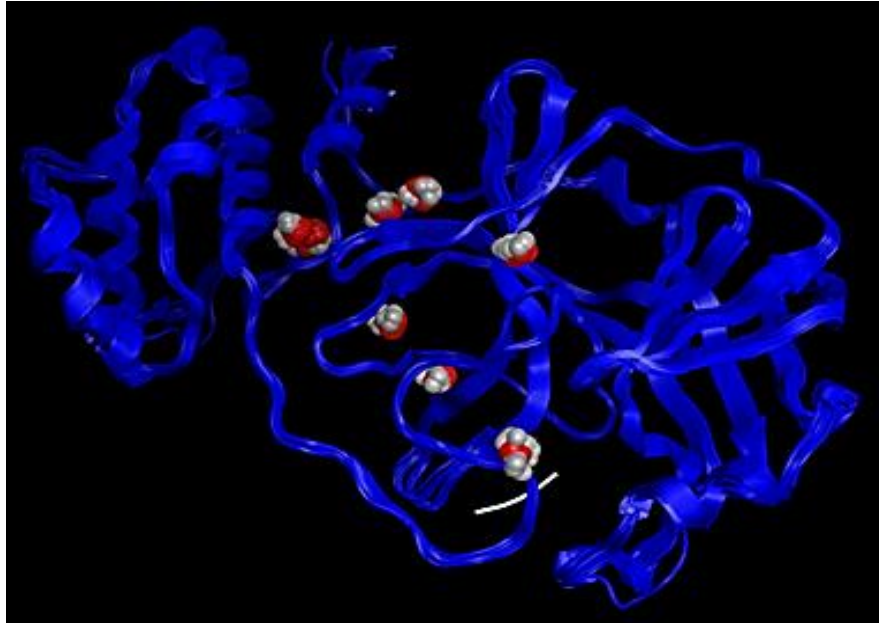


Fig 10.- Ejemplo del consenso de proteínas en la Mpro del SARS-CoV-2 mostrando las zonas donde moléculas de agua se conservan en la proteína (imagen generada en MOE, 2019.01).

Una vez teniendo la validación de la proteína con el Diagrama de ramachandran y el consenso de proteínas se utiliza el docking molecular para poder hacer el acoplamiento con los ligandos que podríamos elegir.

### 2.3 DOCKING MOLECULAR

El docking molecular o el acoplamiento molecular es un método computacional utilizado para predecir la interacción de dos moléculas generando un modelo de unión. En muchas aplicaciones de descubrimiento de fármacos, el acoplamiento se realiza entre una molécula pequeña y una macromolécula. Un ejemplo es un acoplamiento proteína-Ligando, el acoplamiento también se aplica para predecir el modo de unión entre dos macromoléculas, como ejemplo se tiene la unión proteína-proteína. (Prieto-Martínez, F. et al., 2018).

El enfoque de acoplamiento molecular se puede utilizar para modelar la interacción entre una molécula pequeña y una proteína a nivel atómico. Lo que nos permite caracterizar el comportamiento de las moléculas pequeñas en el sitio de unión de las proteínas diana, el proceso de acoplamiento implica dos pasos: La predicción de la conformación del ligando, así como su posición y orientación dentro de estos sitios y la evaluación de la afinidad de unión. Conocer la ubicación del sitio de enlace antes de los procesos de acoplamiento aumenta significativamente la eficiencia del acoplamiento, en muchos casos, el sitio de unión se conoce antes de acoplar ligandos en él, (Meng, X. Y et al., 2011).

La primera elucidación del mecanismo de unión ligando-receptor es la teoría del candado y llave propuesta por Fischer, en la que el ligando encaja en el receptor como un candado y una llave. Los primeros métodos de acoplamiento se basaron en la teoría y, en consecuencia, tanto el ligando como el receptor se trataron como cuerpos rígidos. Entonces la teoría del candado y la llave es un paso más allá, afirmando que el sitio activo de la proteína se reforma



continuamente por interacciones con los ligandos, a medida que los ligandos y el receptor interactúan con la proteína. Esta teoría sugiere que el ligando y el receptor deben tratarse como flexibles durante el acoplamiento. En consecuencia, podría describir los eventos vinculantes con mayor precisión que el tratamiento rígido en la figura 11 se muestra la propuesta de Fisher (Meng, X. Y et al., 2011).

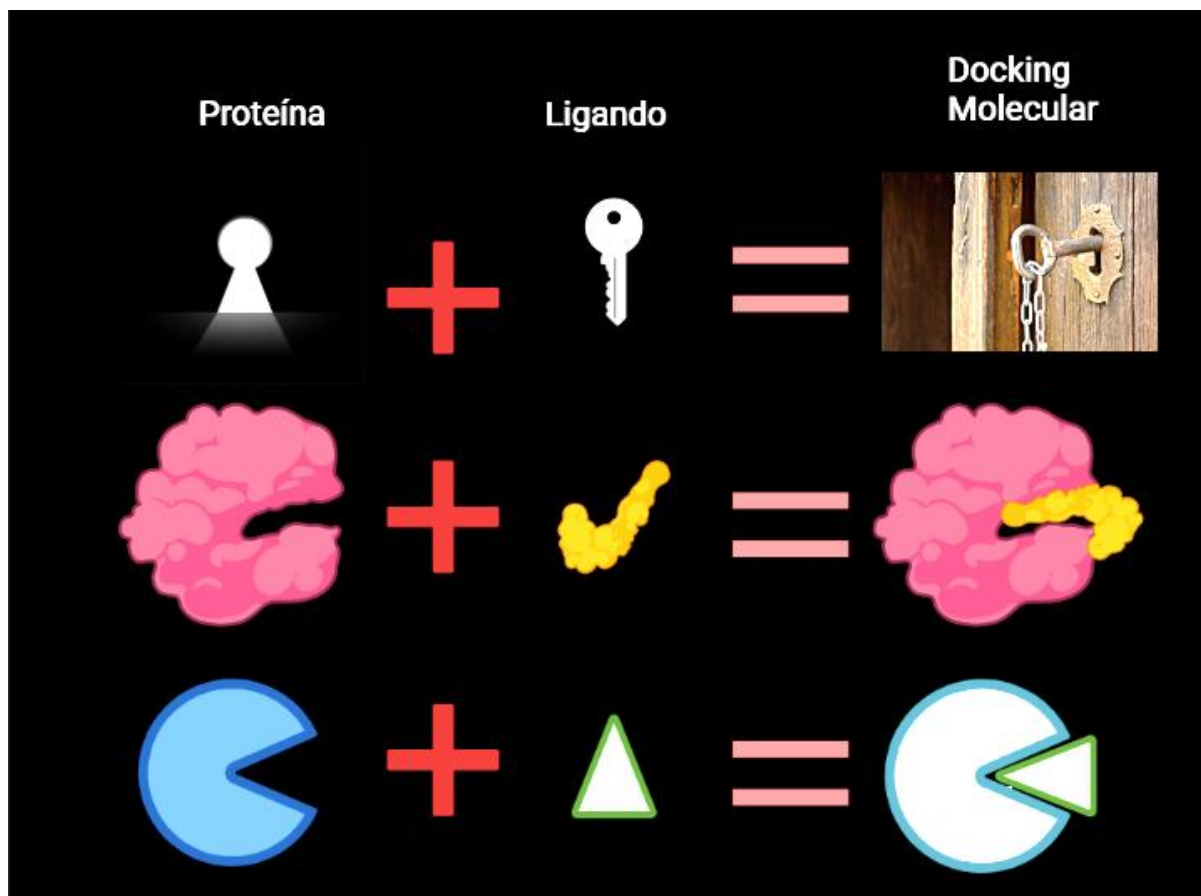


Fig 11.- Ejemplo de una interacción de una Proteína y Ligando, siguiendo la propuesta de Fisher del cual la proteína es una cerradura y el ligando una llave del cual entra en la cerradura (imagen generada por BioRender.com).

Una representación de una estación de trabajo se muestra en la figura 12, este diagrama son los pasos comunes de la mayoría de los procesos de docking. Las estructuras tridimensionales de las macromoléculas y de las pequeñas moléculas deben ser los primeros en escogerse, entonces cada estructura debe prepararse en concordancia a los requerimientos de los métodos de docking a utilizar, cada programa utilizado sigue distintos grupos de procedimientos. Posteriormente del docking, los resultados deben ser analizados y seleccionando las uniones con mejores valores o mejores energías (Morris G.M et al., 2008).

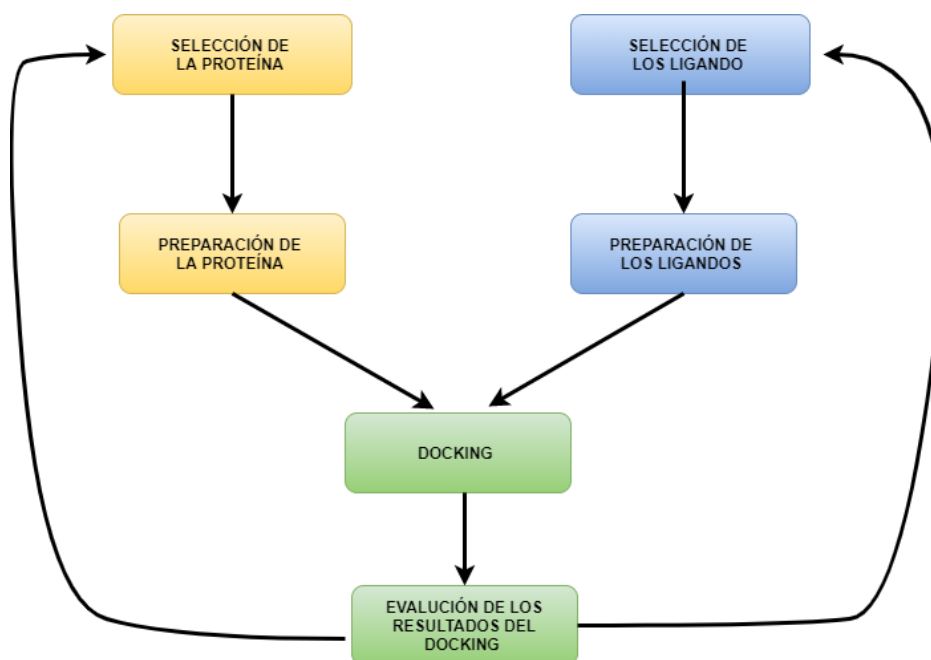


Fig 12.- Estación de trabajo y protocolo para un docking molecular proteína-ligando (Morris G.M et al.,2008).

otra forma de análisis es aparte del docking molecular es el virtual screening aunque es un tipo de docking en este se puede utilizar muchas y variados ligandos para un mismo pocket o blanco farmacológico.

### 2.3.1 VIRTUAL SCREENING (CRIVADO VIRTUAL)

El virtual screening o cribado virtual es una técnica computacional que es utilizada para el descubrimiento de nuevos fármacos con ayuda de librerías de compuestos o base de datos de compuestos de pequeño peso molecular. Para así identificar estructuras que puedan tener mayor interacción con los sitios blancos de ciertas proteínas. En esta técnica se pueden tener un número considerable de moléculas de bajo peso molecular, en las que se insertan todas las moléculas en una caja de interacción o grid dentro de la proteína. De estas se tratarán de acoplar al receptor indicado. Dando como resultado los ligandos con favorable energía de interacción en Kcal/mol. En este resultado podremos descartar moléculas que no tengan una afinidad por el receptor, en la siguiente figura 13 se muestra una caja de interacción o grid (Saldívar-González, F et al., 2017).



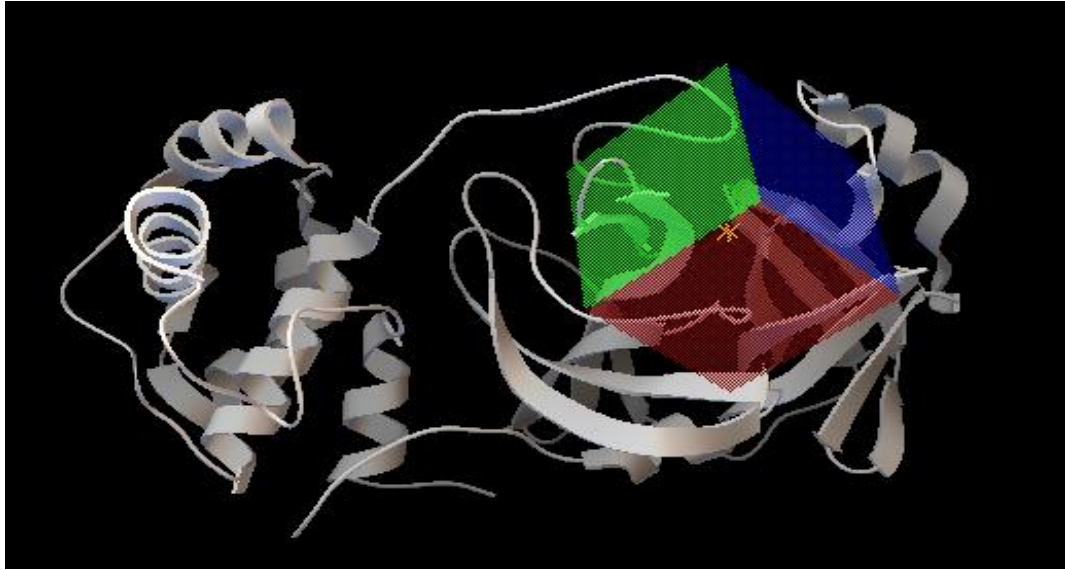


Fig 13.- Proteína Mpro del SARS-CoV-2 con la caja de interacción o grid (imagen utilizada del Autodock-tools).

De esta manera, el virtual screening reduce significativamente el número de ensayos biológicos, que se harían si no hubiera una selección de compuestos. Sin embargo, es un proceso predictivo que debe integrarse con ensayos experimentales que validen las predicciones en los *ensayos in silico*. En la figura 14 se observa un proceso del virtual screening (Saldívar-González, F et al., 2017).

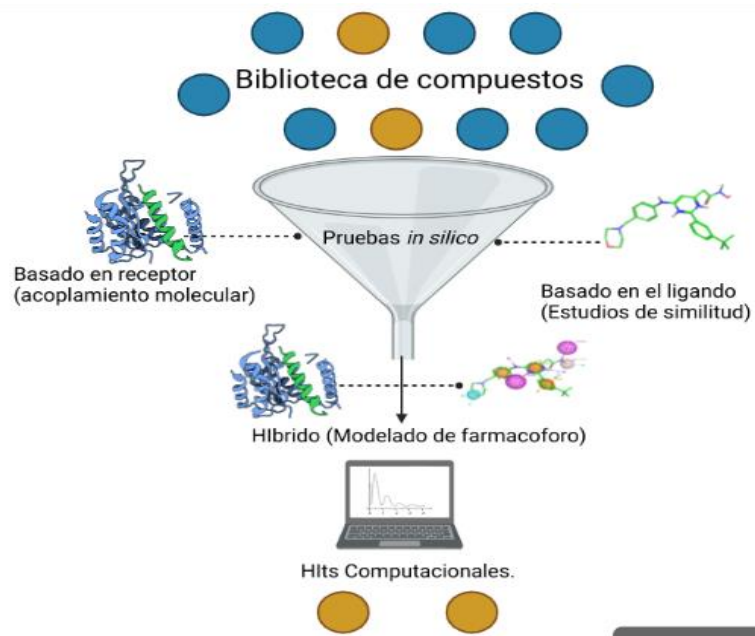


Fig.-14 Proceso de virtual screening (imagen generada en BioRender)

Existen diversos filtros que se utilizan para llevar a cabo el virtual screening los cuales pueden variar según la complejidad de la base de datos y la información experimental de la que se disponga. Por ejemplo, si se conoce la estructura tridimensional del receptor, se sugiere hacer un virtual screening en la estructura (acoplamiento molecular). Si solo se conocen los compuestos activos, pero no el receptor, entonces la búsqueda se hace basada en el ligando (similitud molecular). Si se conoce la estructura 3D del receptor y de los compuestos activos se pueden combinar filtros para facilitar la búsqueda, tales como descriptores moleculares y propiedades farmacocinéticas, entre otras. Las técnicas del virtual screening dependen de la información disponible del sistema (Saldívar-González, F et al., 2017), otro análisis es la dinámica molecular una vez teniendo el ligando o ligandos elegidos se pueden poner a prueba a través de tiempo en una simulación.

## 2.4 DINÁMICA MOLECULAR

La Simulación de Dinámica Molecular (DM) predice cómo cada átomo en una proteína o en otros sistemas pueden moverse a lo largo del tiempo o en general modelos físicos gobernados por interacciones interatómicas (Karplus and McCammon, 2002). Estas simulaciones pueden capturar una amplia cantidad de importantes procesos biomoleculares, incluyendo cambios conformacionales, enlaces entre ligandos y plegamiento entre proteínas, revelando las posiciones de todos los átomos en femtosegundos (fs) o nanosegundos (ns). Es importante decir, que cada simulación puede también predecir cómo las biomoléculas pueden responder, en un nivel atómico, en perturbaciones como mutaciones, fosforilación, protonación, la adición o eliminación de un ligando. Las simulaciones DM a menudo son usadas en combinaciones con una amplia variedad de técnicas experimentales de estructuras biológicas, incluyendo cristalografía de rayos X, microscopía cryo-electron, resonancia magnética nuclear (NMR), resonancia paramagnética de electrón y resonancia de energía transferible de Foster (FRET) (Hollingsworth, S et al., 2018).

Las simulaciones de DM son nuevas, la primera simulación por DM fue de gases simples se realizó a finales de los años 1950 's y la primera DM de una proteína fue realizada a finales de los años 1970's y esto permitió que fueran reconocidos en el futuro, los trabajos de simulaciones por el premio Nobel de química en el año 2013 (Domínguez L et al., 2013).

La idea básica de las simulaciones de Dinámica Molecular es muy simple, dan las posiciones de todos los átomos en un sistema biomolecular, uno puede ser calculado por la fuerza ejercida en cada átomo y por otro átomo (Hollingsworth, S et al., 2018). Por lo tanto, puede usar las leyes de movimiento de Newton, para predecir la posición parcial de cada átomo en función del tiempo. En particular, uno de los pasos a través del tiempo, es repetidamente calcular las fuerzas en cada átomo y entonces usar estas fuerzas para actualizar las posiciones y la velocidad de cada átomo. El resultado de la trayectoria, en esencia, una película tridimensional que describe los niveles de configuración de los átomos del sistema a cada punto durante un intervalo simultáneo de tiempo (Hollingsworth, S et al., 2018).

Estas simulaciones son poderosas por varias razones, la primera, es capturar la posición y el movimiento de cada átomo en cada punto en el tiempo. Esto es muy difícil con cualquier

técnica experimental, la segunda es, las condiciones de la simulación son precisamente conocidas y pueden ser controladas cuidadosamente. Solo así se pueden tener simulaciones comparadas y también se podrán identificar los efectos de una amplia variedad de perturbaciones en las moléculas, en la figura 15 se puede observar una proteína que estudia su estructura en una simulación y el movimiento que este presenta y como el modelo de la misma proteína es refinado para que el movimiento de esta sea disminuido. (Hollingsworth, S et al., 2018).

### Structural and dynamic studies: Studying conformational flexibility and stability

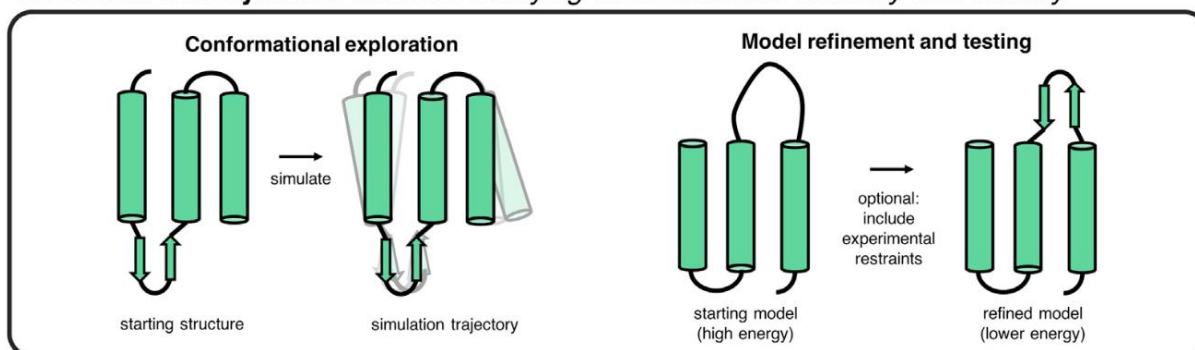


Fig 15.- Estructura de una proteína demostrando una simulación de su trayectoria y el estudio de la conformación con un modelo refinado (Hollingsworth, S et al., 2018).

Las fuerzas en las simulaciones DM son calculadas usando modelos conocidos como campos de fuerza de mecánica molecular, el cual encaja con los resultados de los cálculos de mecánica cuántica y típicamente para ciertas mediciones experimentales. Por ejemplo, un campo de fuerza incorporado a términos que capturan interacciones electrostáticas entre átomos, términos como un resorte que como modelos prefieren la longitud de cada enlace covalente y términos que capturan varios otros tipos de interacciones interatómicas (Hollingsworth, S et al., 2018).

En las simulaciones de Dinámica molecular (DM), los átomos en el sistema son tratados como partículas clásicas. Las fuerzas de cada átomo  $i$ , son calculados para evaluar el gradiente de la función de la energía potencial  $V(r^N)$

$$f_i = m_i a_i = - \partial V(r^N) / \partial r_i.$$

donde la  $m_i$  es la masa del átomo  $i$ , y  $a_i$ , es la aceleración del átomo  $i$ . La función de la energía potencial  $V(r^N)$  es parametrizada y es denotada 'campo de fuerza'. y esto depende de las posiciones de  $r^N = (r_1, r_2, \dots, r_N)$  de todas las partículas  $N$  en el sistema. Los campos de fuerza son usados para modelos de unión (uniones, ángulos, ángulos de torsión) e interacciones no unidas (*van der Waals, electrostatic*) en el sistema y determinadas por una

precisión en la simulación. Durante una simulación, cada átomo es permitido moverse según de la fuerza  $f_i$  actuando en eso, entonces el tiempo está avanzando, y todos los pasos son repetidos por un determinado número de pasos en el tiempo. La simulación de mecánica cuántica sigue en general el mismo procedimiento, pero basta con usar una preparametrización de la función de la energía potencial, donde la fuerza es calculada desde datos de mecánica cuántica de un sistema de una estructura electrostática en cada paso en el tiempo (Rakers, C et al., 2015). Los parámetros más comunes para poder estudiar y que revisaremos de las simulaciones de DM, son el RMSD, RMSF y radio de giro, de lo cual podremos entender de la siguiente manera:

**2.4.1 RMSD (Root Mean Square Deviation)** Esta es una medida de cambio de posición relativa, ya sea global o localizado de los átomos, o bien un desplazamiento promedio de los átomos con respecto a una posición, en un instante.

Si se tiene un valor de RMSD muy grande, puede significar que la dinámica puede sufrir una deformación en la proteína y los datos proporcionados en la misma dinámica no son confiables. Por lo que es necesario estabilizar las condiciones en las que se presenta nuestra proteína para que se puede estabilizar las fluctuaciones que estas pueden generarse durante el tiempo requerido de la simulación.

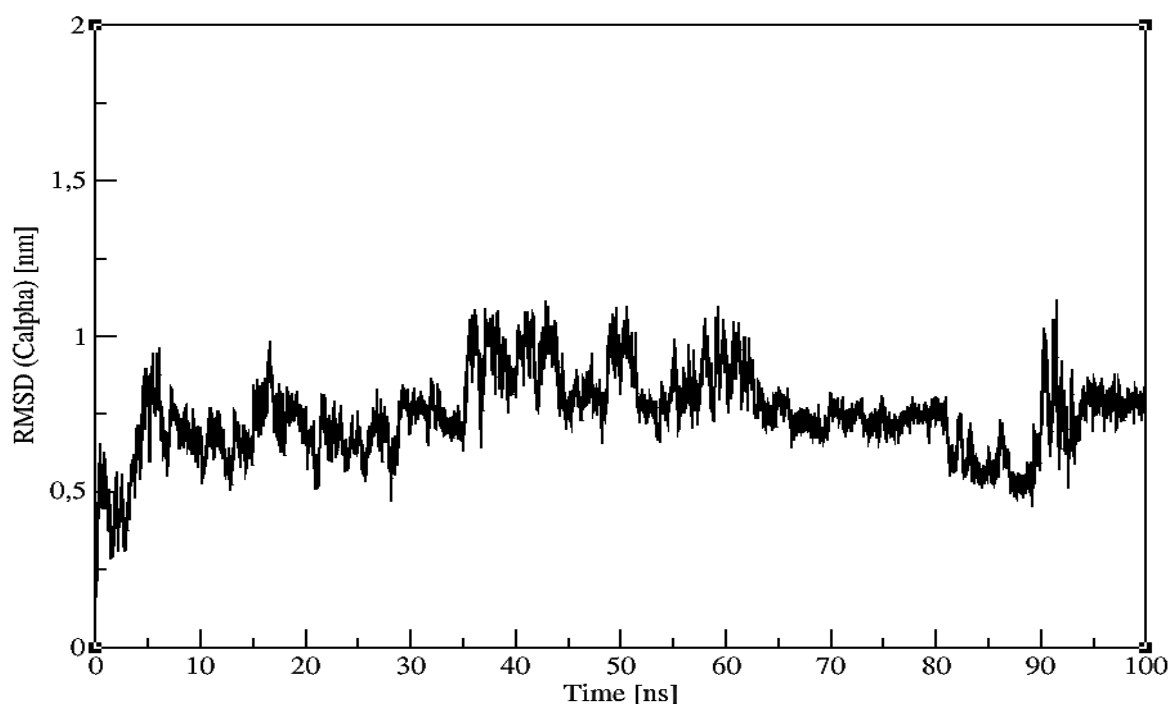


Fig 16.- Demostración de la Gráfica de RMSD donde en el eje Y muestra la distancia en Armstrong del carbono alfa de la proteína y en el eje X se observa el tiempo en nanosegundos del cual estuvo sometida la simulación (imagen obtenida de strodel.info)

**2.4.2 RMSF (Root Mean Square Fluctuation):** Esta unidad es para la medición del desplazamiento de un átomo en particular o un conjunto de ellos que son relativos a

la estructura de referencia. Cuando la estabilización del sistema está lograda, en pocas palabras está medición redacta la conservación de proteína.

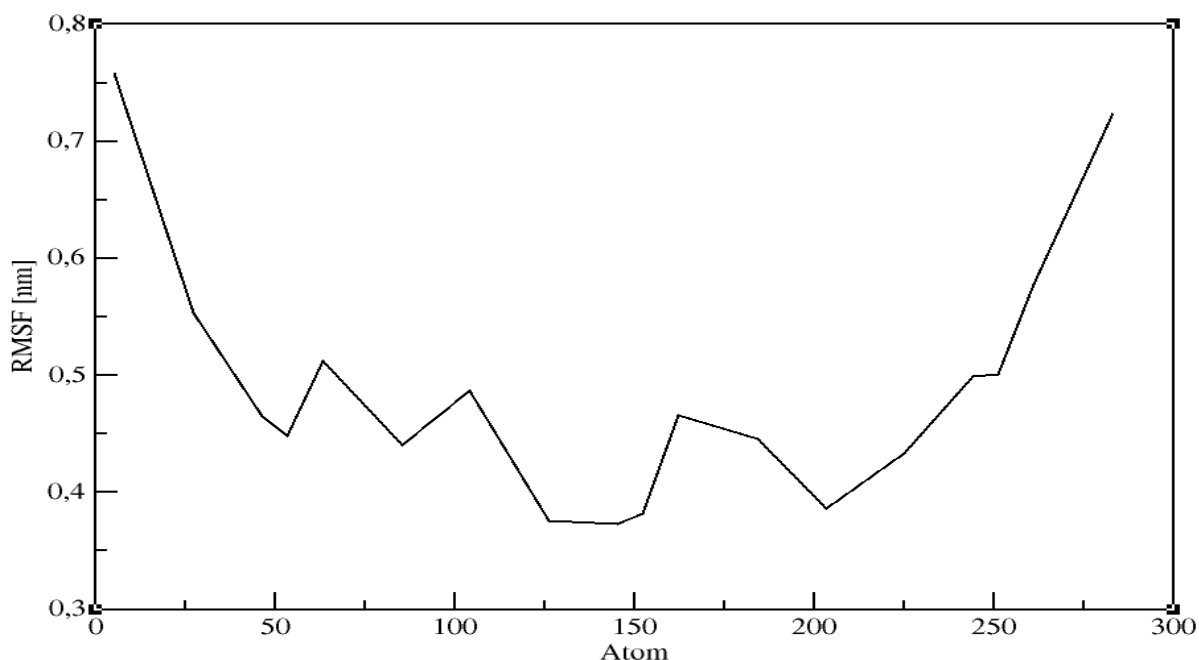


Fig 17.- Demostración de la gráfica de RMSF en donde el eje Y muestra el desplazamiento en Å y el eje X el número de átomos presentes en la proteína (imagen obtenida de strodel.info).

**2.4.3 Radio de giro (Rgr):** Radio de giro de una proteína, se define como la distancia cuadrática media de cada átomo de la proteína centroide, por lo que calcula el radio de giro de una molécula en función del tiempo. Esta es una manera de medir la compactación de una estructura de una la proteína: Un valor bajo de Rgr sugiere que la proteína es más compacta y de manera opuesta quiere decir que un valor mayor de Rgr propone la deformación de la proteína y un valor constante de Rgr a largo de la trayectoria de la DM muestra la estructura espacial estable de la proteína a lo largo de la simulación. Por el contrario, una proteína en movimiento constante daría un valor cambiante de Rgr a lo largo de la trayectoria de la DM (Castillo, Maximiliano S, 2019) en la figura 18 se observa la gráfica de Rgr y como la proteína está en movimiento.

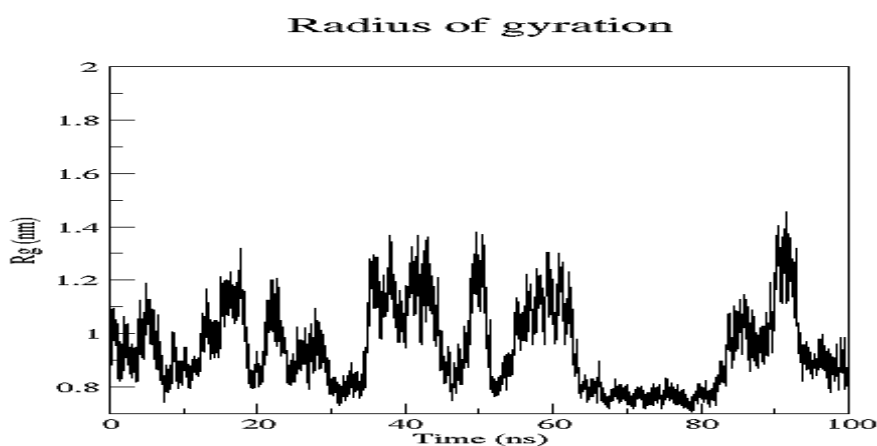


Fig 18.- Demostración del radio de giro de una proteína en el eje Y muestra la longitud de la proteína y en el eje X nos muestra el tiempo en nanosegundos.

La metodología para la búsqueda de antivirales y proteínas del SARS-CoV-2 se llevó a cabo en dos procesos y estos están relatados en los siguientes puntos (Figura 19):

### 3.-METODOLOGÍA

#### Parte A: Búsqueda de proteínas

1. Se realizó la búsqueda de las proteínas de replicación en la base de datos *Protein Data Bank (PDB)*.
2. Para las proteínas encontradas se realizaron tres técnicas: Consenso de proteínas, diagrama de Ramachandran y RMSD para saber la calidad de las proteínas.
3. Se realizó dos procesos para encontrar el sitio blanco de la proteína esta es *Sitefinder* y en una página de acceso gratuito llamada *ProteinPlus* y en este se utilizó un parámetro llamado *DoGSiteScorer Binding site detection* para corroborar el sitio blanco de la proteína.

#### Parte B: Búsqueda de antivirales.

4. Generar una base de datos de antivirales estos se obtuvieron por la técnica de cálculo de Tanimoto (Prieto-Martinez, F.D et al.,2018).
5. Transformar los compuestos en formato SMILE a mol2, y minimizar los compuestos.
6. Hacer las carpetas de los antivirales con un 90 % de similitud estructural.

#### Parte C: Virtual Screening, Docking y Dinámica Molecular.

7. Cambiar los formatos de las proteínas y Antivirales en pdbqt formato necesario para realizar el virtual screening con Autodock-VINA.
8. Filtrar los compuestos con alta energía de interacción y estos se les realizará un Docking molecular.
9. Filtrar los compuestos con mejor energía de afinidad dados en el docking y realizar Dinámica molecular.
10. Analizar y Concluir

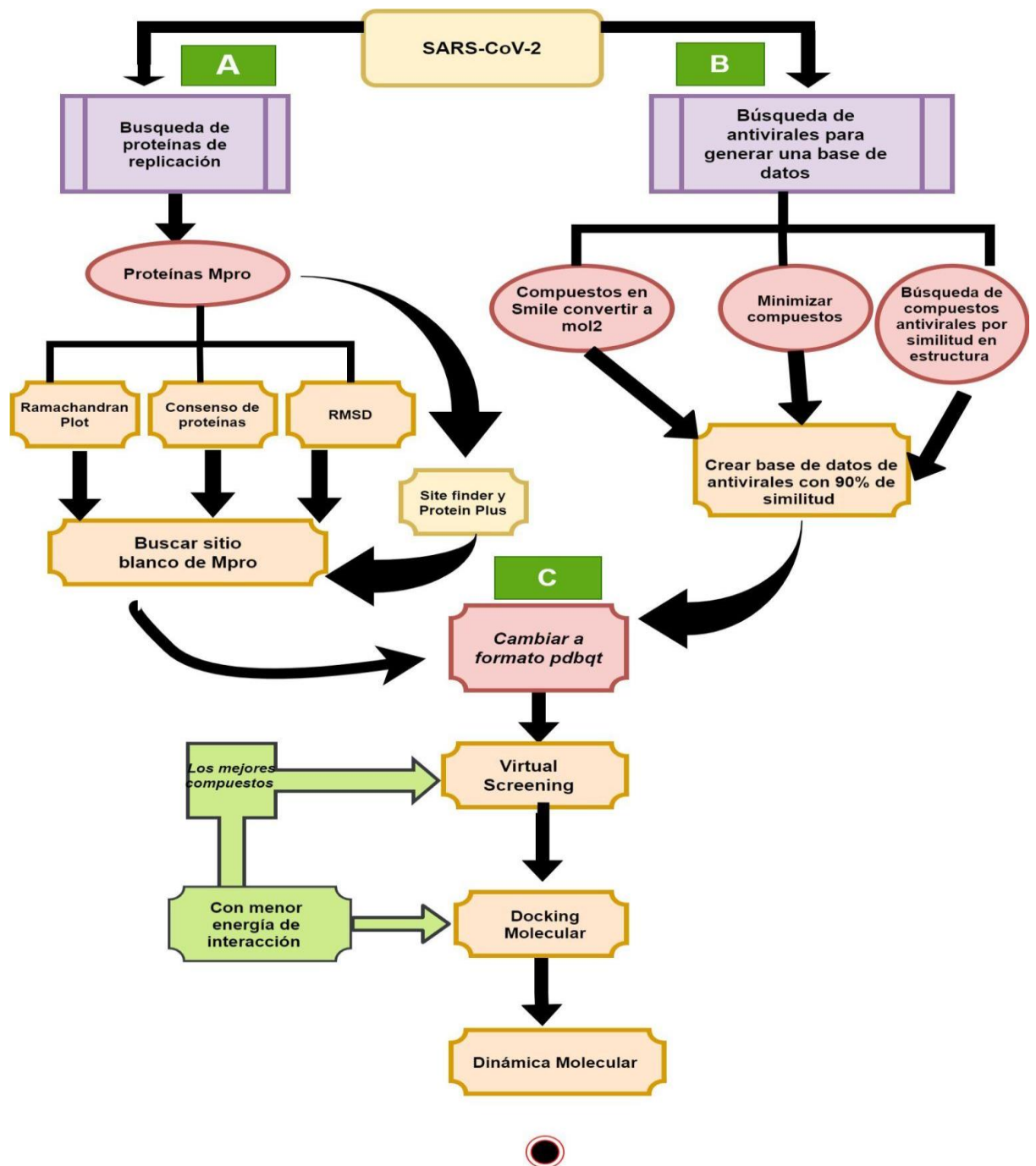


Fig 19.- Metodología experimental para la búsqueda conformacional de antivirales.

Una vez teniendo la metodología procedimos a experimentar, en el genoma viral se codifican más de 20 proteínas, entre la que se encuentra una proteasa importante.

#### 4.-RESULTADOS:

La 3CL-pro o Mpro, esta proteína es vital para la reproducción del virus, esta se considera como un objetivo farmacológico y los mismos aminoácidos de esta proteína están altamente conservados (Chen YW et al.,2020). Teniendo conocimiento de la proteína a utilizar, se realizó una búsqueda de estructuras cristalográficas de la proteasa del SARS-CoV-2, se encontraron varias estructuras en la base de datos PDB, en la siguiente tabla número 1 se observan las

proteínas, el código de cómo se encuentran en la base de datos y su porcentaje de similitud.

Proteína	Código PDB	% de Similitud
PanDDA analysis group deposition –Crystal structure of COVID-19 main protease in complex with z18197050	5R80	99.7
PanDDA analysis group deposition –Crystal structure of COVID-19 main protease in complex with Z1367324110	5R81	99.7
PanDDA analysis group deposition – Crystal Structure of COVID-19 main protease in complex with Z45617795	5R7Y	99.3
PanDDA analysis group deposition –Crystal structure of COVID-19 main protease in complex with Z44592329	5R83	99.7
PanDDA analysis group deposition –Crystal structure of COVID-19 main protease in complex with Z219104216	5R82	99.7
PanDDA analysis group deposition –Crystal structure of COVID-19 main protease in complex with Z31792168	5R84	99.7
The crystal structure of COVID-19 main protease in complex with an inhibitor N3	6LU7	99.7
The crystal structure of COVID-19 main protease in apo form	6M03	99.7
Crystal structure (momoclic form) of the complex resulting from the reaction between SARS-CoV-2 (2019-nCoV) main protease	6Y2F	99.7
Crystal structure (orthorhombic form) of the complex resulting from the reaction between SARS-CoV-2 (2019-nCoV) main protease and tert-butyl	6Y2G.A	99.7
Crystal structure (orthorhombic form) of the complex resulting from the reaction between SARS-CoV-2 (2019-nCoV) main protease and tert-butyl	6Y2G.B	99.0
SARS-CoV-2 main protease with unliganded active site	6Y84	99.7

Tabla 1.- Estructuras de proteasas del SARS-CoV-2 que hemos utilizado en el análisis de este proyecto.

Con estas proteínas lo primero que hicimos fue comparar sus estructuras de todas ellas, ya que podrían tener diferentes aminoácidos en estas estructuras, por lo que hicimos un consenso de proteínas con el programa MOE. Este es un consenso que es construido con el RMSD y dicta la estimación de estructuras similares entre los átomos equivalentes entre ellos, por lo que se hace una superposición óptima entre dos o más estructuras y entre ellas compararlas. En la figura 20 se puede observar a las estructuras de la Mpro proteasa superpuesta, donde se muestra de color verde los sitios de posible interacción.



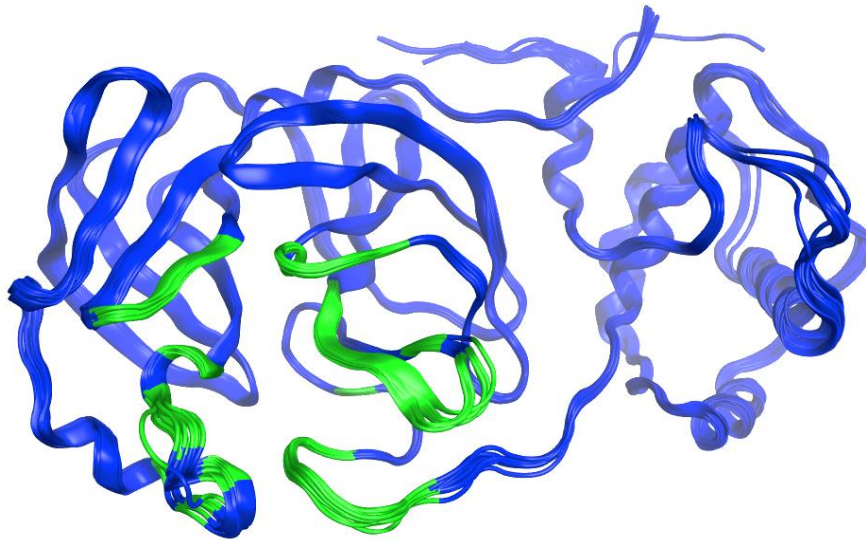


Fig 20.- Estructura del SARS-CoV-2 Mpro Proteasa, en color verde sitios posibles de interacción y en color azul el resto de la proteína. (imagen creada en *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2019.01).

En este caso fueron 14 estructuras del SARS-CoV-2 que se consideraron y al analizarlas se pueden observar si su estructura es estable o tiene modificaciones entre ellas. En su estructura guarda un 99 % de similitud con cada proteína en la figura 21, se puede observar una matriz de comparación en la similitud entre estas, donde hay un promedio de 98 a 99 % similitud, esta técnica nos dará áreas que tienen confianza.

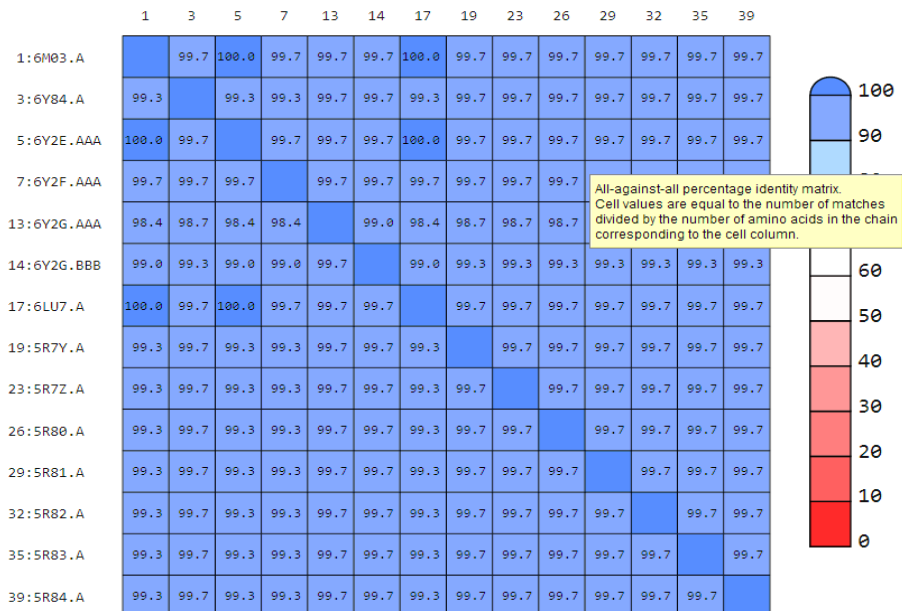


Fig 21.- Similitud de proteínas Mpro en donde 100 % es una proteína exacta sin cambio en sus residuos y 0 % en otra proteína sin nada de parentesco a la utilizada (imagen creada en *MOE*, 2019.01).

En la figura 22, se puede observar las estructuras del SARS-CoV-2 en superposición en una matriz de comparación geométrica. Ninguna proteína tiene alguna alteración a simple vista en la misma estructura, esto hace que sus regiones o áreas se mantengan estables y no cambien de proteína a proteína.

**RMSD = 0.555 Å**

	1	3	5	7	13	14	17	19	23	26	29	32	35	39	
1: 6M03.A	0.00	0.37	0.33	0.68	0.72	0.71	0.51	0.44	0.42	0.38	0.32	0.42	0.41	0.41	4.0
3: 6Y84.A	0.37	0.00	0.36	0.70	0.76	0.84	0.64	0.29	0.29	0.30	0.32	0.30	0.26	0.34	3.5
5: 6Y2E.AAA	0.33	0.36	0.00	0.71	0.78	0.85	0.56	0.46	0.44	0.41	0.35	0.44	0.43	0.40	3.0
7: 6Y2F.AAA	0.68	0.70	0.71	0.00	0.62	0.78	0.60	0.68	0.70	0.65	0.62	0.66	0.69	0.66	2.5
13: 6Y2G.AAA	0.72	0.76	0.78	0.62	0.00	0.79	0.72	0.73	0.76	0.74	0.70	0.73	0.76	0.77	2.0
14: 6Y2G.BBB	0.71	0.84	0.85	0.78	0.79	0.00	0.77	0.85	0.85	0.82	0.78	0.81	0.85	0.84	1.5
17: 6LU7.A	0.51	0.64	0.56	0.60	0.72	0.77	0.00	0.66	0.64	0.59	0.52	0.63	0.64	0.60	1.0
19: 5R7Y.A	0.44	0.29	0.46	0.68	0.73	0.85	0.66	0.00	0.16	0.23	0.29	0.15	0.16	0.32	0.5
23: 5R7Z.A	0.42	0.29	0.44	0.70	0.76	0.85	0.64	0.16	0.00	0.18	0.27	0.18	0.13	0.30	0.0
26: 5R80.A	0.38	0.30	0.41	0.65	0.74	0.82	0.59	0.23	0.18	0.00	0.20	0.21	0.21	0.23	
29: 5R81.A	0.32	0.32	0.35	0.62	0.70	0.78	0.52	0.29	0.27	0.20	0.00	0.27	0.28	0.22	
32: 5R82.A	0.42	0.30	0.44	0.66	0.73	0.81	0.63	0.15	0.18	0.21	0.27	0.00	0.18	0.30	
35: 5R83.A	0.41	0.26	0.43	0.69	0.76	0.85	0.64	0.16	0.13	0.21	0.28	0.18	0.00	0.30	
39: 5R84.A	0.41	0.34	0.40	0.66	0.77	0.84	0.60	0.32	0.30	0.23	0.22	0.30	0.30	0.00	

Fig 22.- Matriz de comparación geométrica entre las estructuras utilizan el RMSD de las estructuras Mpro del SARS-CoV-2 (imagen creada en *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2019.01).

Como ya se mencionó el RMSD es un valor que nos dicta una estimación de estructuras similares entre átomos equivalentes, donde nos describe la estructura tridimensional de una proteína que se está comparando entre otras y que tanta diferencia o igualdad tienen entre estas proteínas. Si el valor es mayor a 4.0 Å es un valor que indica mucha diferencia entre proteínas. Y un valor menor a 2.0 Å es un valor favorable, esto quiere decir que la proteína que se quiere comparar o se están comparando son estructuras similares o iguales. En este análisis de proteínas de las proteasas del SARS-CoV-2 son similares no iguales, debido a que el RMSD es igual a 0.540 Å. Esto indica que las proteínas del SARS-CoV-2 tienen pocas o casi nulas modificaciones entre aminoácidos.

Para seguir la validación de las proteínas, también se utilizó el Ramachandran, en la figura 23 se pueden observar la estabilidad tridimensional de las proteínas de la Mpro. Como recordarán las proteínas están conformadas de alfa hélices y hojas plegadas beta, estas son estructuras secundarias de las cuales están hechas las proteínas y el diagrama de Ramachandran. Esto permite aproximar cuál será su estructura secundaria de las proteínas y al poder saber cuáles son las combinaciones de los ángulos normales y atípicos de estas mismas proteínas, sabremos averiguar la geometría de su esqueleto proteico, esta técnica nos ayuda para la verificar la estructura de las proteínas.

Se tienen distintos puntos de colores estos son de color verde, amarillo y rojos. Los puntos de color verde quieren representar que los aminoácidos que están en esta zona están

correctos y estos dan una estructura tridimensional aceptable. Los siguientes puntos son de color amarillo estos son aminoácidos que están en zonas permitidas de la proteína y por último las cruces de color rojo, estas son aminoácidos que tiene un ángulo incorrecto de la proteína haciendo que pueda generar conformaciones tridimensionales indebidas. Estas cruces se llaman OUTLIERS o valores atípicos, en nuestra proteína representan un 0.98 % de errores con 3 aminoácidos con valores atípicos de un total de 306 aminoácidos totales en cada proteína del SARS-CoV-2, por lo que no es comprometida la estabilidad tridimensional de la estructura.

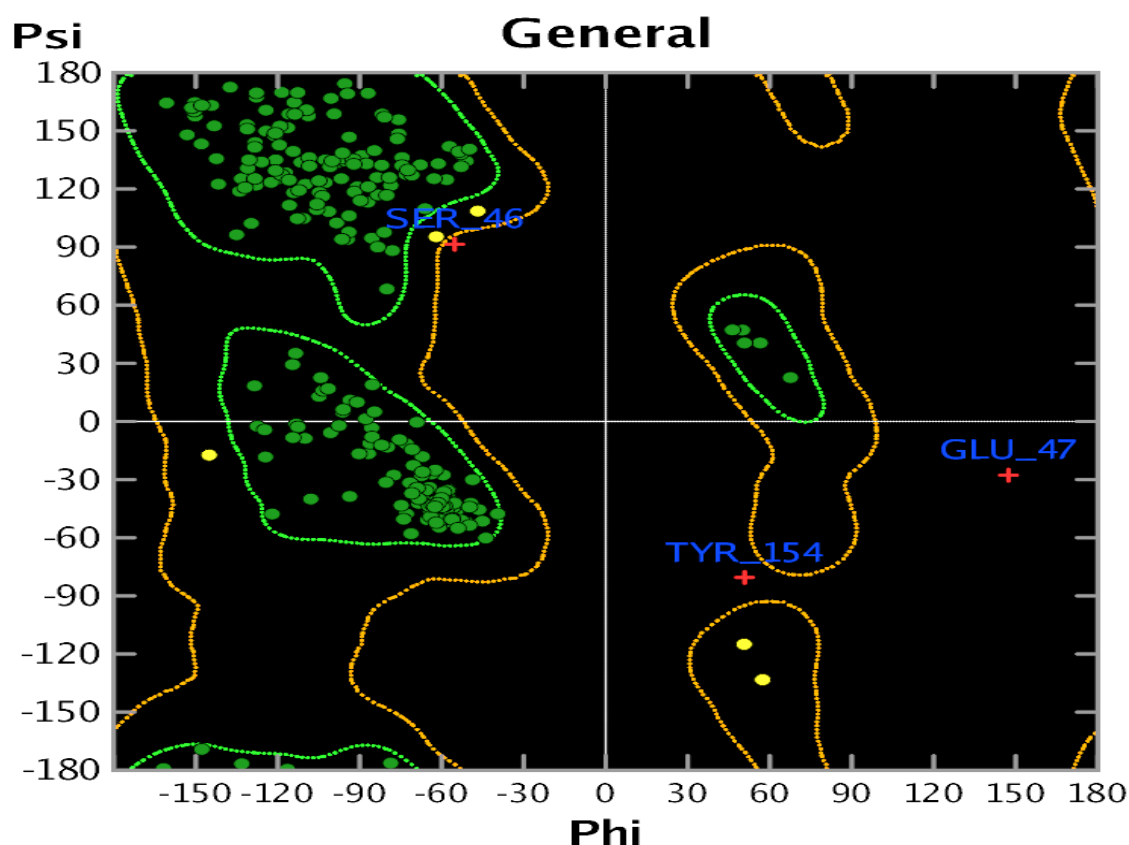


Fig 23.- Diagrama de ramachandran de las proteínas Mpro del SARS-CoV-2 (imagen creada en *Molecular Operating Environment (MOE)*, 2019.01).

La siguiente parte del estudio es buscar un sitio activo donde podemos trabajar, se realizó la búsqueda de ligandos o fármacos que puedan funcionar como antivirales. Para esto utilizamos dos técnicas de buscar sitios específicos para ligando o blancos farmacológicos, la primera es **SITE FINDER**. Es un módulo en el programa MOE, donde calcula posibles sitios de reconocimiento en un receptor a partir de coordenadas atómicas tridimensionales. Este cálculo es útil para experimentos que están dirigidos para ayudar a determinar sitios potenciales para los cálculos de acoplamiento de unión de ligando. Tiene varias funciones de las que nos pueden ayudar, una de ellas es identificar regiones de empaquetamiento atómico estrecho, filtra los sitios que están demasiado expuestos al solvente, clasifica los sitios como hidrófobos e hidrófilos. Por lo que separa sitios de agua de los sitios hidrófobos más probables, calcula y colecciona las esferas alfa de las cuales elimina aquella que

corresponden a regiones inaccesibles del receptor, así como aquellas que están demasiado expuestas al solvente. Estas esferas son clasificadas como esferas hidrofóbicas de color gris y esferas hidrofílicas de color rojo. (MOE, 2019.01) en la figura 24 se muestra la proteína del SARS-CoV-2 y sus sitios con mayor interacción con los ligandos.

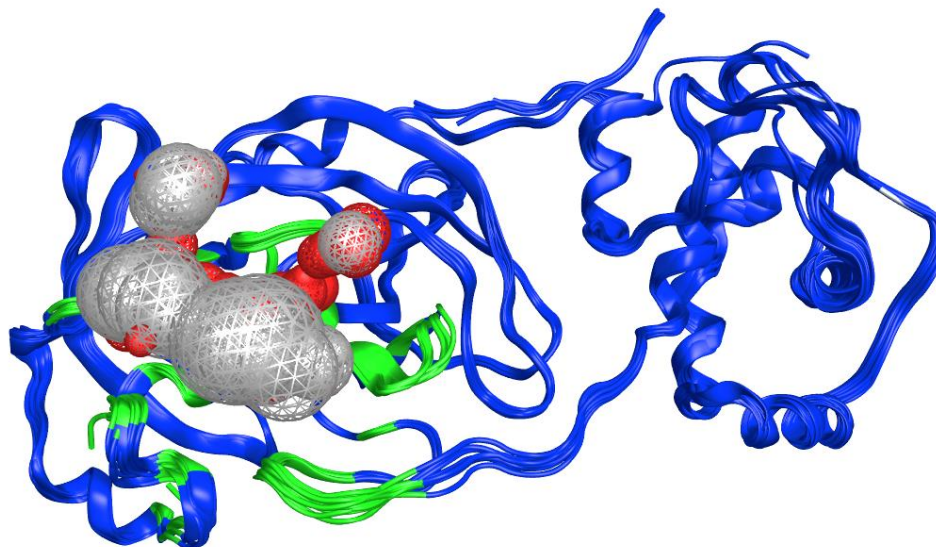


Fig 24.- Sitefinder de los posibles lugares de interacción de los ligandos (imagen generada en MOE, 2019.01).

En la tabla 2 se muestran los aminoácidos que pueden estar en contacto con el acoplamiento de los ligandos. Se señalaron dos aminoácidos importantes que en la literatura muestran una diada catalítica (Mengist Hylemariam M et al., 2021) haciendo que estos aminoácidos y los demás sean tomados en cuenta para las siguientes fases de la experimentación.

#### Aminoácidos encontrados con la técnica de *Sitefinder*

THR24, THR25, THR26, LEU27, **HIS41**, SER46, MET49, TYR118, ASN119, PHE140, LEU141, ASN142, GLY143, SER144, **CYS145**, HIS163, HIS164, MET165, GLU166, LEU167, PRO168, HIS172, GLN189

Tabla.-2 Aminoácidos con posible interacción con los antivirales encontrados con la técnica de *Sitefinder*.

Y la segunda herramienta para poder encontrar el sitio específico o blanco relevante de las proteínas es *Protein Plus*. Una plataforma online gratuita que pertenece a la universidad Hamburgo. Esta plataforma es un servidor de soporte para el modelado basado en estructura. Este servidor se centra en las interacciones proteína-ligando del cual proporciona soporte para los pasos iniciales cuando se trata de estructuras de proteínas. Entre sus usos es

predecir protonaciones y tautomerización, genera códigos SMILES para moléculas pequeñas en archivos PDB, clasifica tipo de interacciones de complejos proteína-proteína, predice los sitios de unión y estima su druggability o la farmacibilidad, entre otras herramientas (Volkamer, A et al., 2012).

La técnica que utilizamos dentro del servidor es la predicción de los sitios de unión y la estimación del druggability. Este término es utilizado en el descubrimiento de los fármacos para descubrir un objetivo biológico que es una proteína. Está se puede predecir con una afinidad a un fármaco. La función se llama *DoGSiteScore* para detección de sitios de unión, este es un método basado en la búsqueda de posibles pockets o bolsillos de unión, estos basándose únicamente en la estructura tridimensional de la proteína, calcula las propiedades globales, el tamaño, forma y sus características del pocket. De forma predeterminada, proporciona una puntuación del druggability para cada pocket que se pueda generar, basada en una combinación de tres descriptores que describen el volumen, la hidrofobicidad y área. En cuanto sea más alto el puntaje, se estima que es más druggable el pocket (Volkamer, A et al., 2012).

Se utilizaron las proteínas para obtener el *DoGSiteScore* y tener tres datos importantes de este método para escoger la proteína que se utilizará para los demás procesos del análisis. Para poder definir el Druggability se debe contar con valores que puedan ser aceptables, estos valores están de 0.5 a 1.0, en donde los valores cercanos a 1 o igual a 1 son considerados con potenciales sitios drugables para los pockets (Michel, M et al., 2019). si observamos la tabla 3 podemos ver el volumen, la superficie y el DrugScore, entre estos tres valores podemos elegir a la proteína indicada, para llevar a la siguiente parte experimental de esta técnica. Por cada proteína se obtuvieron un aproximado de 7 a 9 pockets de los cuales se escogieron con los mejores valores de DrugScore y sobre esto se compararon entre sí, teniendo como proteína elegida a la 5R80. Al observar las demás proteínas, la 5R80 sobrepasa estos 3 parámetros descritos, teniendo un volumen de 802.43 Å<sup>3</sup> y su superficie es de 903.46 Å<sup>2</sup> y su druggability es de 0.85. La superficie, el volumen y DrugScore son mayores a comparación con las otras proteínas y consideramos que la proteína 5R80 es la proteína con mejor druggability.

Proteína	Volumen Å <sup>3</sup>	Superficie Å <sup>2</sup>	Drug Score (Druggability)
<b>5R80</b>	<b>802.43</b>	<b>903.46</b>	<b>0.85</b>
5R81	623.55	648.25	0.71
5R7Y	618.69	718.99	0.77
5R83	632.83	701.32	0.77
5R7Z	623.89	669.87	0.78
5R82	628.54	764.97	0.72
5R84	588.1	717.52	0.74
6LU7	398.59	629.05	0.73
6M03	535.87	747.87	0.78
6Y2F	600.64	672.26	0.7
6Y2GA	772.29	756.12	0.80



6Y2GB	660.16	670.12	0.73
6Y8E	589.38	775.76	0.79
6YB7	529.98	682.3	0.76

Tabla 3.- Valores de DoGSiteScore de las proteínas Mpro señalando a la proteína 5r80.

En la Figura 25, se muestra el sitio de la proteína 5R80 con mejor DrugScore, y también se revisó qué aminoácidos están dentro del pocket en la tabla 4 se muestran los residuos.

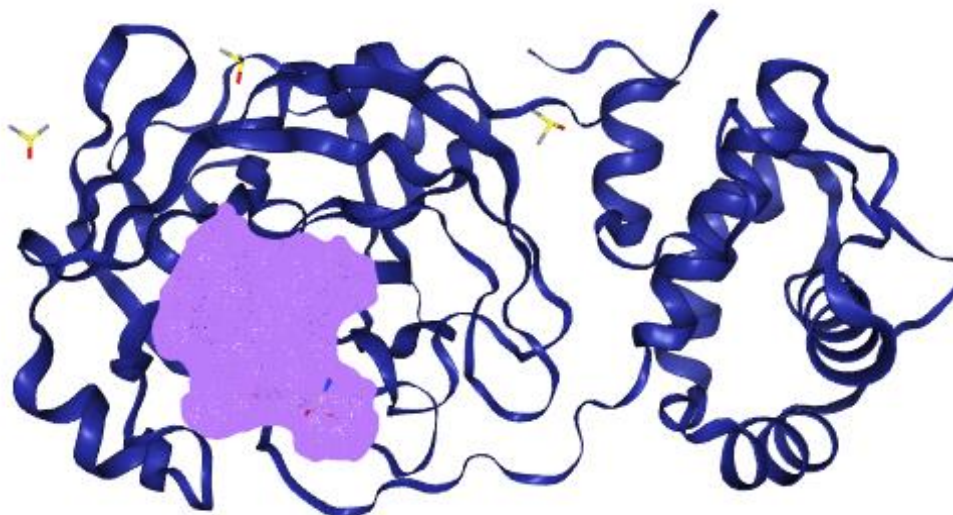


Fig 25.- En morado se representa el sitio con una interacción favorable en la Mpro 5R80. Cálculo realizado por el servidor online "Protein Plus".

#### Aminoácidos encontrados en el pocket con mejor DrugScore de la proteína 5R80

THR26, LEU27, **HIS41**, SER46, MET49, TYR118, ASN119, PHE140, LEU141, ASN142, GLY143, SER144, **CYS145**, HIS163, HIS164, MET165, GLU166, LEU167, PRO168, HIS172, GLN189

Tabla 4.- Aminoácidos que están en el pocket de la proteína 5R80

Lo que se notó en la tabla 4 es que se muestran los mismo o parte de los aminoácidos. También observado en la técnica de Sitefinder, tienen una similitud en el pocket por lo que este sitio puede ser el indicado para las interacciones con los ligandos que utilizaremos para el acoplamiento molecular. Las proteínas que se obtuvieron tienen algún ligando del cual ya vienen cristalizadas junto con estas mismas, en ellas pudimos notar que tienen algunas

interacciones importantes dentro de la proteína y dentro del supuesto pocket. Por lo que a continuación presentaremos una tabla con los ligandos de los cuales podrían ser importantes para nuestro estudio. Estos residuos mostrados en la tabla 5 y en la figura 26 pueden ser parte importante para los procesos de acoplamiento molecular, ya que pueden mostrar los aminoácidos con una supuesta interacción con los ligandos que vamos a probar. En la literatura se ha encontrado que algunos de los aminoácidos de la Mpro mostrados anteriormente son importantes, estos son los residuos de Histidina (His) 41 y Cisteína (Cys) 145. Estos son parte de una díada catalítica, estos dos aminoácidos pueden tener una inhibición en la proteína haciendo que esta no pueda replicarse y teniendo estos dos residuos, pueden ser una parte importante y crucial, para el diseño de potentes inhibidores (Mengist Hylemariam M et al., 2021).

Mpro Proteínas con Ligandos	Aminoácidos con mayor presencia con los ligandos
5R7Z, 6Y26, 6Y26, 5R80, 6YB7, 5R81, 6LU7, 5R82, 5R83 y 6YSF	<b>His 41, Cys 145,</b> His 163, Glu 166, Met 49, His 164, Met 165, Gln 189 y Thr 190.

Tabla 5.- Aminoácidos con una interacción con los ligandos pertenecientes a las proteínas.

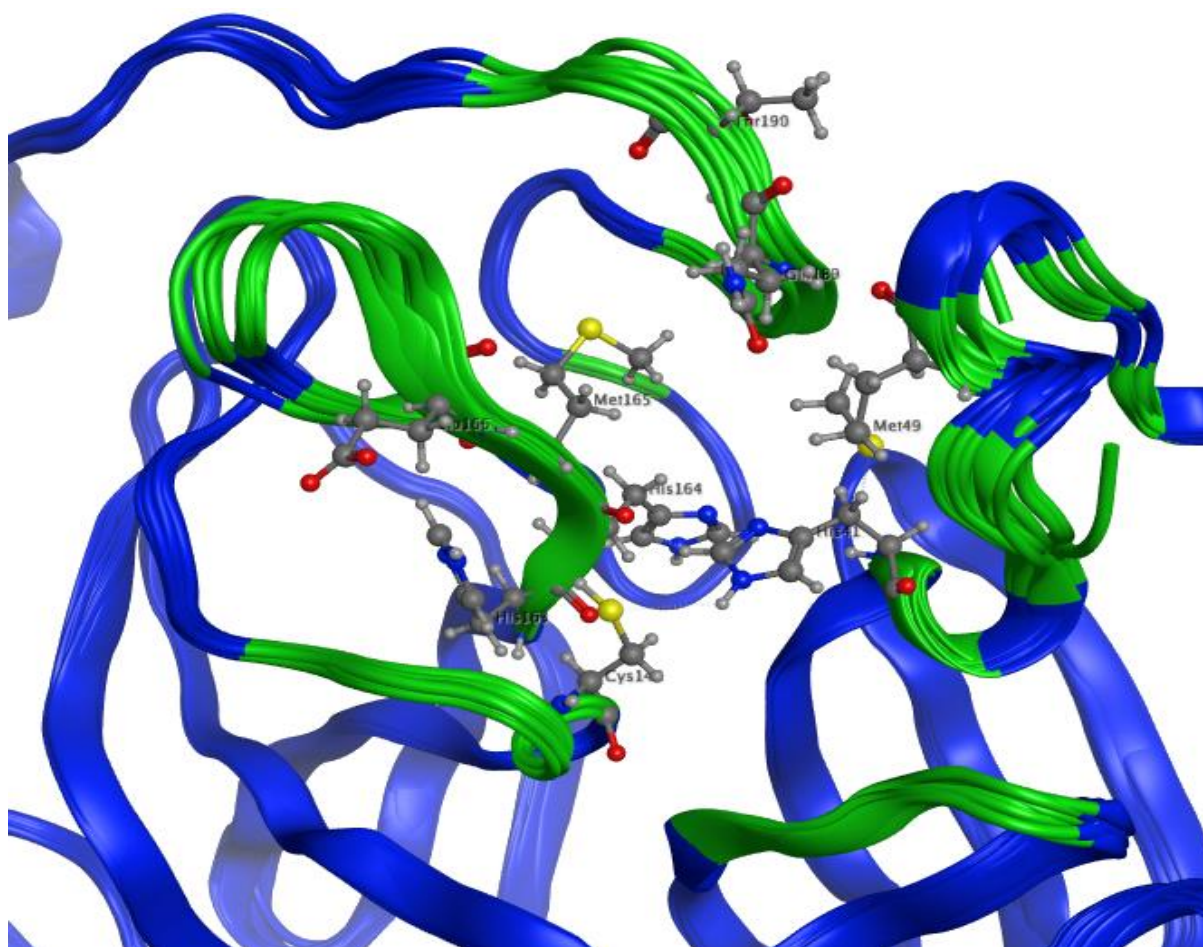


Fig 26.- Aminoácidos pertenecientes a la Mpro que tienen interacción con los ligandos

Estos dos aminoácidos que están presentes en las interacciones con los ligandos, también se muestran en los análisis que se realizaron de Sitefinder y Protein plus. Así podemos decir que el sitio importante para la interacción y búsqueda de nuevos inhibidores, están cerca de estos dos aminoácidos His 41 y Cys 145 (Mengist Hylemariam M et al., 2021 ).

Ahora teniendo la proteína y los aminoácidos importantes para la interacción se hizo la búsqueda de antivirales comerciales que puedan actuar como inhibidores de la proteasa del SARS-CoV-2. Por lo que se realizó la búsqueda molecular con el cálculo de Tanimoto, en el que se busca unas huellas digitales moleculares en la que representan a las moléculas por medio de fragmentos o subestructuras (Prieto-Martinez, F.D et al.,2018). Lo cual permite encontrar dos o más moléculas parecidas a las que puedes tener como referencia. Con esto se encontrará varios fármacos que tienen una similitud aproximada y de los cuales ya han sido aprobados para su uso terapéutico. A esto se le conoce como reposicionamiento.

Posteriormente se realizó una búsqueda de antivirales que tienen efecto sobre otros virus y sobre estos se les hizo el cálculo de Tanimoto buscando un porcentaje de similitud del 90 %. En la tabla 6 se pueden observar los antivirales y el número de compuesto que se encontraron.

<b>Antiviral</b>	<b>Número de compuestos</b>	<b>Antiviral</b>	<b>Número de compuestos</b>
11r	83	Umifenovir	193
X77	174	Lopinavir	101
Tipranavir	26	Nefamostat	168
Withanolide A	19	Nelfinavir	16
Vaniprevir	2	Remdesivir	3
Ritonavir	61	Boceprevir	77
Saquinavir	56	Bromhexine	305
Simeprevir	2	Camostat	554
ASC09	4	Chrysphanol 8-(6-galloylglucoside)	16
Baicalin	276	Cyanidin 3-glucoside	56
Darunavir	62	Gc376	155



Isocardocarpine	110	Triazavirin	33
Iso-mulbel-rochromene	13	<b>Total de compuestos</b>	<b>2,565</b>

Tabla 6.- Antivirales y números de compuestos con similitud de por lo menos un 90%

Los antivirales observados en la tabla 6, son moléculas que han sido propuestas en la literatura y estas proponen tener un efecto en la proteasa del SARS-CoV-2. La función de los antivirales son las siguientes: Tipranavir, Ritonavir, Saquinavir, ASC-09, 11r, Darunavir, Lopinavir, Nelfinavir, son antivirales utilizados para el tratamiento del virus de inmunodeficiencia humana (HIV); Vaniprevir, Simeprevir, Remdesivir, Boceprevir son inhibidores de la proteasa del virus de hepatitis C; Baicalin produce la apoptosis en las células del cáncer de páncreas; Isocardocarpine utilizado como tratamiento de glaucoma y otras enfermedades de los ojos; Umifenovir, Nafamostat, Camostat, Triazavirin antivirales utilizados para el tratamiento de influenza; Bromhexina utilizado para el tratamiento de enfermedades del tracto respiratorio como tos, congestión del pecho y limpieza de mucosa; Chrysphanol 8-(6-galloylglucoside) utilizado para actividades anticancerígenas, hepatoprotectoras, antiinflamatorias y antimicrobianas; Cyanidin 3-glucoside utilizado para actividades antiinflamatorias, anticancerígenas, antitumorales y antimutagénicas; GC736 utilizado para inhibir el virus de la peritonitis infecciosa felina, Withanolide su uso es para tratamiento de asma, constipaciones, glaucoma e inflamación, X77 inhibidor de la proteasa 3CL-pro (Fu, Lifeng et al., 2020; Alamri, Mubarak A et al., 2020; Kushagra Dubey et al., 2020).

Una vez realizada la técnica de Tanimoto se obtuvieron 2565 moléculas de las cuales se utilizarán para generar una base de datos de antivirales con posible función sobre el virus. Ahora teniendo los antivirales y la proteína, procedimos a la filtración de compuestos por el método de virtual screening, por lo que utilizamos tres programas para la ayuda de esta técnica. El primero es Autodock-tools en el cual utilizamos la proteína 5r80 y se agregaron los hidrógenos polares, se utilizaron en este proceso las cargas de Kollman para los valores de cada aminoácido que fueron derivados desde un correspondiente potencial electrostático. También se generó la caja de interacción o *grid*, en el cual son las condiciones y zonas en la que los ligandos van a poder interaccionar y los parámetros del cuadro del grid, se ajustaron a un tamaño de 25.500 Å x 28.05 Å x 25.50 Å (x, y, z) y al centro 9.59 Å x -9.89 Å x 20.67 Å (x, y, z). Estas coordenadas están basadas en la zona del pocket del cual ya se mencionó anteriormente en la figura 27 se muestra el grid de interacción para el virtual screening.

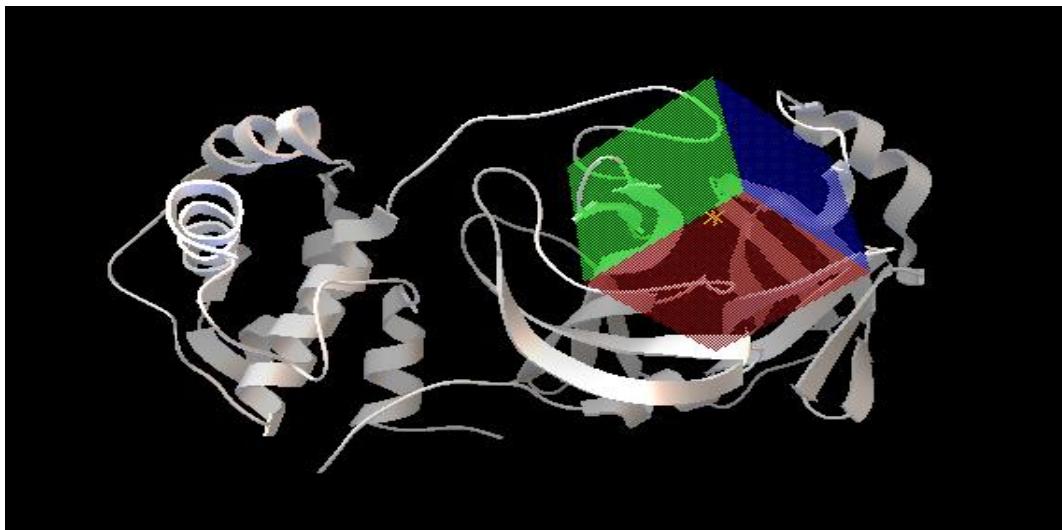


Fig 27.- Grid de la proteína 5r80 del SARS-CoV-2 en el cual se presenta la zona en la que se llevará a cabo la interacción de los ligandos.

Una vez teniendo el receptor listo, utilizamos un programa llamado PyRx este es un software que sirve para realizar virtual screening y también sirve para convertir moléculas de cualquier formato a formato pdbqt. Este es necesario para este estudio, por ejemplo, se transformaron 2,565 moléculas de mol2 a pdbqt, en la figura 28 se muestra el proceso que se realizará en el virtual screening, en el cual como primer paso sería tener las 2,565 moléculas convertidas en pdbqt y listas para poder hacer el virtual screening.

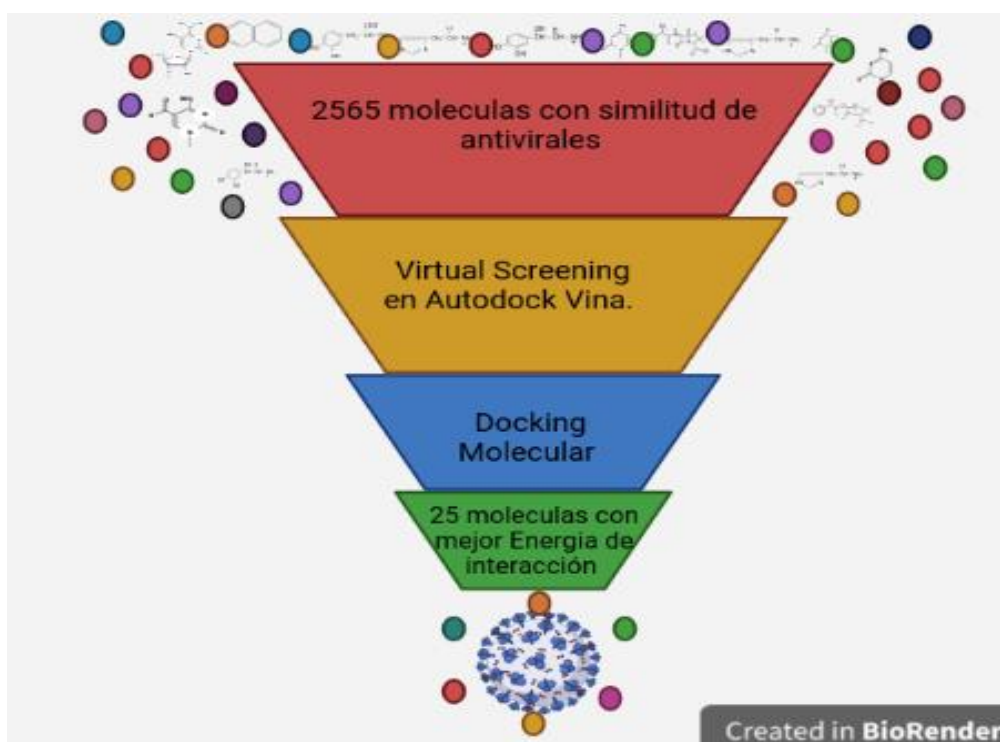


Fig 28.- Proceso de virtual screening para la selección de candidatos para SARS-CoV-2 Mpro.( Imagen generada en Biorender.com)

En el segundo y tercer paso sería utilizar el receptor y los ligandos obtenidos, estos se someterán al software Autodock Vina. Este programa ayuda a mejorar significativamente la precisión promedio de las predicciones, lo que hace es un docking molecular y de este puede otorgar energías de interacción, estas energías pueden ser un filtro para poder obtener los mejores compuestos de la base de datos total.

Teniendo todo listo, se realizó el proceso del Virtual Screening y como último paso es procesar a las 2,565 moléculas, el parámetro que será importante para filtrar la base de datos es una molécula de referencia que tenga interacción en el pocket. Debido a que se utilizó la proteína del SARS-CoV-2 Mpro llamada 5R80, ésta tiene un ligando interaccionando. Este es llamado 4-sulfamoiibenzoato de metilo o RZG. Este ligando ha demostrado tener interacción con His 41 y Cys 145. Por esta razón utilizamos este ligando como referencia (Douangamath, A *et al.* 2020). El ligando RZG tiene una energía de interacción otorgada por Autodock Vina de -2.3 Kcal/mol. Esta es la energía de interacción es de referencia, para que los compuestos antivirales puedan tener una interacción sobre el pocket, debe ser menor a -2.3 Kcal/mol. En la figura 29 se observa el ligando de referencia RZG.

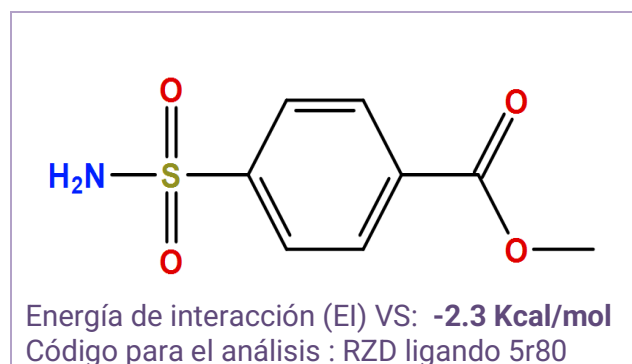
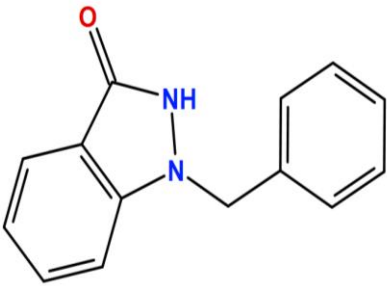
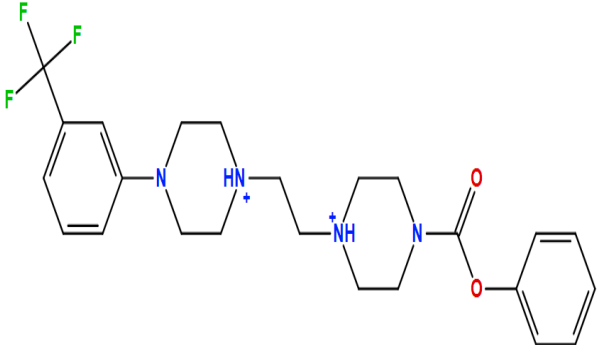
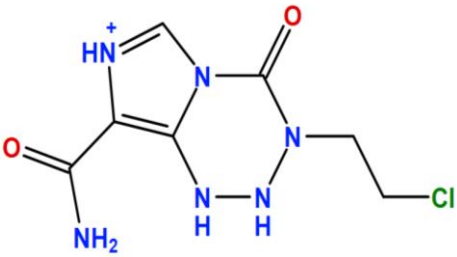
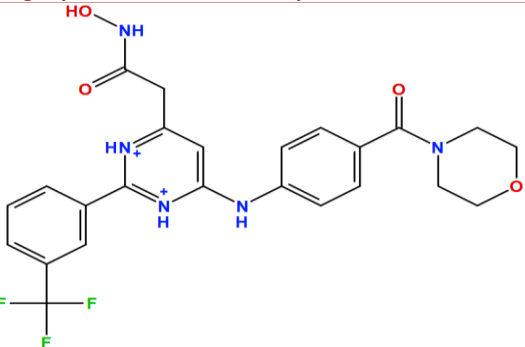
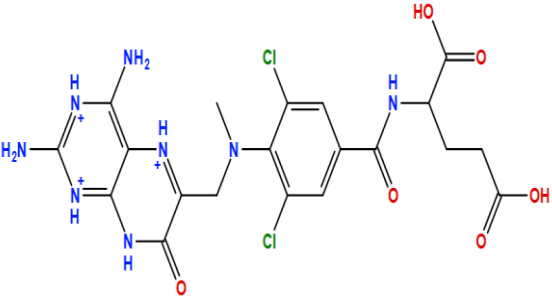
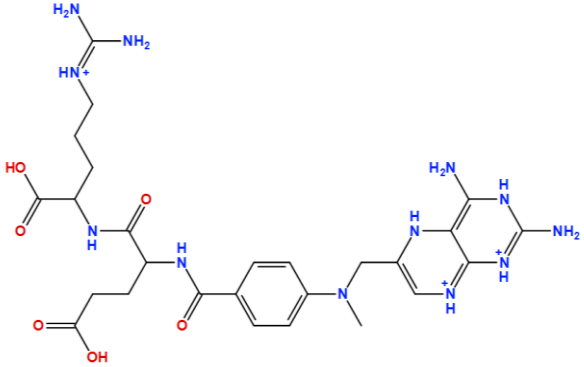
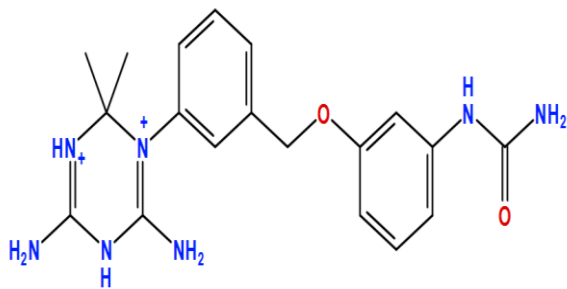


Fig 29. Ligando de referencia llamado RZG

Ahora teniendo de referencia la energía que es necesaria para tener una interacción sobre la Mpro. Se filtraron las 2,565 moléculas, de estas solo se obtuvieron 25 compuestos una por cada carpeta de antivirales con energía de interacción mayor a la referencia. En la siguiente tabla 7 se muestran los 25 ligandos obtenidos por el virtual screening. Se les otorgó un nombre para la identificación. Esto es para facilidad de proceso de los compuestos obtenidos. Su nombre es MproL seguido del número correspondiente al ligando encontrado.

Estructura	Estructura
 <p><b>Name:</b>  Carpeta antiviral: Nefalnavir  Energía de interacción (EI) VS: -5.6  Código para el análisis: MproL1</p>	 <p><b>Name:</b> Phenyl 4-[2-[4-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazinyl]ethyl]-1-piperazinecarboxylate  carpeta antiviral: Darunavir  Energía de interacción en Virtual Screening:-6.2  Código para el análisis: MproL2</p>
 <p><b>Name:</b> 3-(2-Chloroethyl)-1,2,3,4-tetrahydro-4-oxoimidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazine-8-carboxamide  Carpeta: Trizavirin  Energía de interacción (EI) VS: -5.1  Código para el análisis: MproL3</p>	 <p><b>Name:</b> N-Hydroxy-6-[[4-(4-morpholinylcarbonyl)phenyl]amino]-2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-pyrimidineacetamide  Carpeta : X77 antiviral  Energía de interacción (EI) VS: -7.5  Código para el análisis: MproL4</p>
 <p><b>Name:</b> Glutamic acid, N-[3,5-dichloro-4-[[2-(2,4-diamino-7-hydroxy-6-pteridinyl)methyl]methylamino]benzoyl]- (7Cl,8Cl)  Carpeta: Isocodocarpine  Energía de interacción (EI) VS: -7.2  Código para el análisis : MproL5</p>	 <p><b>Name:</b> L-Arginine, N<sup>2</sup>-[N-4-[[2-(2,4-diamino-6-pteridinyl)methyl]methylamino]benzoyl]-L-α-glutamy]- (9Cl)  Carpeta: 11r  Energía de interacción (EI) VS:-7.8  Código para el análisis : MproL6</p>

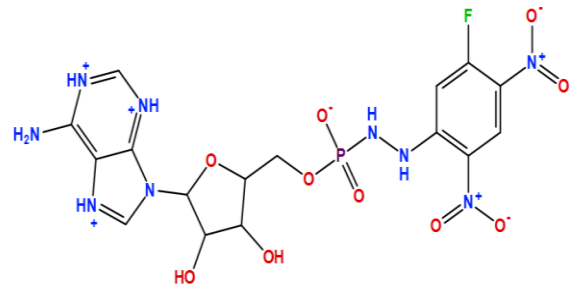


**Name:** Urea, [3-[[3-(4,6-diamino-2,2-dimethyl-1,3,5-triazin-1(2H)-yl)phenyl]methoxy]phenyl]- (9Cl)

**Carpeta:** Camostat

**Energía de interacción (EI) VS:** -7.4

**Código para el análisis :** MproL7

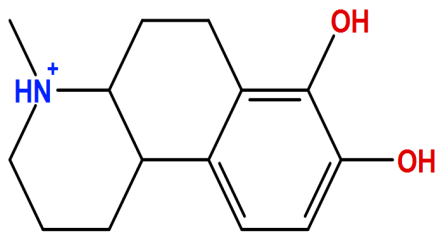


**Name:** Adenosine, 5'-[hydrogen 2-(5-fluoro-2,4-dinitrophenyl)phosphorohydrazidate] (9Cl)

**Carpeta:** Baicalin

**Energía de interacción (EI) VS:** -7.0

**Código para el análisis :** MproL8

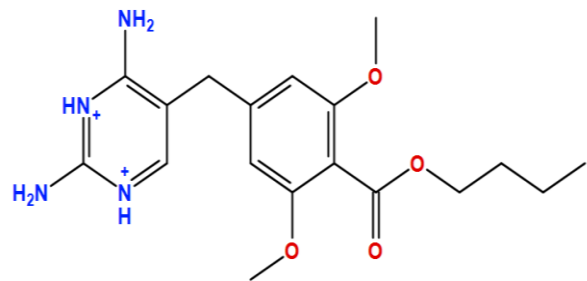


**Name:** Benzo[f]quinoline-7,8-diol, 1,2,3,4,4a,5,6,10b-octahydro-4-methyl-, *trans*- (9Cl)

**Carpeta:** Brohexine

**Energía de interacción (EI) VS:** -5.7

**Código para el análisis :** MproL9

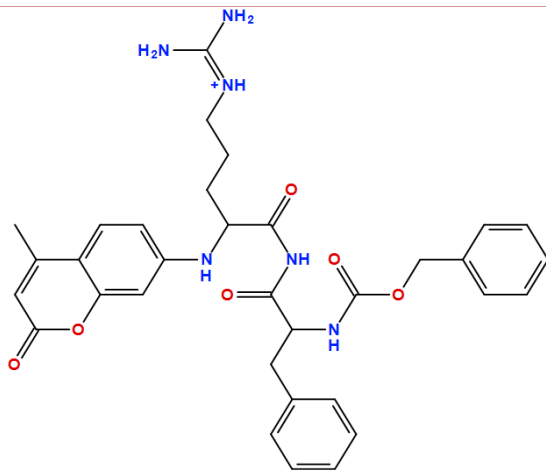


**Name:** Benzoic acid, 4(2,4-diamino-5-pyrimidinyl)methyl]-2,6-dimethoxy-, butyl ester

**Carpeta:** Umifenovir

**Energía de interacción (EI) VS:** -6.3

**Código para el análisis :** MproL10

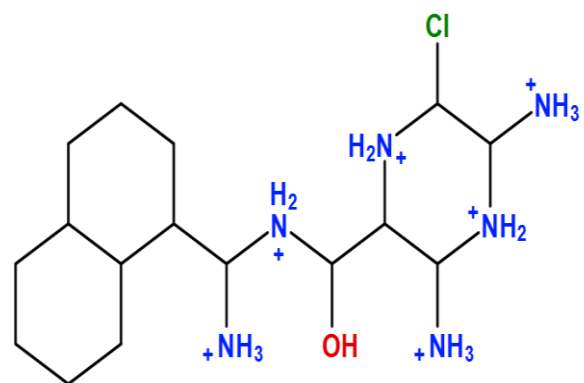


**Name:** Z-Phe-Arg-AMC

**Carpeta:** Tipranavir

**Energía de interacción (EI) VS:** -6.7

**Código para el análisis:** MproL11

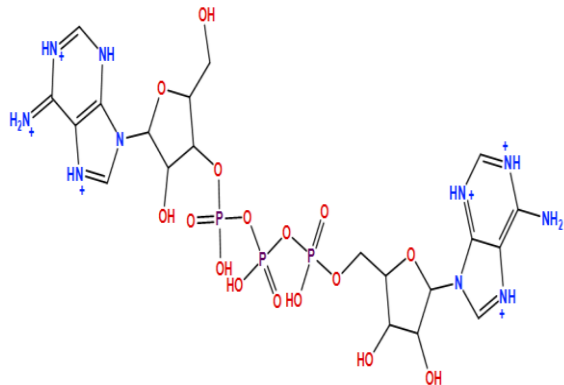


**Name:** NFE

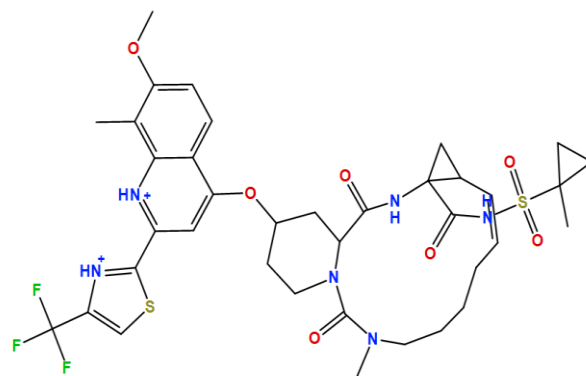
**Carpeta:** Nefamostat

**Energía de interacción (EI) VS:** -6.8

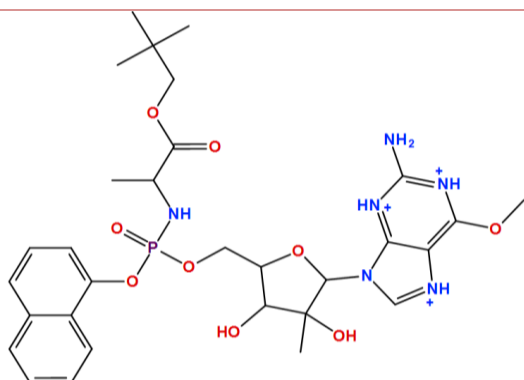
**Código para el análisis:** MproL12



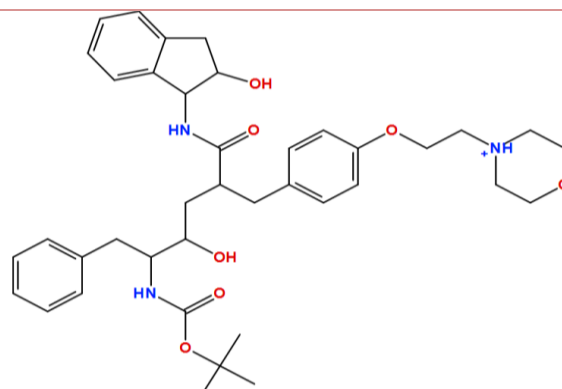
Name: Diadenosine\_triphosphate  
 Carpeta: Saquinavir  
 Energía de interacción (EI) VS: -7.4  
 Código para el análisis: MproL13



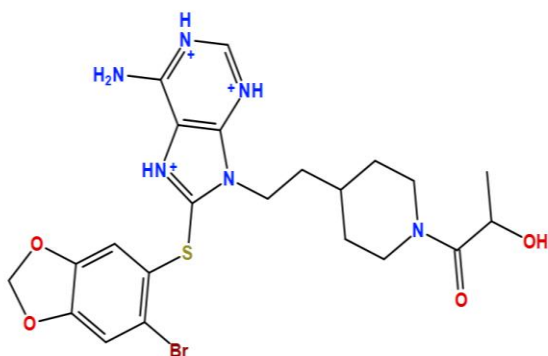
Name: IDX\_320  
 Carpeta: Simeprevir  
 Energía de interacción (EI) VS: -5.6  
 Código para el análisis : MproL14



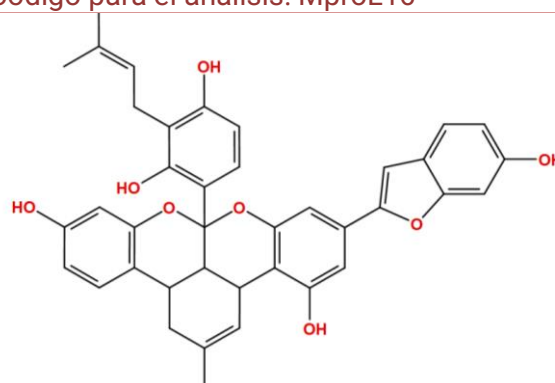
Name: INX\_08189  
 Carpeta: Remdesivir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.6  
 Código para el análisis: MproL15



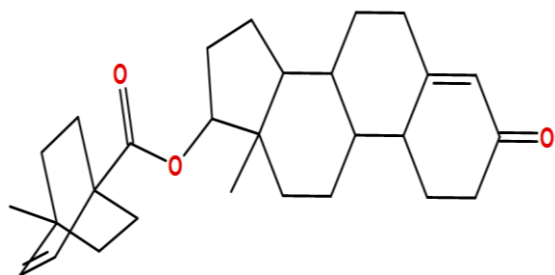
Name: L\_689502  
 Carpeta: Lopinavir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.8  
 Código para el análisis: MproL16



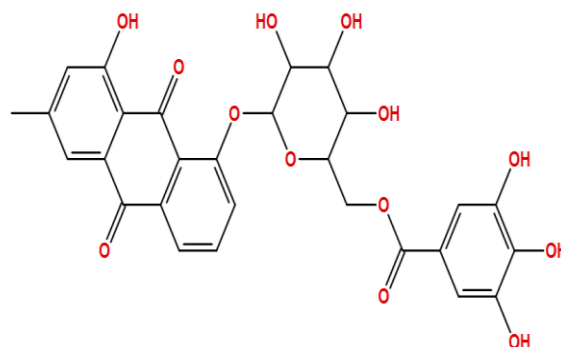
Name: MPC-3100  
 Carpeta: Cyanidin  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.4  
 Código para el análisis: MproL17



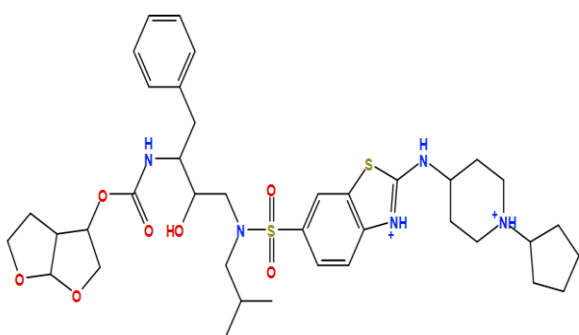
Name: Mulberrofuran\_F  
 Carpeta: Isomultibri  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.4  
 Código para el análisis: MproL18



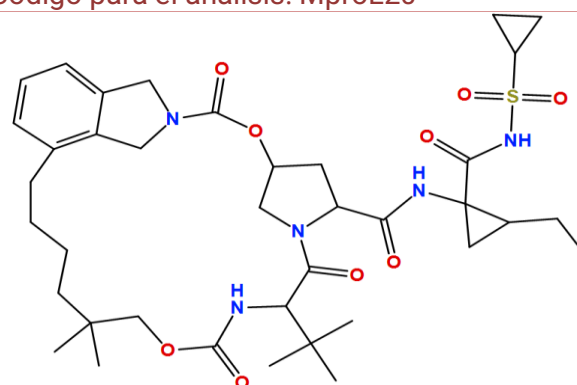
Name: Nandrolone\_cyclotate  
 Carpeta: Withalolide  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.1  
 Código para el análisis: MproL19



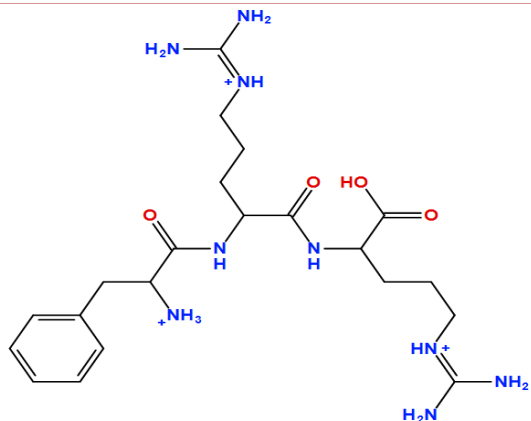
Name: glucopyranosyl[oxy]-9,10-anthracenedione  
 Carpeta: Chysophano  
 Energía de interacción (EI) VS: -7.9  
 Código para el análisis: MproL20



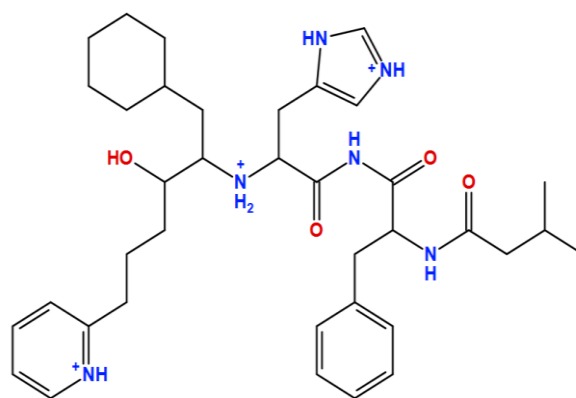
Name: TMC 310911  
 Carpeta: Asc09  
 Energía de interacción (EI) VS: -8.1  
 Código para el análisis: MproL21



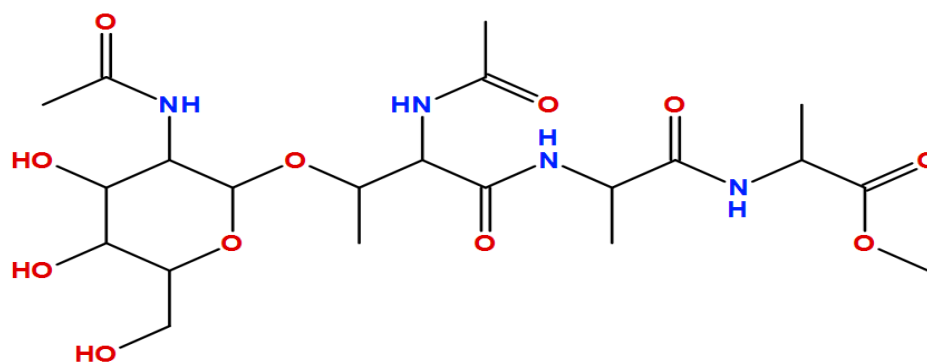
Name: Cyclopropanecarboxamide  
 Carpeta: Vaniprevir  
 Energía de interacción (EI) VS: -5.5  
 Código para el análisis: MproL22



Name: Phenylalanylarginylarginine  
 Carpeta: Gc376  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.8  
 Código para el análisis: MproL23



Name: S\_863390  
 Carpeta: Ritonavir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.7  
 Código para el análisis : MproL24



Name: L-Alanine  
 Carpeta: Boceprevir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.1  
 Código para el análisis : MproL25

Tabla 7.- Ligando con mejor interacción con Mpro del SARS-CoV-2

Ahora teniendo las 25 moléculas que se muestran en la tabla anterior, el siguiente paso es realizar un docking molecular con el software MOE. En el cual en este docking se someterán a 100 conformaciones a cada una y de estas nos darán 50 de las mejores conformaciones con energía de afinidad. Se hará un clúster éste es una agrupación de los ligandos. Es decir, que buscamos la exactitud en la que las conformaciones, pueden estar en el pocket haciendo que busquemos el ligando real del ligando ideal y se obtendrá una energía de interacción para cada molécula dependiendo de sus conformaciones. También este tipo de docking, proporcionará unas gráficas denominadas PLIF o *Protein-Ligand Interaction Fingerprints*. Estas gráficas muestran cual es la interacción en porcentaje tienen los ligandos con los aminoácidos del pocket (MOE, 2019.01) y esta parte del proceso será un filtro más para obtener un compuesto candidato.

Las condiciones de refinamiento en las que se hizo el docking molecular en MOE fueron de alfa triangle. Este es llamado así por generar superposiciones de tripletes de átomos del ligando y tripletes de sitios en el receptor. Se mantuvo el receptor rígido esto es para poder darle mayor flexibilidad a los ligandos en la búsqueda de su sitio. También se utilizó otro parámetro llamado london dG, esa es una función de puntuación que estima la energía libre de unión del ligando a partir de una pose determinada y GBvi/WSA dG. Esta es una función de puntuación basada en el campo de fuerza que estima la energía libre de unión del ligando a partir de una pose determinada

Al tener estos parámetros de refinamiento en el docking molecular hecho por MOE. Se realizó una filtración más en los 25 compuestos encontrados, en el cual tenemos el mejor ligando con la energía de interacción que se otorgaron en MOE y en Autodock Vina y también se tomó en cuenta el ligando de referencia, ya que su estructura será de comparación con el ligando candidato para ser inhibidor del SARS-CoV-2. En el compuesto RZG tuvo una energía de afinidad de -5.60 kcal/mol en el docking molecular en MOE y en virtual screening que se hizo en Autodock VINA, tuvo una energía de interacción de -2.3 Kcal/mol. En la figura 29 se



muestra las interacciones que tuvo este ligando con los aminoácidos de la Mpro y Thr #190, Gln #192, Gln #189, Glu #166, Met #165 y His #41.

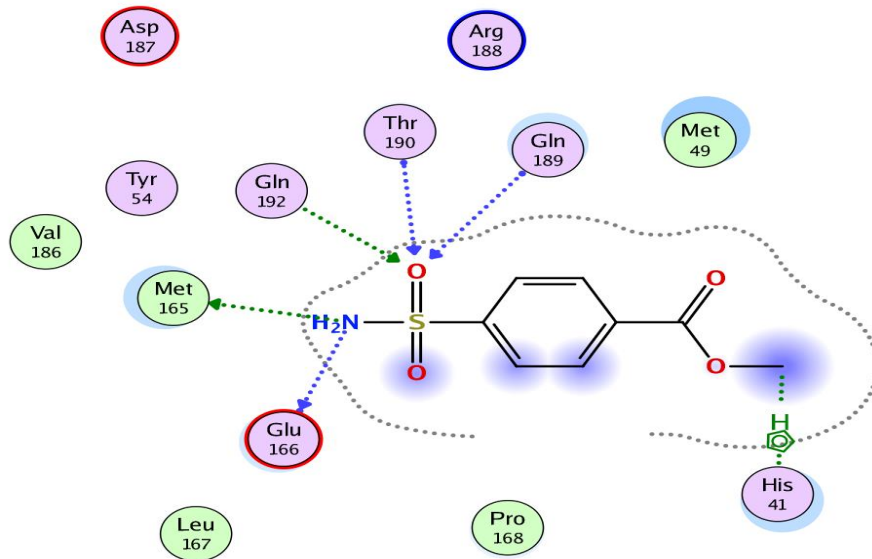


Fig 30.- Interacción del ligando RZG en los aminoácidos de la proteasa Mpro.

En la figura 30, se muestra una gráfica de barra esta es llamada PLIF. En esta se pueden observar los aminoácidos que tienen mayor presencia en la interacción con el ligando RZG a través de 100 conformaciones realizada. Esto indica que tanta interacción tienen con los aminoácidos. El residuo que tiene mayor presencia en esta interacción es el Cys# 145 y los demás aminoácidos que tienen una interacción moderada con el ligando RZG son: Met# 49, Asn #142, Met#165, Glu #166 y His #163, estos aminoácidos, aunque no tengan una mayor interacción tiene presencia en la unión con el ligando.

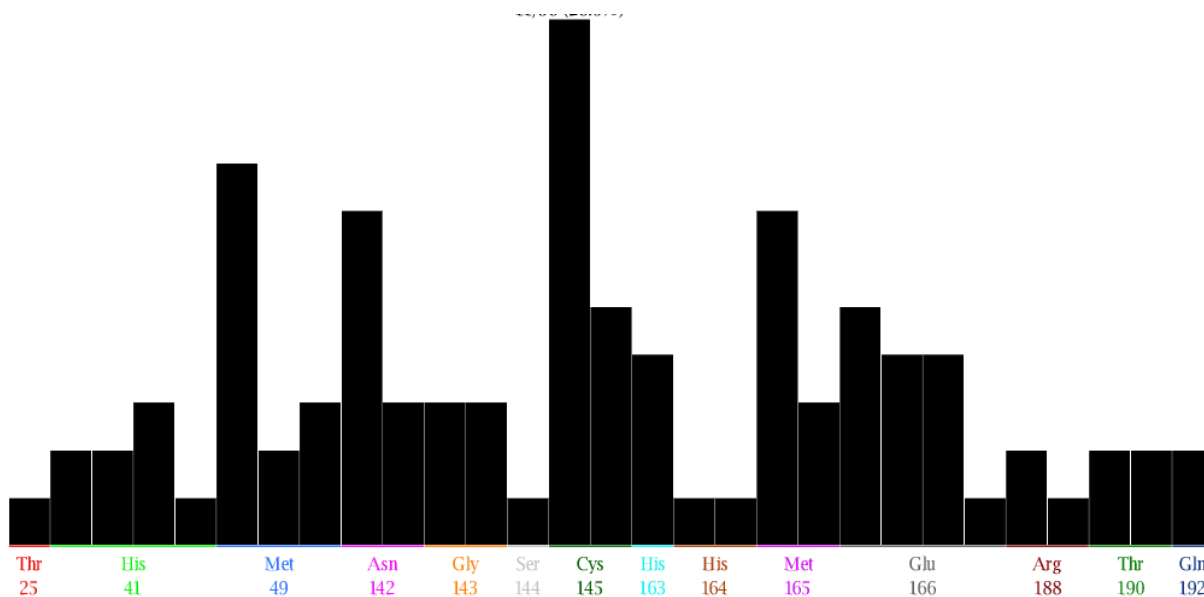


Fig 31.- PLIF de los aminoácidos del SARS-CoV-2 de la Mpro, están en mayor interacción con la RZG.

En la tabla 8 se pueden observar las energías de interacción de dos procesos de docking hecho por Autodock Vina y otro por MOE. En la misma tabla están los aminoácidos que tiene mayor interacción en cada ligando y los aminoácidos que con mayor frecuencia son el Asn#142, Cys#145, Glu#166, His#41, Thr#25 y Met#49. En la mayoría de los ligandos están presentes los aminoácidos, que son la díada catalítica de la Mpro estos son la Cys#145 y His#41 (Mengist Hylemariam M et al., 2021). Con estos aminoácidos que tenemos en la mayoría de la interacción con los ligandos podemos entender que el sitio específico de la proteasa, este es cercano a estos dos aminoácidos, esto será importante para el diseño de nuevas moléculas farmacológicas.

Molécula MproL	Energía de interacción Virtual screening	Energía de interacción MOE	Aminoácidos de interacción con los ligandos
RZG Ligando Blanco	-2.3	-4.81	Cys#145, Met#49, Asn#142, Glu#166, His#41, Met#165
MproL1	-5.6	-5.29	Asn#142, Cys#145, Gly#143
MproL2	-6.2	-6.65	Asn#142, Cys#145, Thr#25, His#41, Met#49, glu#166
MproL3	-5.1	-5.17	Cys#145, Met#165, Glu#166, Arg#188, Gln#189
MproL4	-7.5	-6.84	Asn#142, Thr#25, Glu#166, Gln#143
MproL5	-7.2	-6.81	Gly#143, Thr#25, Glu#166, Cys#145
MproL6	-7.8	-8.12	Asn#142, Thr#25, Glu#166, Cys#145
MproL7	-7.4	-6.56	Thr#25, Asn#142, Glu#166, Met#165
MproL8	-7.0	-6.92	Asn#142, Cys#145, Glu#166, Met#165, Thr#25
MproL9	-5.7	-4.92	Asn#142, Leu#141, His#41, Glu#166

MproL10	-6.3	-6.50	Asn#142, Glu#166, Thr#25, Met#165
MproL11	-6.7	-7.47	Asn#142, Glu#166, Cys#145, His#41, Thr#25
MproL12	-6.8	-4.91	Asn#142, Glu#166, Cys#145, Met#49, His#41, Thr#25
MproL13	-7.4	-7.22	Asn#142, Glu#166, Cys#145, Thr#25, Met#49
MproL14	-5.6	-7.05	Asn#142, Thr#25, Glu#166, Cys#145
MproL15	-6.6	-6.75	Asn#142, Cys#145, Thr#25
MproL16	-6.8	-7.81	Asn#142, Glu#166, Thr#25
MproL17	-6.4	-7.11	Asn#142, Cys#145, Glu#166, Thr#25
MproL18	-6.4	-6.55	Asn#142, Ser#46, Thr#25, Glu#166
MproL19	-6.1	-6.30	Asn#142, Thr#25, Glu#166
MproL20	-7.9	-7.28	Asn#142, Thr#25, Cys#145, Met#165, Glu#166
<b>MproL21</b>	<b>-8.1</b>	<b>-7.84</b>	<b>Asn#142, Glu#166, His#41, Met#49, Thr#25, Cys#145</b>
MproL22	-5.5	-7.13	Asn#142, Thr#25, Glu#166, Met#49, Cys#145
MproL23	-6.8	-7.30	Asn#142, Glu#166, Cys#145, Thr#26, Met#49
MproL24	-6.7	-8.3	Asn#142, Glu#166, Thr#25, His#41, Cys#145
MproL25	-6.1	-7.24	Asn#142, Cys#145, Glu#166, Thr#25, Met#49

Tabla 8.- Tabla de ligandos que muestran los aminoácidos con interacción y las energías de interacción del virtual screening en Autodock Vina y docking molecular en MOE remarcando el ligando con mejor energía de interacción.

Con estos datos de la tabla 8 se puede escoger al mejor ligando que será propuesto como antiviral para combatir este virus. El ligando con mejor energía de interacción es MproL21, este tiene una energía de interacción en Autodock Vina de -8.1 Kcal/mol y en MOE de -7.84 Kcal/mol. Esta energía sobrepasa al ligando de referencia llamado RZG, en comparación sus energías son Autodock Vina - 2.3 Kcal/mol y en MOE de -4.81 Kcal/mol. Es bueno mencionar que los 24 ligandos restantes también cuentan con una energía de interacción menor a la del ligando de referencia. El ligando MproL21 tuvo mejor respuesta en el docking molecular en comparación de los demás ligandos. El ligando MproL21 pertenece a la base de datos de ASC-09. El nombre comercial de este compuesto es TMC-310911 y su función es como inhibidor de la proteasa del VIH (National Center for Biotechnology Information, 2021). Ahora en la figura 31 se muestra el ligando MproL21 y las interacciones que tiene con los aminoácidos que están en el pocket de la proteasa.

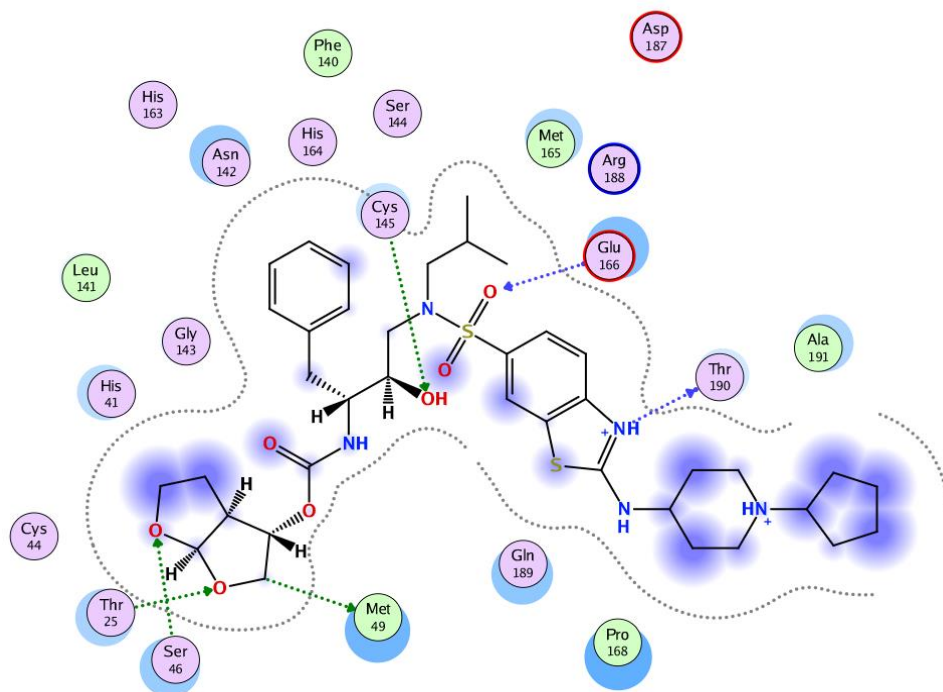


Fig 32.- Ligando MproL21 en el que están interaccionando los residuos Cys #145, Glu #166, Met #49, Thr #25, Thr #190 y Ser #46

En la figura 32 se muestra el PLIF de los aminoácidos con mayor interacción con el ligando MproL21, en donde se muestra el residuo Asn #142 con mayor en docking molecular.

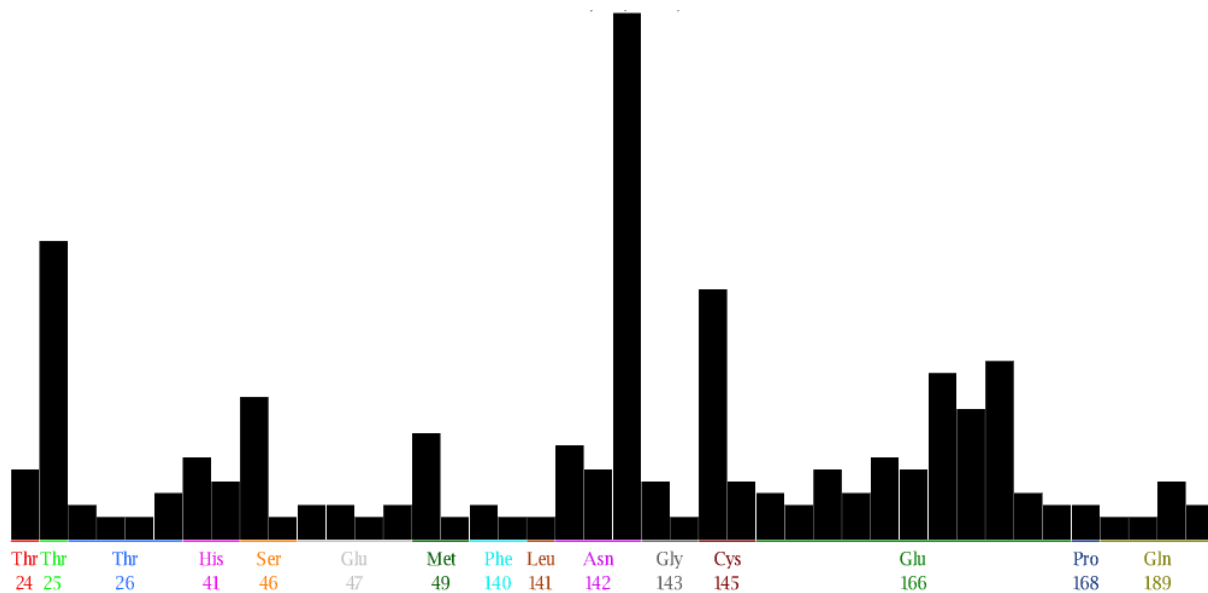


Fig 33.- PLIF del ligando MproL21 en que muestra los aminoácidos con mayor interacción estos son Asn #142, Glu #166, His #41, Met 49, Thr #25 y Cys #145.

Teniendo el ligando candidato procedimos a realizar la Dinámica Molecular y las condiciones de la DM son las siguientes: se utilizaron 3 programas el primero es MOE para la preparación

del sistema de la dinámica. En este se adecuó la proteína y los ligandos MproL21 y RZG. Se generó una caja de solvatación con moléculas de agua y con moléculas de hidróxido de sodio. El campo de fuerza el que se utilizó es Amber10: EHT. Se minimizaron los átomos, se corrigieron las cargas parciales y se mantuvieron sin fijación. Tanto los ligandos como la proteína. Se utilizó el segundo programa internamente de MOE este es llamado *Nanoscale Molecular Dynamics* o por sus siglas NAMD este es un software utilizado para simulaciones de dinámica molecular y se utiliza por eficiencia en paralelo para simular sistemas grandes de millones de átomos. Y por último se utilizó *Visual Molecular Dynamics* o VMD este programa es utilizado principalmente para ver y analizar los resultados de dinámicas, las simulaciones de DM que se realizaron fueron dos, cada una de 100 nanosegundos (ns). En la figura 33 se muestra la caja de solvatación en las que estuvo sometido el ligando MproL21 junto con la proteasa del SARS-CoV-2.

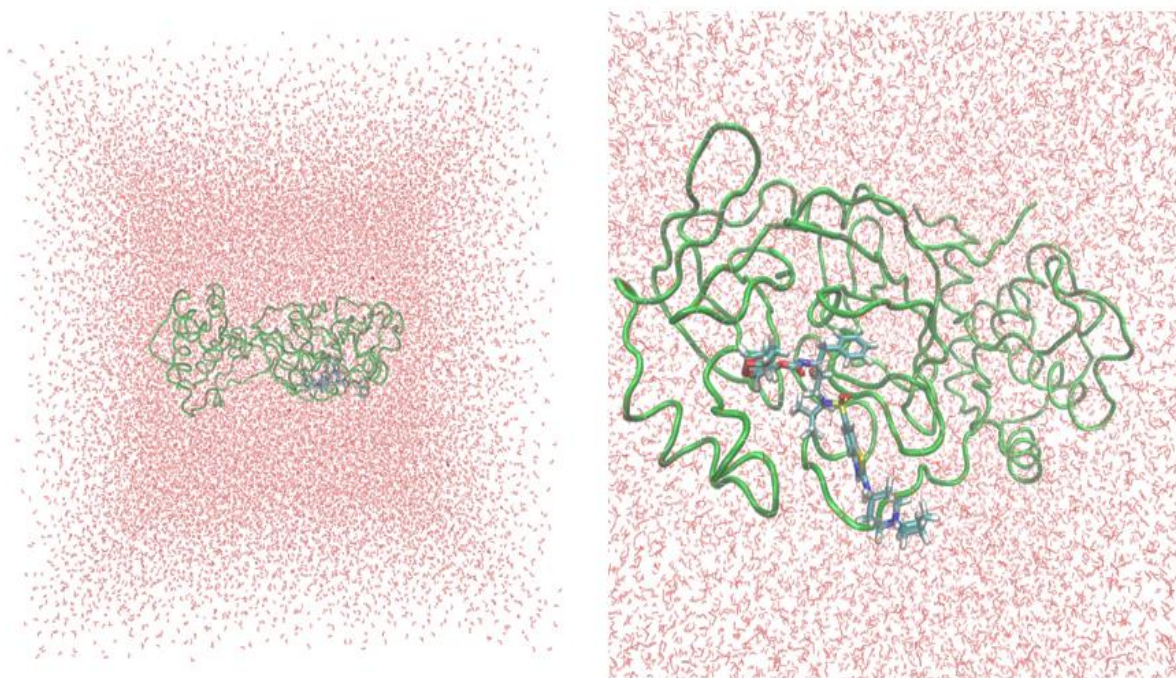
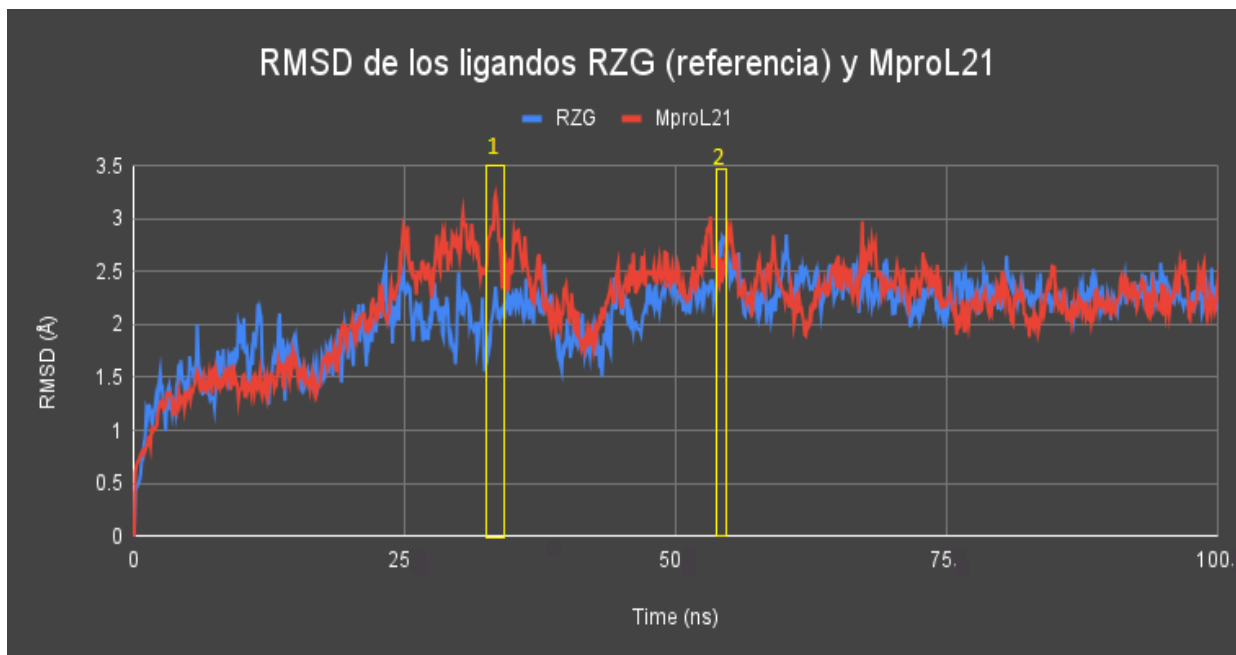


Fig 34.- Dinámica molecular del ligando MproL21. Izquierda: Se muestra la caja de solvatación con moléculas de agua mostradas alrededor de la proteína con puntos rojos y de lado derecho se muestra la ampliación de la proteína y el ligando MproL21.

Una vez teniendo las condiciones de la simulación de la DM, procedimos a analizar los sistemas de la proteasa y de los ligandos en la gráfica 1 se muestra el RMSD de ambos ligandos.

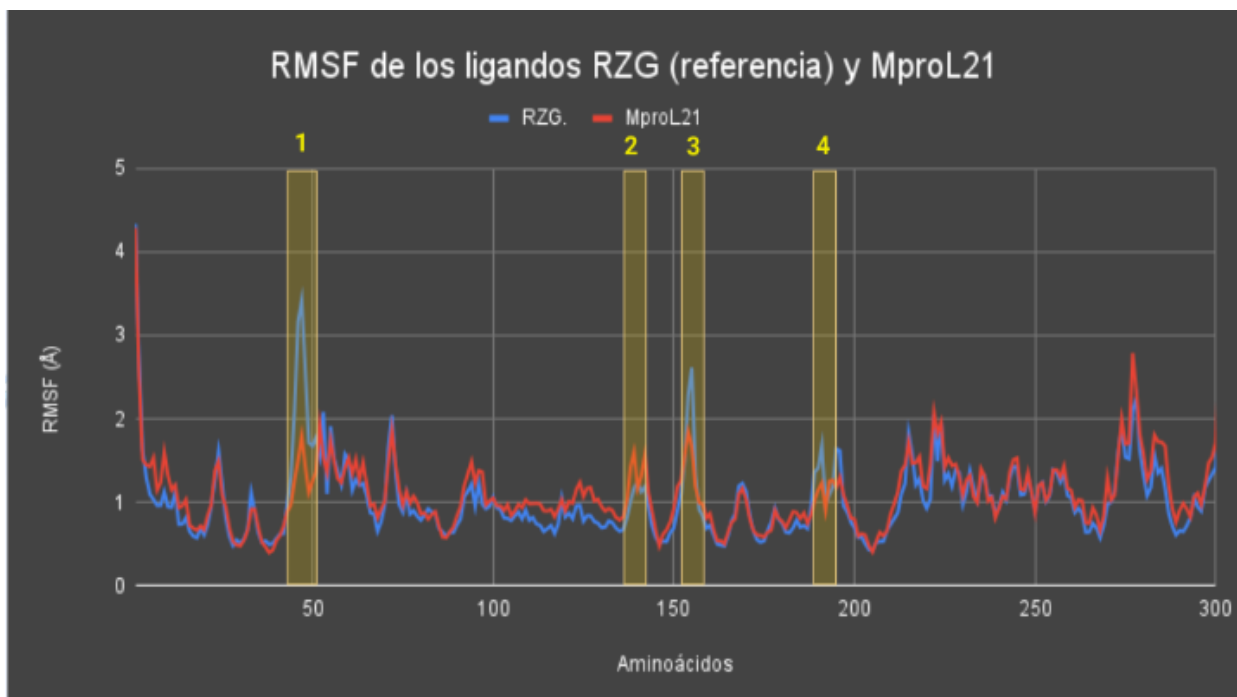


Gráfica 1.- RMSD de los ligandos RZG (ligando de referencia) y MproL21 (ligando Candidato).

El RMSD es comúnmente utilizado como parámetro cuantitativo para una estimación de la similitud entre dos estructuras superpuestas (Soremekun, O. S. et al 2020) y con estas características podemos saber si una proteína, se puede deformar a través del tiempo, en la gráfica 1, podemos observar los resultados de RMSD de los ligandos sometidos sobre la proteína Mpro, en color azul están los valores del ligando de referencia RZG y en color rojo el ligando candidato MproL21, lo que podemos observar es lo siguiente, nos enfocaremos en el ligando RZG, que es la referencia, en esta se muestra que tiene un pico máximo de distancia de la proteína este es de 2.8 Å, esta máxima distancia ocurren a los 55ns del proceso, este está señalado en la gráfica 1 con una columna amarilla con un número 2, este pico puede ser una pequeña fluctuación en la proteína, esta puede ser debido a que la proteína tuvo una deformación en su estructura, pero una vez pasado los 55 ns, mantiene su estabilidad en la distancia entre la proteína y ahora comparemos el ligando MproL21, este ligando al llegar a los 25 nanosegundos (ns) empieza a tener mayor distancia y a los 38 ns obtiene su pico más alto en la gráfica, este pico llega a tener aproximadamente 3.3 Å de longitud en la DM, este está señalado en una columna con el número 1 en amarillo en la gráfica, esta fluctuación igual, puede ser debido a una deformación de la proteína, pero una vez que alcanza su pico más alto, la distancia disminuye pasando los 40 ns y al llegar a los 55 ns, su distancia empieza a aumentar muy poco pero sin llegar al valor de su pico más alto, una vez pasando los 60 ns, el ligando MproL21 llega a su estabilidad, hasta terminar los 100 ns que es el tiempo final de la dinámica, esta gráfica nos indica que ambas estructuras se mantienen a pesar de tener pequeñas fluctuaciones en sus procesos, por lo que ambas proteínas llegan a tener un equilibrio con sus respectivos ligandos.

Ahora en la gráfica #2 se representa el RMSF definido como una medida de desplazamiento de un solo átomo o de un grupo de átomos relativos a partir de una estructura de referencia promediando sobre el número de átomos (Soremekun, O. S. et al 2020).



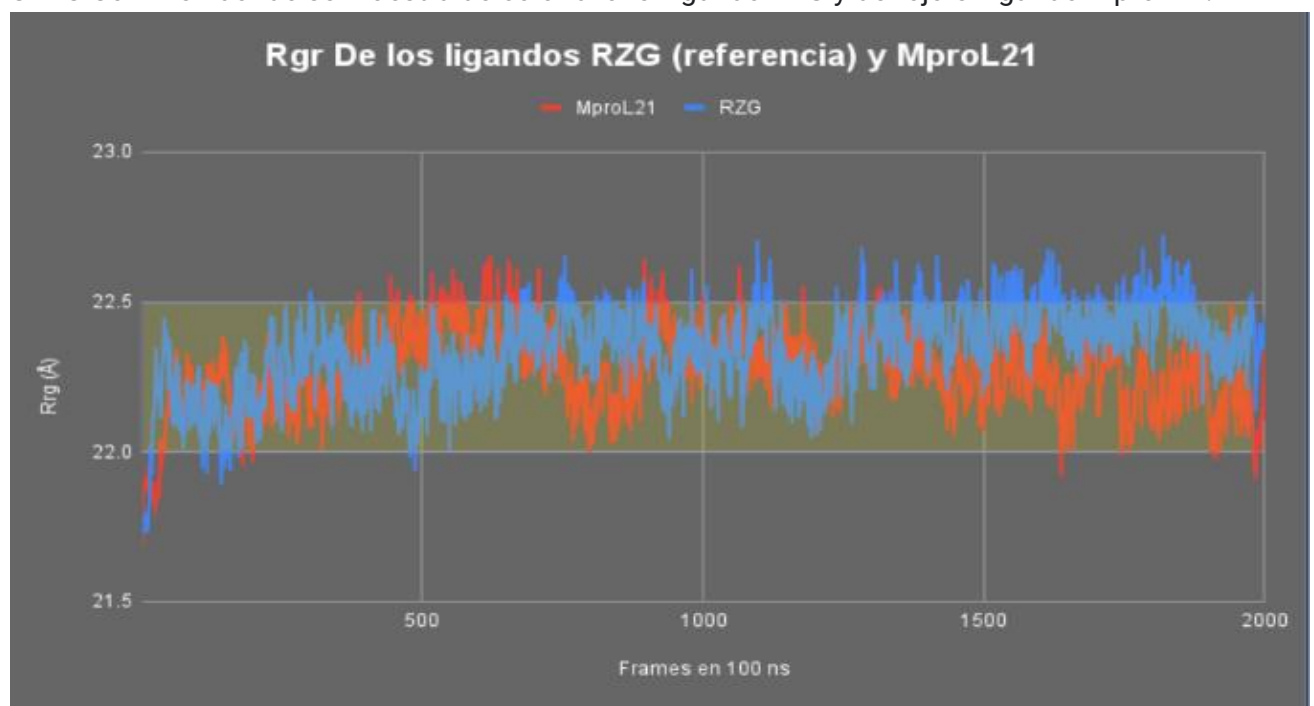


Gráfica 2.- RMSF de los ligandos RZG (ligando de referencia) y MproL21 (ligando Candidato).

Este análisis permite una identificación de las regiones más flexibles y también da una comparación de la flexibilidad relativa de diferentes regiones de un sistema (Moorthy, N. S. et al 2016). En la gráfica podemos observar a los ligandos RZG en color azul y el ligando MproL21 de color rojo, estos dos ligandos interaccionando con la proteína de interés. Lo que se puede observar es lo siguiente: en toda la estructura de la proteína 5r80 se tienen fluctuaciones en lugares específicos de los aminoácidos, como se mencionó anteriormente, se tienen aminoácido que presentan una relevancia en la estructura. Y estos pueden ayudar a la interacción con los ligandos, como son los aminoácidos His #41 y Cys #145. Estos dos residuos son conocidos como la díada catalítica de la proteasa Mpro (Mengist Hylemariam M et al., 2021) y en la experimentación se obtuvieron otros aminoácidos que pueden ser importantes como son Asn#142, Glu#166, Thr#25 y Met#49. Todos ellos pueden sufrir una fluctuación debido al cambio conformacional que puede causar el ligando, si bien, los valores del Ligando MproL21 tiene 4 picos con fluctuaciones estas no llegan a ser con una gran distancia en comparación con los valores del ligando RZG que es ligando de referencia. Por ejemplo, en el ligando MproL21 el pico #1, que está señalado en la gráfica con una columna amarilla, es debido al aminoácido Glu#47. Este residuo no se encuentra entre los residuos de importancia, pero está cercano al residuo His #41. Por lo que su flexibilidad puede ser debido al ácido carboxílico que contiene el aminoácido ácido glutámico, este puede estar interaccionando con las moléculas de agua haciendo puentes de hidrógeno entre ellos, aunque este aminoácido tiene una mayor distancia con el ligando de referencia RZG. Se mantiene con el ligando MproL21. Las distancias son de 3.5 Å en el ligando RZG y con el ligando MproL21 tiene una distancia mínima de 1.8 Å, por lo que su distancia se mantiene con el ligando MproL21. El siguiente aminoácido que tiene una fluctuación se puede observar en la gráfica 2 en la segunda columna de color amarillo. Este es el aminoácido Asn #142, este residuo es importante para la interacción con el ligando, por lo que puede estar interaccionando la amida que contiene la asparagina y este puede estar generando puentes

de hidrógeno con las moléculas de agua del medio. Por lo que la distancia de estos aminoácidos en comparación con los ligandos es la siguiente, con el ligando MproL21 tiene una distancia de 1.7 Å y con el ligando RZG tiene una distancia de 1.1 Å. Aunque no es una distancia tan relevante, existe una fluctuación considerable y más siendo unos de los aminoácidos que presentan interacción dada por el docking molecular es importante tomarlo en cuenta. En la tercera columna con el número 3 en amarillo, se muestra la fluctuación del aminoácido Tyr #154. Las distancias que están en este aminoácido son las siguientes, el ligando RZG distancia de 2.8 Å y el ligando MproL21 tiene una distancia de 1.8 Å. Lo que podemos intuir es que este residuo es más estable en presencia del ligando MproL21, ya que no presenta una distancia tan grande como es cuando está presente el ligando de referencia, puede que el fenol de la tirosina este haciendo puentes de hidrógeno con moléculas de agua para poder tener una fluctuación en este aminoácido y los últimos aminoácidos que tiene fluctuación están compartidos estos son la Thr #190 y #198. Estos aminoácidos que están interactuando con el ligando de referencia y tiene una distancia aproximada de 1.6 Å, pero en comparación con el ligando MproL21, la distancia que tienen no es mayor a 1.4 Å. Esta distancia está disminuida, haciendo que se genere una meseta entre estos dos aminoácidos, puede que tenga más fluctuación el ligando RZG; haciendo que la distancia sea mayor y con el ligando MproL21 los puede mantener con menor distancia. la fluctuación puede deberse a la treonina. Ya que tiene un hidroxilo en su estructura y este grupo puede interactuar con las moléculas de agua que puede contener el pocket. Haciendo que se puede mover, pero no al tan grado de deformar la proteína en esta sección. En un parámetro más amplio, la proteína está en constante movimientos con los ligandos haciendo que estos puedan moverse y aumentar o disminuir sus distancias iniciales, pero sin deformar la proteína, por lo que se mantiene estable una vez que interactúa con los ligandos a través del tiempo.

En la siguiente grafica 3 se presenta el radio de giro de ambos ligando sobre la proteasa del SARS-CoV-2 en donde se muestra de color azul el ligando RZG y de rojo el ligando MproL21.



Grafica 3.- Radio de giro de los ligandos RZG (referencia) en rojo y el ligando MproL21 en azul.



Como se mencionó anteriormente el análisis de Radio de giro Rgr, se utiliza para medir la compactación de la proteína. Donde valores altos de Rgr da a una deformación de la proteína debido a la experimentación. Pero si hay niveles bajos de Rgr es debido a la compactación de la proteína, por lo que no sufre una deformación en su estructura. En la gráfica 3 se puede observar una columna de color amarillo entre 22 Å a 22.5 Å en donde se presenta un rango optimo. Este rango es tomado del ligando RZG en donde a través de los 100 ns o 2000 frames (fotos tomadas en 100 ns) de DM tiene su movimiento. La proteína se mantiene al inicio, pero una vez llegando a los 1500 frames presenta fluctuaciones. Haciendo que la distancia que toma salga del rango de la columna, pero al llegar a los 1800 frames esto se mantienen hasta terminar la DM. El caso contrario es en el ligando MproL21 en donde al inicio se mantiene la proteína, pero al llegar a los 500 frames sufre fluctuaciones en la proteína haciendo que salga del rango. Pasando los 800 frames y hasta terminar la DM, esta se mantiene sin sufrir fluctuaciones por lo que el ligando MproL21 es más estable en comparación con el ligando RZG que es de referencia. Ambos ligandos mantienen la proteína sin deformar, pero el ligando MproL21 mantiene a mayor tiempo la proteína compactada.

Una vez teniendo el análisis de RMSD, RMSF y Rgr se puede observar en la figura 34 las interacciones del ligando MproL21 con los aminoácidos de la proteasa. Y también interaccionando con las moléculas de agua perteneciente a la caja de solvatación.

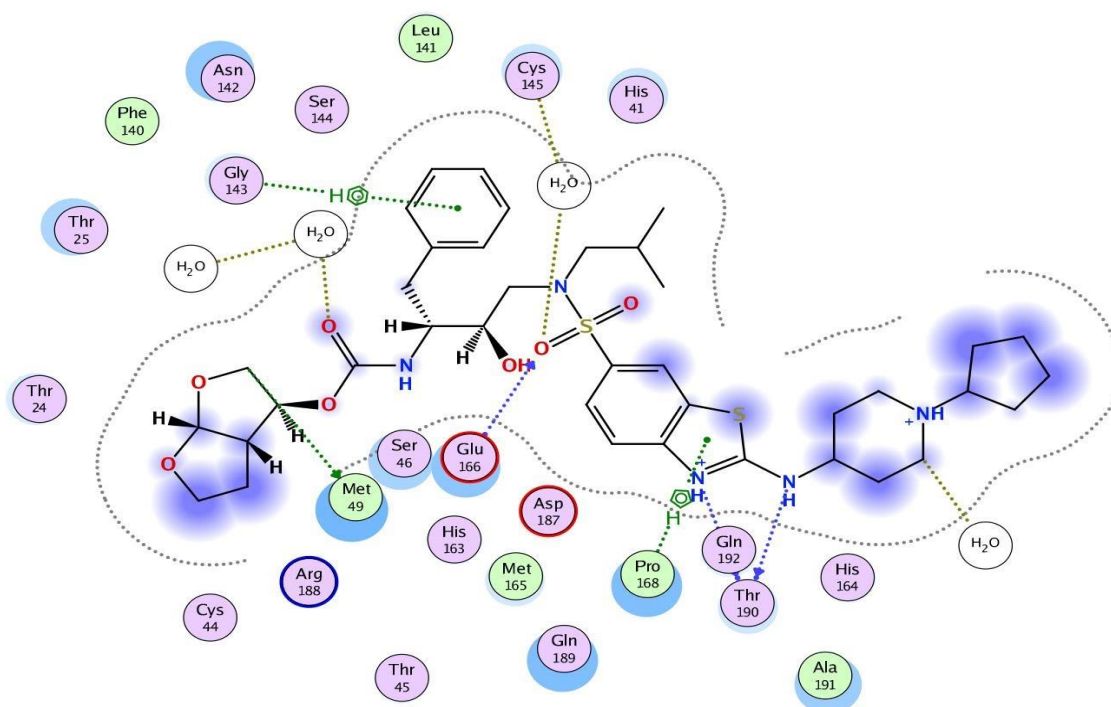


Fig 35.- Aminoácidos de interacción con el ligando MproL21 en la Dinámica Molecular, en el cual se muestra varias moléculas de agua realizando puentes de hidrógeno con el ligando, los residuos que se muestran en la interacción son los siguientes: Met #49, Cys #145, Gly #143, Glu #166, Pro #168, Gln #192 y Thr #190.

Los aminoácidos que están en contacto por la dinámica molecular del ligando MproL21 se

muestran en la figura 34 en estos son Gly #143 y el anillo aromático del ligando, haciendo contacto el hidrógeno del aminoácido, el residuo Cys #145 está en contacto con una molécula de agua. Y esta molécula está interaccionando con el oxígeno de la sulfona con el ligando haciendo un puente de hidrógeno entre estos dos, el residuo Met #49 está interaccionando con el ligando, el residuo Glu #166 está interaccionando con el oxígeno de la sulfona. El residuo Pro #168 está interaccionando con el anillo de la pirrolina, siguiendo con la pirrolina del ligando, este nitrógeno está interaccionando con la Gln #192, el residuo Thr #190 está interaccionando con una amina del ligando. En la figura 35 se muestran los aminoácidos de interacción del ligando candidato, del lado izquierdo con el número 1, son las interacciones del ligando MproL21 obtenidas del docking Molecular en MOE. Del lado derecho con el número 2 son las interacciones de ligando obtenidas de la Dinámica Molecular a los 100 ns.

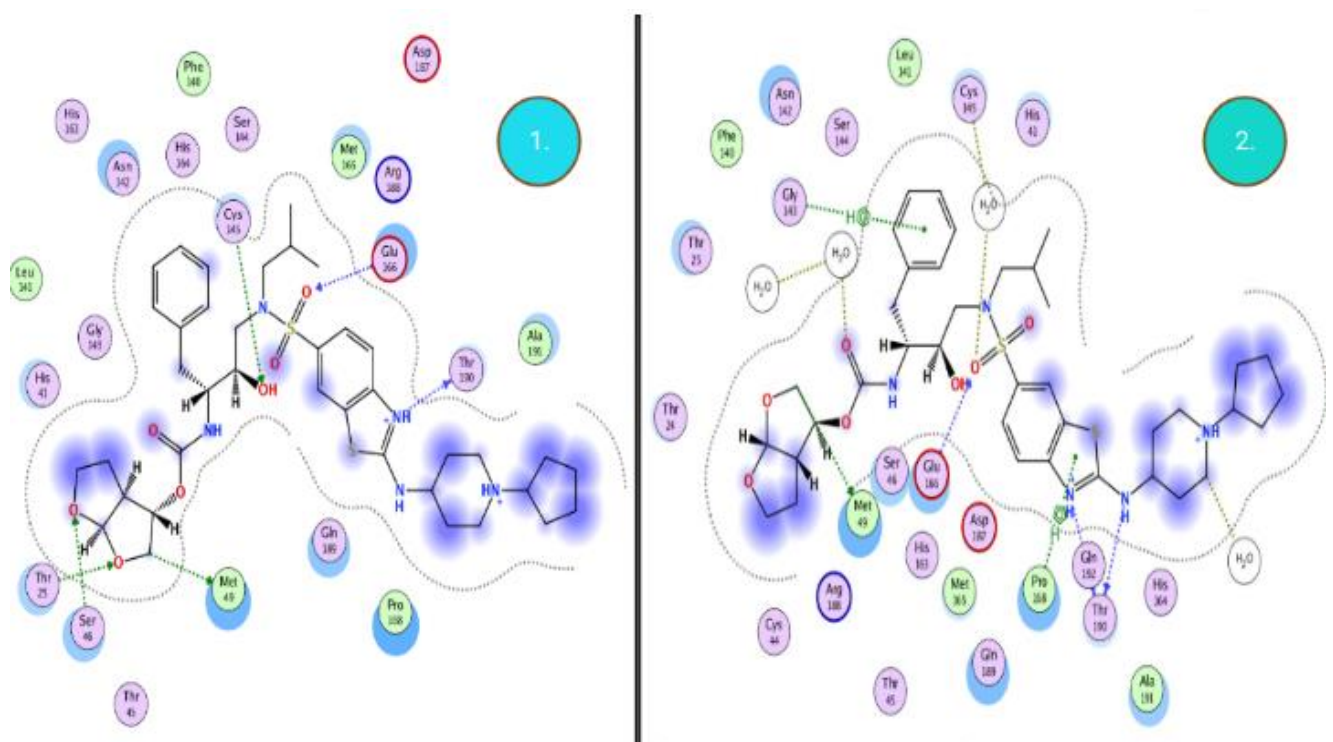


Fig 36.- Comparación de los aminoácidos de Interacción del ligando MproL21, #1 muestra al ligando del Docking Molecular y los aminoácidos de interacción, #2 Muestra al ligando en la Dinámica Molecular a 100 ns.

Los residuos obtenidos por el docking molecular en MOE son los siguientes: Glu#166, Cys#145, Thr#25, Thr#190 y Met#45. Y los residuos obtenidos por la dinámica molecular son Glu #166, Met #49, Cys #145, Gly #143, Pro #168, Gln #192 y Thr #190 y solo un aminoácido está formando puentes de hidrógeno con las moléculas de agua presente en el medio. Este es Cys #145. Ahora podemos comparar los aminoácidos obtenidos por la Dinámica molecular y por el Docking Molecular. En ambos tenemos solo dos similitudes estos son los aminoácidos Cys #145 que pertenece a la díada catalítica y el aminoácido Thr #190. Aunque

el ligando está teniendo contacto con el pocket de la proteína Mpro del SARS-CoV-2, las condiciones en las que el solvente tiene moléculas de agua hacen que la interacción tenga mayor contacto con los aminoácidos o genera un puente de hidrógeno entre ellos. Por lo que la dinámica molecular da un punto primordial en la interacción con el pocket que sería la estabilidad entre la interacción con el ligando y los aminoácidos.

El ligando MproL21 tiene por nombre genérico este es TMC-310911 este ligando se obtuvo de la carpeta de ASC-09 y es un antiviral el cual es utilizado para tratamiento de HIV/SIDA, este antiviral se ha utilizado junto con ritonavir para el tratamiento para el SARS-CoV-2 (Soremekun, O. S. et al. 2020), la posible función del ligando está en la siguiente figura 36.

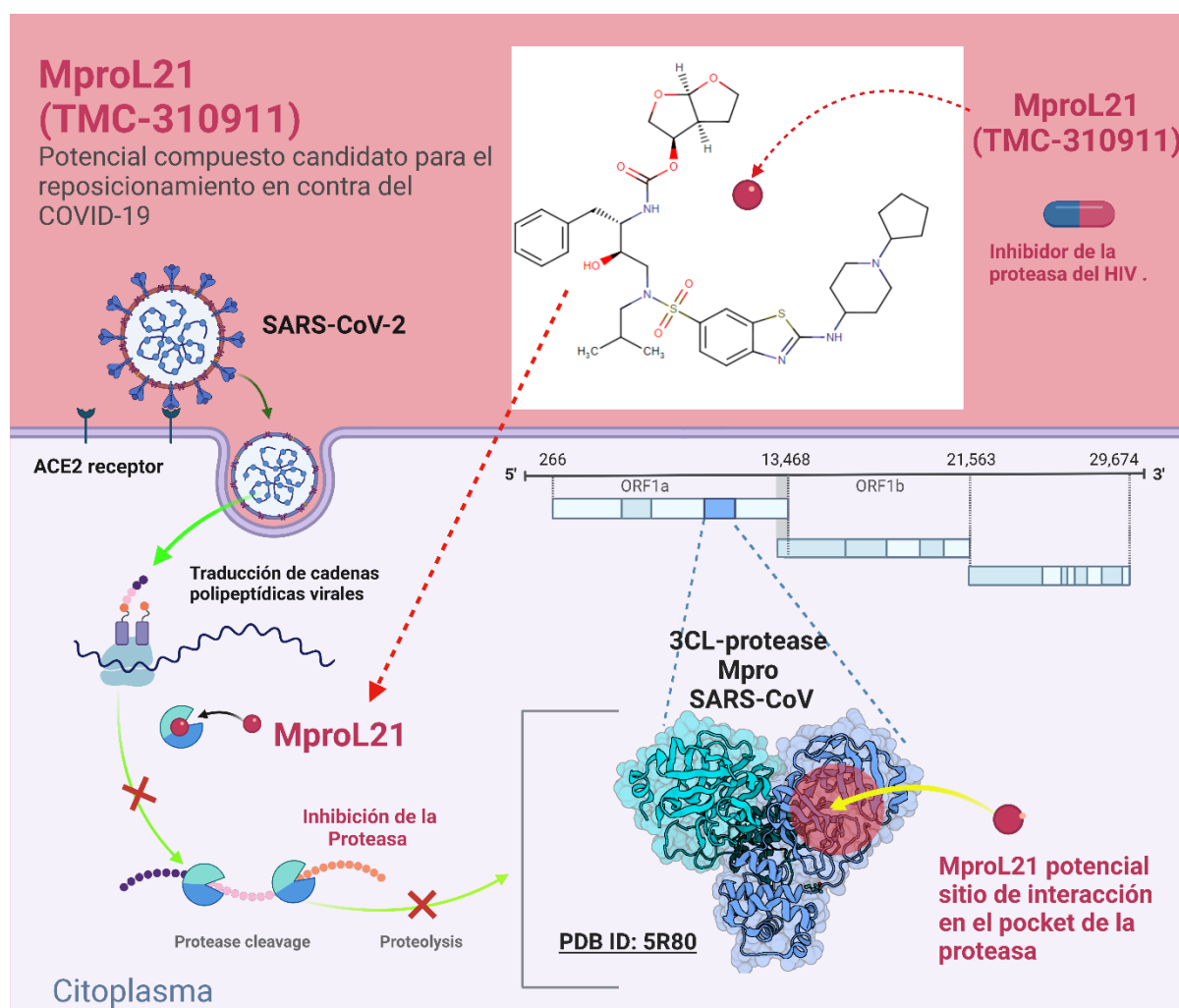


Fig 37.- Propuesta de inhibición que podría hacer del ligando MproL21, una vez que el virus de SARS-CoV-2 entra a la célula, en donde inhibe la proteasa de replicación Mpro o 3CL y cesa las funciones que esta proteasa podría causar.

En la figura 36, se muestra una propuesta de cómo el ligando MproL21(TMC-310911) puede entrar en contacto con la proteína de replicación. Este se puede hacer una vez que el virus entra al citoplasma de la célula, pero ¿Cómo puede funcionar? El virus entra en contacto con el receptor que es ECA2, una vez dentro de la célula el RNA infectante se usa para codificar proteínas estructurales que componen las partículas del virus, proteínas no estructurales que dirigen el ensamblaje, transcripción, replicación y control del huésped del virus entre otras proteínas. Posteriormente estas utilizan la maquinaria celular para la síntesis de las lipoproteínas y proteasas virales esenciales, de las cuales las poliproteínas (PP1a y PP1ab) se dividen en 16 proteínas efectoras no estructurales mediante las proteasas 3CL (Mpro) y papain like protease (PL). Lo que les permite formar el complejo de replicación junto con la RNA polimerasa, el cual es necesario para cumplir dos funciones: Replicar el genoma completo de RNA y Generar las plantillas individuales de mRNA subgenómico requeridas para la traducción de las proteínas estructurales y accesorias virales (Mejia Mendez J.L., et al. 2020). Por lo que el tratar de frenar este proceso con los antivirales es vital para disminuir la infección del SARS-CoV-2, el compuesto MproL21 podría inhibir la 3CL pro o Mpro haciendo que los siguientes procesos de replicación y síntesis de proteínas estructurales se detengan o frenen, por lo que este ligando sería una muy buena opción de tratamiento para antiviral en contra del SARS-CoV-2.

#### 5.-CONCLUSIONES:

Se encontraron los aminoácidos que pueden ayudar a la interacción de la proteína. Con la ayuda de softwares como MOE y *Protein Plus*, podemos tener una estimación del pocket o sitio blanco de la proteína. Los aminoácidos importantes son Cys #145, His #41, estos dos aminoácidos son conocidos por la literatura como la díada catalítica, aunque no siempre están en interacción con estos los ligandos, ya que pueden estar en interacción con otros ligandos o moléculas de agua, si presentan un porcentaje mayor de las interacciones. Los otros residuos importantes son Glu #166, Asn #142, Met #49 y Thr #25. Estos aminoácidos deben ser tomados en cuenta para las próximas experimentaciones o para generar nuevos antivirales. Se ha generado una base de datos con más de 2565 compuestos de antivirales para HIV, Hepatitis C, Influenza entre otras enfermedades. Esta base de datos puede ser de utilidad en el futuro para poder tener un mayor campo de estudio sobre virus y sus posibles inhibidores. También para la síntesis de nuevas moléculas que podrían funcionar como inhibidores e igual para conocer un pocket o sitio blanco, se ha efectuado la técnica de virtual screening sobre una gran cantidad de compuesto. Esta técnica es una forma más adecuada de discriminar datos para la búsqueda de compuestos con mayor energía de interacción y el utilizar un docking refina los datos obtenidos por la técnica de virtual screening. Con los 25 compuestos propuestos, se refinó el proceso de filtrado, un compuesto candidato para ser un posible antiviral favorable para la proteasa Mpro del SARS-CoV-2. Este compuesto es el

ligando MproL21, código puesto para mayor facilidad de manejo en nuestros datos. Este compuesto comercial es llamado TMC-310911 y es un antiviral que tiene efecto sobre la proteasa del HIV, se ha encontrado en investigaciones que este ligando se ha estado utilizando junto con ritonavir para estudios *in silico* para la proteasa Mpro. Por lo que este ligando encontrado ha sido propuesto para el tratamiento en contra del SARS-CoV-2.

## **6.-PERSPECTIVAS**

La utilización de estudios *in silico* puede dar un amplio paso para la búsqueda y desarrollo de nuevas moléculas para ser candidatos a fármacos. Aunado a la búsqueda de compuesto para interacción con otros blancos es de suma importancia. Los otros candidatos que se encontraron en la base de datos son buenas propuestas para poder desarrollar como otra elección y en un futuro una terapia alternativa, también implementar estudios *in-vivo* para complementar las terapias que se pueden implementar en los retos sobre esta enfermedad, pueden ser de gran importancia y por último la búsqueda también de nuevos métodos y softwares puede ayudar con los problemas futuros de pandemias o desafíos científicos, haciendo que nuestro recorrido por la vida sea más favorable.

## 7.- REFERENCIAS

Oliva Marín, J. (2020). SARS-CoV-2: origen, estructura, replicación y patogénesis. *Alerta, Revista Científica Del Instituto Nacional De Salud*, 3(2), 79-86. <https://doi.org/10.5377/alerta.v3i2.9619>

Porta-Etessam, Jesús & Muñiz-Castrillo, Sergio & García-Moncó, Juan & Artal, Francisco & Aledo-Serrano, Ángel & Ezpeleta, David & Garcia-Azorin, David. (2020). Handbook of COVID-19 for neurologists - Manual COVID-19 para el neurólogo general.

Schöning-Stierand, K.; Diedrich, K.; Fährrolfes, R.; Flachsenberg, F.; Meyder, A.; Nittinger, E.; Steinegger, R.; Rarey, M. (2020). [ProteinsPlus: interactive analysis of protein–ligand binding interfaces](#). *Nucleic Acids Research*, 48:W48-W53.

Mengist Hylemariam Mihiretie, Dilnessa Tebelay, Jin Tengchuan (2021) Structural Basis of Potential Inhibitors Targeting SARS-CoV-2 Main Protease. *Frontiers in Chemistry*, 9 2296-2646, <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fchem.2021.622898>.

Zhu, G., Zhu, C., Zhu, Y., and Sun, F. (2020). Minireview of progress in the structural study of SARS-CoV-2 proteins. *Curr. Res. Microb. Sci.* 1, 53–61. doi:10.1016/j.crmicr.2020.06.003

Munir, Khalid; Ashraf, Shoaib; Munir, Isra; Khalid, Hamna; Muneer, Mohammad Akram; Mukhtar, Noreen; Amin, Shahid; Ashraf, Sohaib; Imran, Muhammad Ahmad; Chaudhry, Umer; Zaheer, Muhammad Usman; Arshad, Maria; Munir, Rukhsana; Ahmad, Ali; Zhao, Xin (2020). *Zoonotic and Reverse Zoonotic Events of SARS-CoV-2 and their Impact on Global Health. Emerging Microbes & Infections*, (), 1–35. doi:10.1080/22221751.2020.1827984

Zhang, L., Lin, D., Sun, X., Curth, U., Drosten, C., Sauerhering, L., et al. (2020a). Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved  $\alpha$ -ketoamide inhibitors. *Science* 368 (6489), 409–412. doi:10.1126/science.abb3405

Dallakyan S., Olson A. J. (2015). Small-Molecule library screening by docking with PyRx. *Chem. Biol.* 1263 243–250. 10.1007/978-1-4939-2269-7\_19

O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 (2010) 455-461

*Molecular Operating Environment (MOE)*, 2019.01; Chemical Computing Group ULC, 1010 Sherbooke St. West, Suite #910, Montreal, QC, Canada, H3A 2R7, 2021.

Marovac, Jacqueline. (2001). Investigación y desarrollo de nuevos medicamentos: de la molécula al fármaco. *Revista médica de Chile*, 129(1), 99-106. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872001000100015>

González-Romo, F., & Picazo, J. J. (2015). *El desarrollo de nuevas vacunas. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33(8), 557–568. doi:10.1016/j.eimc.2015.06.013



Saldívar-González, Fernanda, Prieto-Martínez, Fernando D., & Medina-Franco, José L. (2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación química*, 28(1), 51-58. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002>

Guillermo Francisco Ramírez Reyes (2019). Estrategias en el diseño de fármacos. Universidad de la Laguna, Facultad de Farmacia Trabajo de Fin de grado. <https://riull.ull.es/xmlui>

Delgado Ortiz, María Isabel; Hernández Mujica, Jorge Lázaro Los virus, ¿son organismos vivos? Discusión en la formación de profesores de Biología VARONA, núm. 61, julio-diciembre, 2015, pp. 1-7 Universidad Pedagógica Enrique José Varona La Habana, Cuba

Ayllón Valdés, Lucía, Valdivia Romero, Ángel, Mas García, Martha, Trespacios Brey, Lucrecia, & Cordero López, Girelda. (2006). Algunos aspectos básicos de evolución de virus ARN: importancia médica. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(3) Recuperado en 22 de septiembre de 2021.

Luque Guillén, M. V. (2009). Estructura y propiedades de las proteínas. Universidad de Valencia, Pag 34 Obtenido de <http://www.uv.es/>

Santos, Javier (2009). Proteínas Estructuras Fascinantes, Nacional de Educación Tecnológica Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Pag 194, ISBN 978-00-0707-8

Jean-Claude Cheftel (1989) Proteínas alimentarias: Bioquímica, propiedades funcionales, valor nutricional, modificaciones químicas. Edit. Acribia

Prieto-Martínez, Fernando D., Arciniega, Marcelino, & Medina-Franco, José L.. (2018). Molecular docking: current advances and challenges. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(Supl. 1), e20180143. Epub 02 de diciembre de 2020. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>

Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>

De León Gálvez, Francisco. (2012) Manual de Antivirales (No HIV) (Revisión Sistemática). Universidad Francisco Marroquín, Facultad de Medicina, Farmacología Médica

Ramachandran plot general obtenida de la página Wikipedia commons. Pagina web: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/90/Ramachandran\\_plot\\_general\\_100K.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/90/Ramachandran_plot_general_100K.jpg)

Hollingsworth, S. A., & Dror, R. O. (2018). *Molecular Dynamics Simulation for All*. *Neuron*, 99(6), 1129–1143. doi:10.1016/j.neuron.2018.08.011

Karplus, M., McCammon, J. Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nat Struct Mol Biol* 9, 646–652 (2002). <https://doi.org/10.1038/nsb0902-646>

Laura Domínguez y Carlos Amador Bedolla (2013). *El premio Nobel de Química 2013 para Químicos Computacionales*, Educ. quím., 25(1), 82-85, 2014. © Universidad Nacional Autónoma de México, ISSN 0187-893-X Publicado en línea el 12 de diciembre de 2013, ISSNE 1870-8404

Rakers, C., Bermudez, M., Keller, B. G., Mortier, J., & Wolber, G. (2015). *Computational close up on protein-protein interactions: how to unravel the invisible using molecular dynamics simulations? Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 5(5), 345–359. doi:10.1002/wcms.1222

Volkamer, Andrea; Kuhn, Daniel; Grombacher, Thomas; Rippmann, Friedrich; Rarey, Matthias (2012). *Combining Global and Local Measures for Structure-Based Druggability Predictions. Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(2), 360–372. doi:10.1021/ci200454v

Schöning-Stierand, K.; Diedrich, K.; Fährrolfes, R.; Flachsenberg, F.; Meyder, A.; Nittinger, E.; Steinegger, R.; Rarey, M. (2020). ProteinsPlus: interactive analysis of protein–ligand binding interfaces. *Nucleic Acids Research*, 48:W48-W53.

Fährrolfes, R.; Bietz, S.; Flachsenberg, F.; Meyder, A.; Nittinger, E.; Otto, T.; Volkamer, A.; Rarey, M. (2017). ProteinsPlus: a web portal for structure analysis of macromolecules. *Nucleic Acids Research*, 45:W337-W343.

Michel, M., Visnes, T., Homan, E. J., Seashore-Ludlow, B., Hedenström, M., Wiita, E., Vallin, K., Paulin, C., Zhang, J., Wallner, O., Scobie, M., Schmidt, A., Jenmalm-Jensen, A., Warpman Berglund, U., & Helleday, T. (2019). Computational and Experimental Druggability Assessment of Human DNA Glycosylases. *ACS omega*, 4(7), 11642–11656. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b00162>

Douangamath, A., Fearon, D., Gehrtz, P. *et al.* Crystallographic and electrophilic fragment screening of the SARS-CoV-2 main protease. *Nat Commun* 11, 5047 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18709-w>

Zhang, Jiaying; Lu, Yiling; Kwong, Joey Sum-wing; Li, Xiaosi; Zheng, Wenyi; He, Rui (2020). *Quality Assessment of the Chinese Clinical Trial Protocols Regarding Treatments for Coronavirus Disease 2019. Frontiers in Pharmacology*, 11(), 1330–. doi:10.3389/fphar.2020.01330

Morris G.M., Lim-Wilby M. Molecular Docking. In: Kukol A. (eds) *Molecular Modeling of Proteins. Methods Molecular Biology™*, (2008) vol 443. Humana Press. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19)

Chen YW, Yiu CPB and Wong KY. (2020) Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CL<sub>pro</sub>) structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates [version 1; peer review: 3 approved]. *F1000Research*, 9:129 (<https://doi.org/10.12688/f1000research.22457.1>)



Daoud, S., Alabed, S. J., & Dahabiyeh, L. A. (2021). Identification of potential COVID-19 main protease inhibitors using structure-based pharmacophore approach, molecular docking and repurposing studies. *Acta pharmaceutica (Zagreb, Croatia)*, 71(2), 163–174. <https://doi.org/10.2478/acph-2021-0016>

Patil, V. S., Hupparage, V. B., Malgi, A. P., Deshpande, S. H., Patil, S. A., & Mallapur, S. P. (2021). Dual inhibition of COVID-19 spike glycoprotein and main protease 3CLpro by Withanone from *Withania somnifera*. *Chinese Herbal Medicines*, 13(3), 359–369. doi:10.1016/j.chmed.2021.06.002

Andrianov, A. M., Kornoushenko, Y. V., Karpenko, A. D., Bosko, I. P., & Tuzikov, A. V. (2021). Computational discovery of small drug-like compounds as potential inhibitors of SARS-CoV-2 main protease. *Journal of biomolecular structure & dynamics*, 39(15), 5779–5791. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1792989>

Fu, Lifeng; Ye, Fei; Feng, Yong; Yu, Feng; Wang, Qisheng; Wu, Yan; Zhao, Cheng; Sun, Huan; Huang, Baoying; Niu, Peihua; Song, Hao; Shi, Yi; Li, Xuebing; Tan, Wenjie; Qi, Jianxun; Gao, George Fu (2020). Both Boceprevir and GC376 efficaciously inhibit SARS-CoV-2 by targeting its main protease. *Nature Communications*, 11(1), 4417–. doi:10.1038/s41467-020-18233-x

Alamri, Mubarak A.; Altharawi, Ali; Alabbas, Alhumaidi B.; Alossaimi, Manal A.; Alqahtani, Safar M. (2020). Structure-based virtual screening and molecular dynamics of phytochemicals derived from Saudi medicinal plants to identify potential COVID-19 therapeutics. *Arabian Journal of Chemistry*, (), S1878535220302835–. doi:10.1016/j.arabjc.2020.08.004

Kushagra Dubey, Raghvendra Dubey, (2020). Computation screening of narcissoside a glycosyloxyflavone for potential novel coronavirus 2019 (COVID-19) inhibitor, *Biomedical Journal*, Volume 43, Issue 4, Pages 363-367, ISSN 2319-4170, <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.05.002>.

Soremekun, O. S., Omolabi, K. F., Adewumi, A. T., & Soliman, M. E. (2020). Exploring the effect of ritonavir and TMC-310911 on SARS-CoV-2 and SARS-CoV main proteases: potential from a molecular perspective. *Future science OA*, 7(1), FSO640. <https://doi.org/10.2144/foa-2020-0079>

National Center for Biotechnology Information (2021). PubChem Compound Summary for CID 53361968. Retrieved October 17, 2021 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/53361968>.

Humphrey, W., Dalke, A. and Schulten, K., (1996) "VMD - Visual Molecular Dynamics", *J. Molec. Graphics*, vol. 14, pp. 33-38.

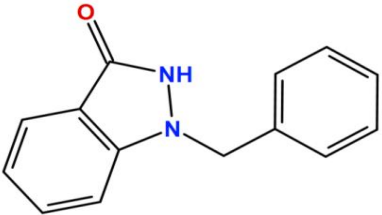
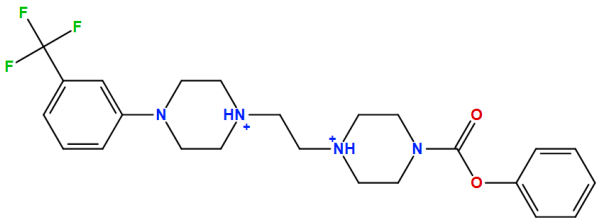
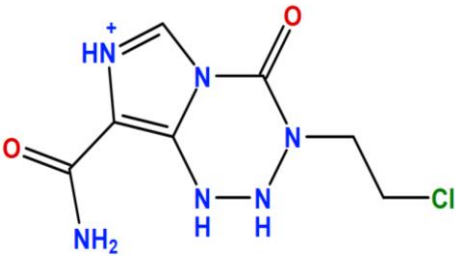
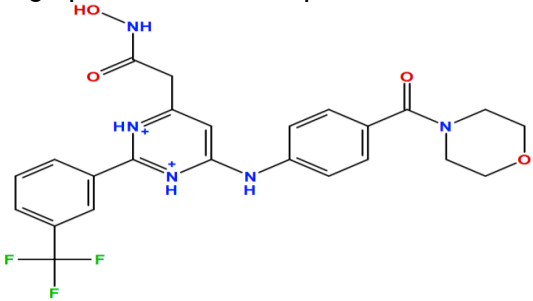
Moorthy, N. S. Hari Narayana; Sousa, Sergio F.; Ramos, Maria J.; Fernandes, Pedro A. (2016). Molecular dynamic simulations and structure-based pharmacophore development for farnesyltransferase inhibitors discovery. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, (), 1–15. doi:10.3109/14756366.2016.1144593

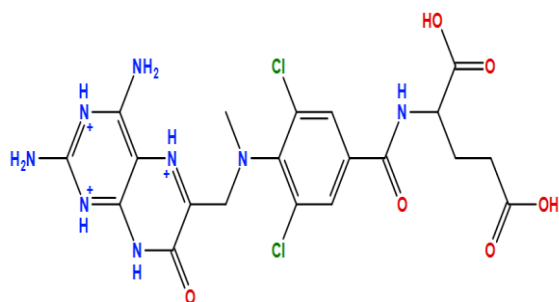
World Health Organization. Considerations for implementing and adjusting public health and social measures in the context of COVID-19: interim guidance, 4 November 2020 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/336374>

Collier L, Oxford J. Capítulo 2: Propiedades generales de los virus. En: Virología humana. 3<sup>o</sup> Edición. México: Mc Graw Hill; 2008. pp. 7-17

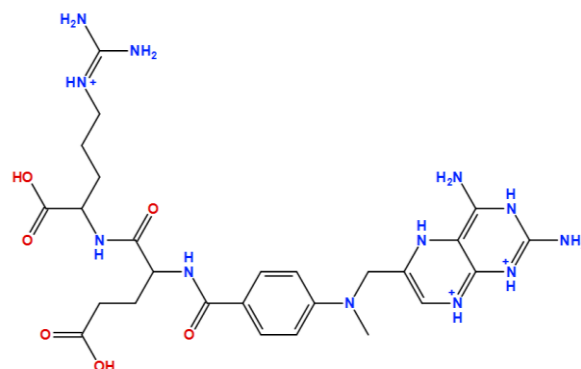
Wegman-Ostrosky, Talia Perelman, Carol, Sepulveda, Rosalinda, Rebolledo, Paulina A, Cuapio, Angelica, Villapol, Sonia (2021). More than 50 Long-term effects of COVID-19: a systematic review and meta-analysis, medRxiv, JOUR, 2021.01.27.21250617 DOI - 10.1101/2021.01.27.21250617

## 8.-ANEXOS.

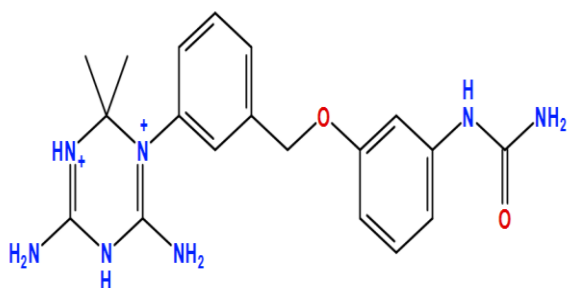
Estructura	Estructura
 <p>Name: Carpeta antiviral: Nefalnavir Energía de interacción (EI) VS: -5.6 Código para el análisis : MproL1</p>	 <p>Name: Phenyl 4-[2-[4-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1-piperazinyl]ethyl]-1-piperazinecarboxylate carpeta antiviral: Darunavir Energía de interacción en Virtual Screening:-6.2 Código para el análisis: MproL2</p>
 <p>Name: 3-(2-Chloroethyl)-1,2,3,4-tetrahydro-4-oxoimidazo[5,1-d]-1,2,3,5-tetrazine-8-carboxamide Carpeta: Trizavirin Energía de interacción (EI) VS: -5.1 Código para el análisis : MproL3</p>	 <p>Name: N-Hydroxy-6-[[4-(4-morpholinylcarbonyl)phenyl]amino]-2-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-4-pyrimidineacetamide Carpeta : X77 antiviral Energía de interacción (EI) VS: -7.5 Código para el análisis : MproL4</p>



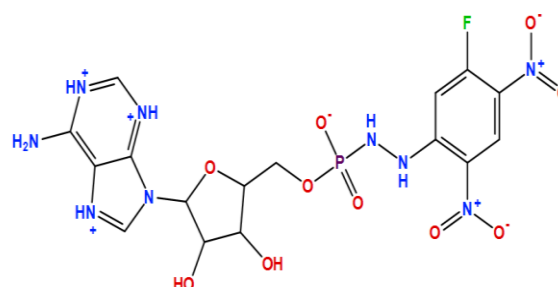
**Name:** Glutamic acid, N-[3,5-dichloro-4-[(2,4-diamino-7-hydroxy-6-pteridiny)methyl]methylamino]benzoyl- (7Cl,8Cl)  
**Carpeta:** Isocodocarpine  
**Energía de interacción (EI) VS:** -7.2  
**Código para el análisis :** MproL5



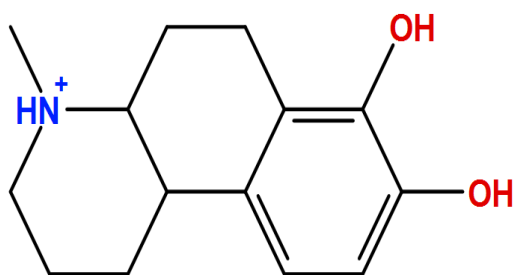
**Name:** L-Arginine, N²-[N-[4-[(2,4-diamino-6-pteridiny)methyl]methylamino]benzoyl]-L-α-glutamyl- (9Cl)  
**Carpeta:** 11r  
**Energía de interacción (EI) VS:** -7.8  
**Código para el análisis :** MproL6



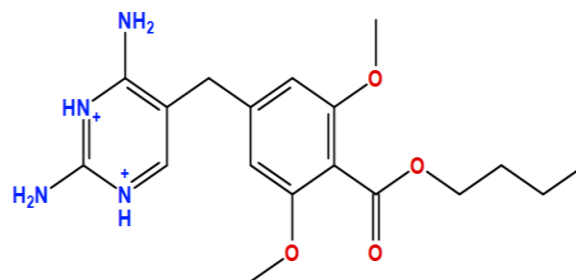
**Name:** Urea, [3-[[3-(4,6-diamino-2,2-dimethyl-1,3,5-triazin-1(2H)-yl)phenyl]methoxy]phenyl]- (9Cl)  
**Carpeta:** Camostat  
**Energía de interacción (EI) VS:** -7.4  
**Código para el análisis :** MproL7



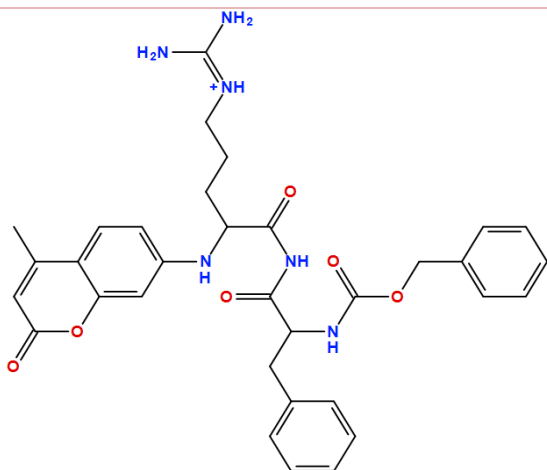
**Name:** Adenosine, 5'-[hydrogen 2-(5-fluoro-2,4-dinitrophenyl) phosphorohydrazidate] (9Cl)  
**Carpeta:** Baicalin  
**Energía de interacción (EI) VS:** -7.0  
**Código para el análisis :** MproL8



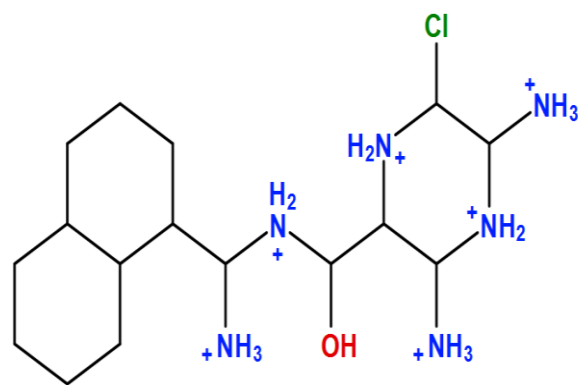
**Name:** Benzo[f]quinoline-7,8-diol, 1,2,3,4,4a,5,6,10b-octahydro-4-methyl-, trans- (9Cl)  
**Carpeta:** Brohexine  
**Energía de interacción (EI) VS:** -5.7  
**Código para el análisis :** MproL9



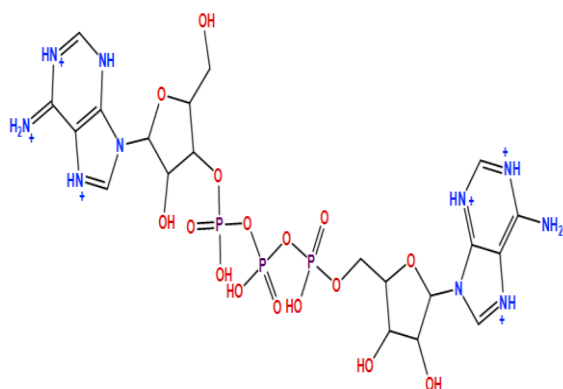
**Name:** Benzoic acid, 4-[(2,4-diamino-5-pyrimidiny)methyl]-2,6-dimethoxy-, butyl ester  
**Carpeta:** Umifenovir  
**Energía de interacción (EI) VS:** -6.3  
**Código para el análisis :** MproL10



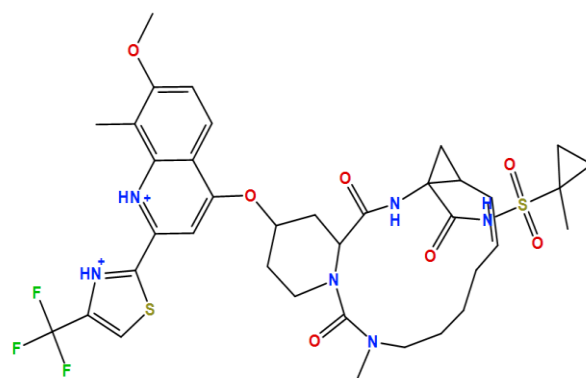
Name: Z-Phe-Arg-AMC  
 Carpeta: Tipranavir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.7  
 Código para el análisis : MproL11



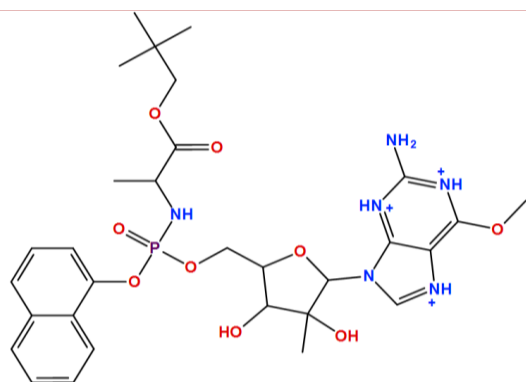
Name: NFE  
 Carpeta: Nefamostat  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.8  
 Código para el análisis : MproL12



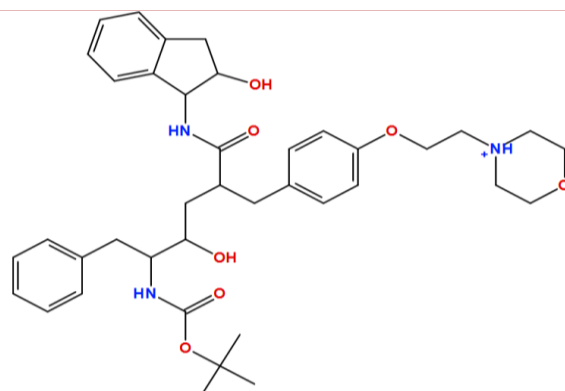
Name: Diadenosine\_triphosphate  
 Carpeta: Saquinavir  
 Energía de interacción (EI) VS: -7.4  
 Código para el análisis : MproL13



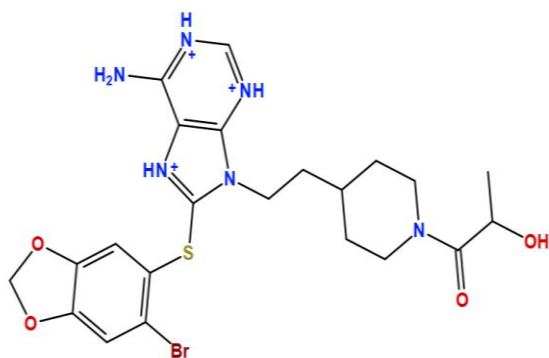
Name: IDX\_320  
 Carpeta: Simeprevir  
 Energía de interacción (EI) VS: -5.6  
 Código para el análisis : MproL14



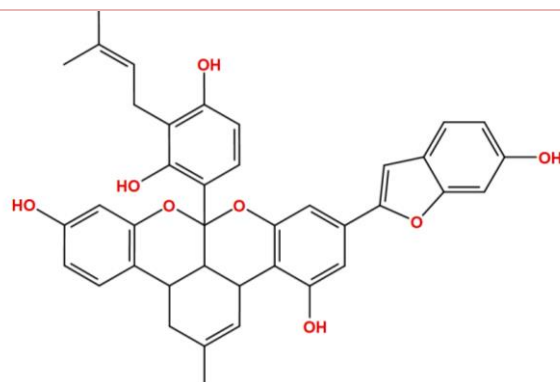
Name: INX\_08189  
 Carpeta: Remdesivir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.6  
 Código para el análisis : MproL15



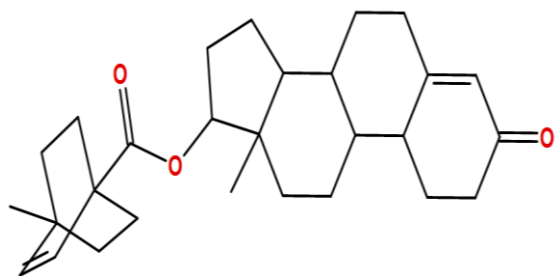
Name: L\_689502  
 Carpeta: Lopinavir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.8  
 Código para el análisis : MproL16



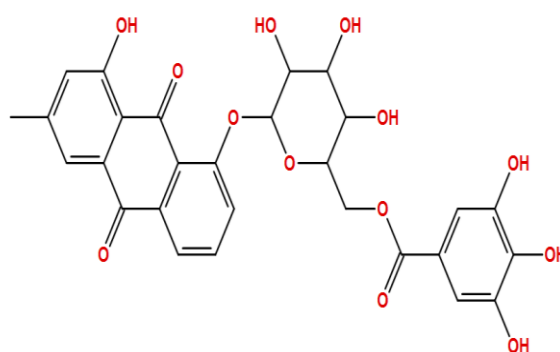
Name: MPC-3100  
 Carpeta: Cyanidin  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.4  
 Código para el análisis : MproL17



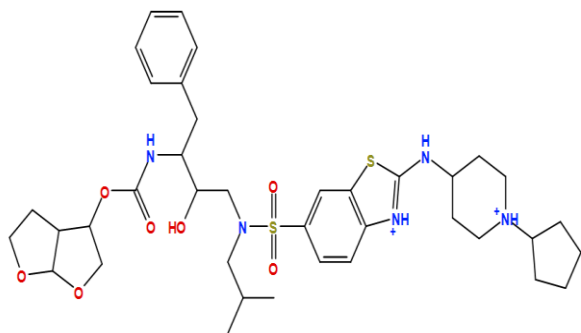
Name: Mulberrofuran\_F  
 Carpeta: Isomultibri  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.4  
 Código para el análisis : MproL18



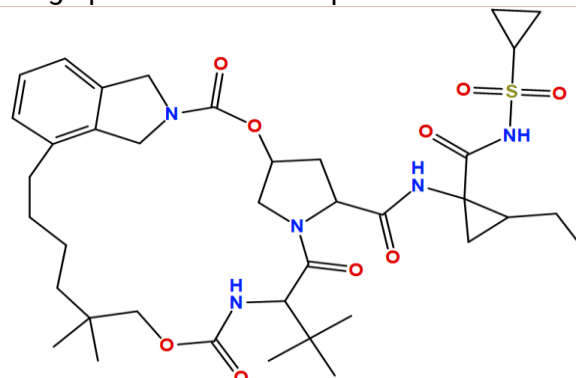
Name: Nandrolone\_cyclotate  
 Carpeta: Withalolide  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.1  
 Código para el análisis : MproL19



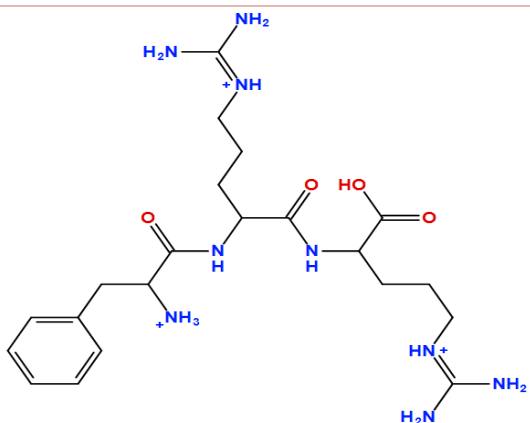
Name: glucopyranosyl[oxy]-9,10-anthracenedione  
 Carpeta: Chysophano  
 Energía de interacción (EI) VS: -7.9  
 Código para el análisis : MproL20



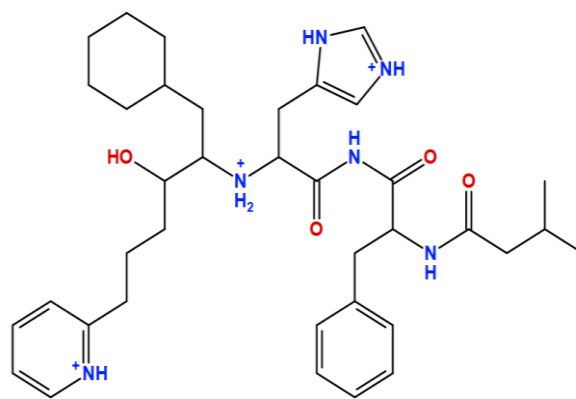
Name: TMC 310911  
 Carpeta: Asc09  
 Energía de interacción (EI) VS: **-8.1**  
 Código para el análisis : MproL21



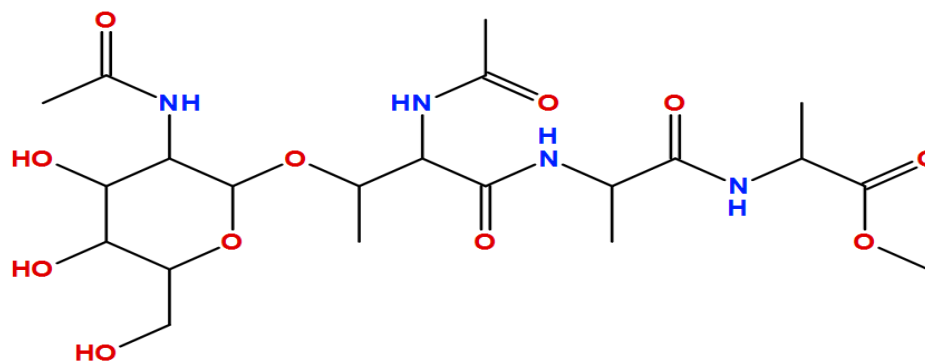
Name: Cyclopropanecarboxamide  
 Carpeta: Vaniprevir  
 Energía de interacción (EI) VS: -5.5  
 Código para el análisis : MproL22



Name: Phenylalanylarginylarginine  
 Carpeta: Gc376  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.8  
 Código para el análisis : MproL23



Name: S\_863390  
 Carpeta: Ritonavir  
 Energía de interacción (EI) VS:-6.7  
 Código para el análisis : MproL24



Name: L-Alanine  
 Carpeta: Boceprevir  
 Energía de interacción (EI) VS: -6.1  
 Código para el análisis : MproL25

Tabla. 7.- Ligando con mejor interacción con Mpro del SARS-CoV-2

Ligandos MproL con interacción con la proteasa.  
 MproL1

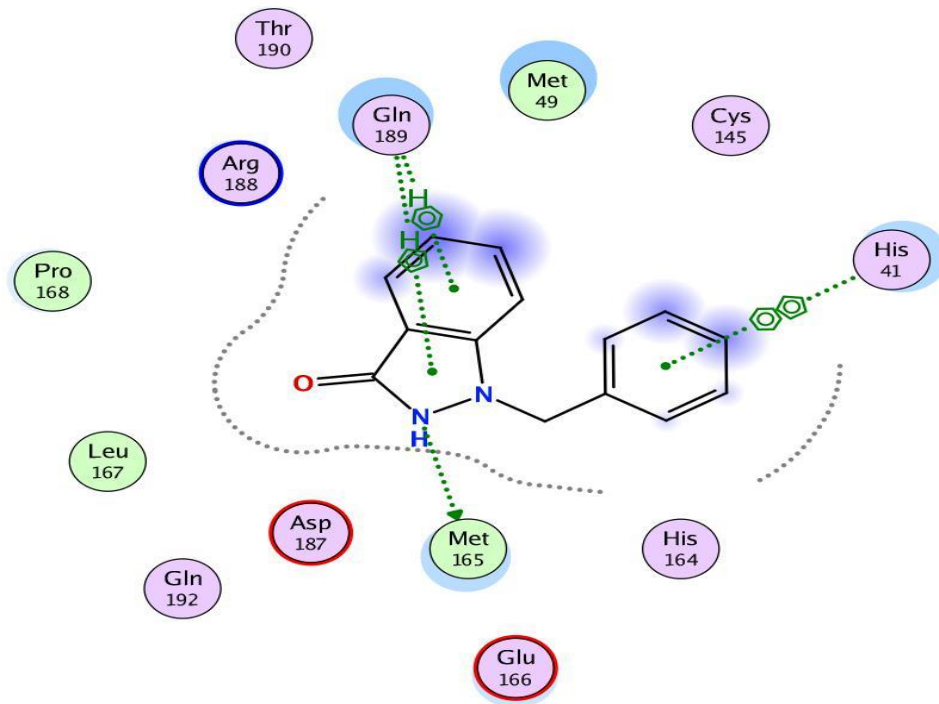
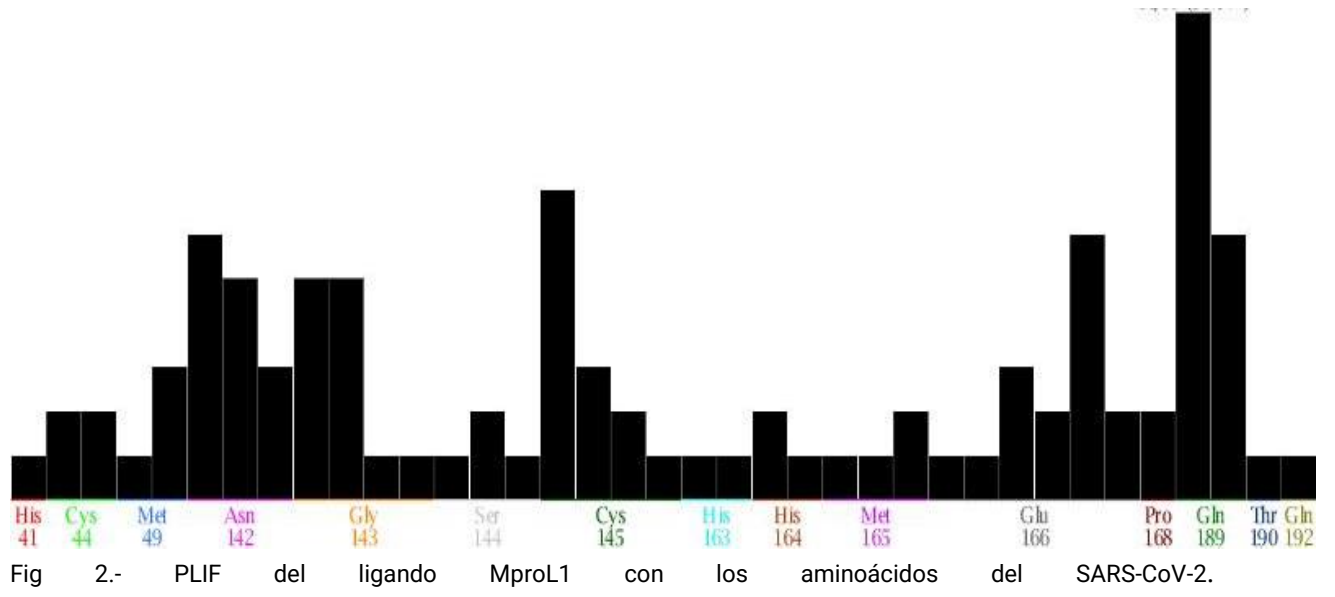


Fig 1.- Ligando MproL1 en interacción con los aminoácidos de la proteasa del SARS-CoV-2 Mpro se observan los aminoácidos Met #165, His #41 y Gln #189.





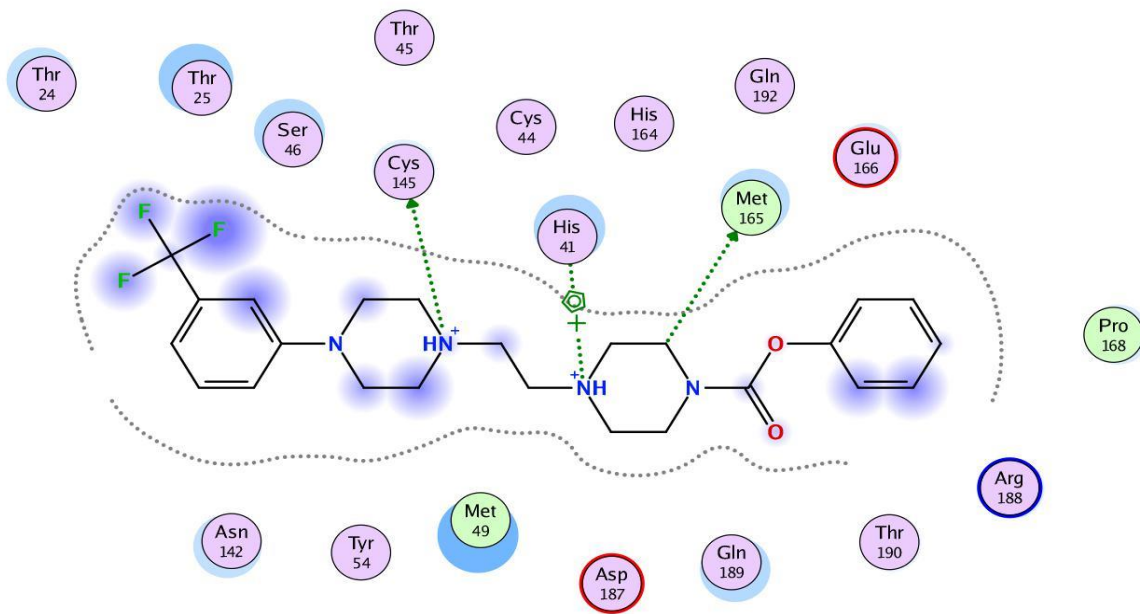


Fig 3.- Aminoácidos de la proteasa que están interacción con el ligando MproL2, se observan los residuos Met #163, His #41 y Cys #145

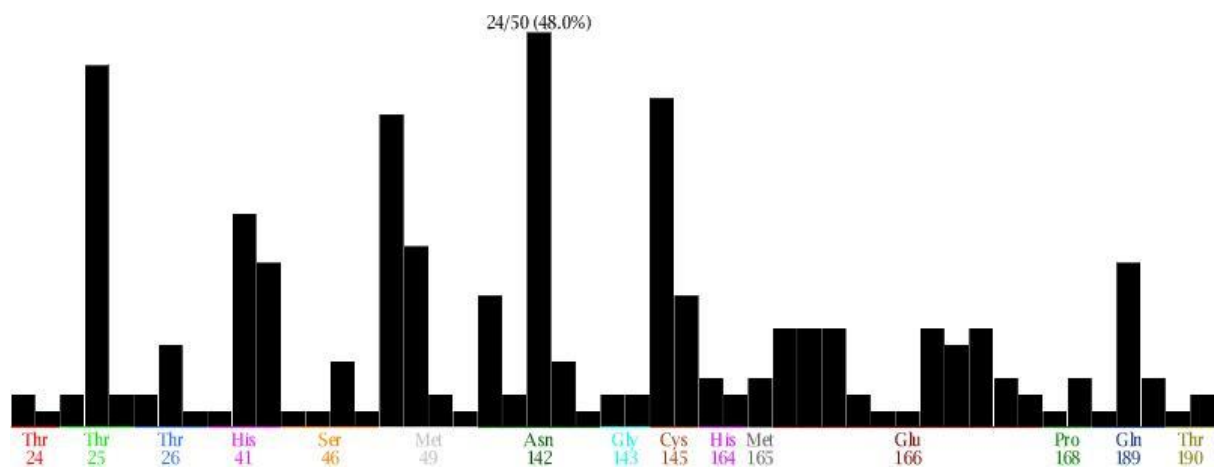


Fig 4.- PLIF del ligando MproL2 con el aminoácido Asn 142 con mayor porcentaje de interacción.

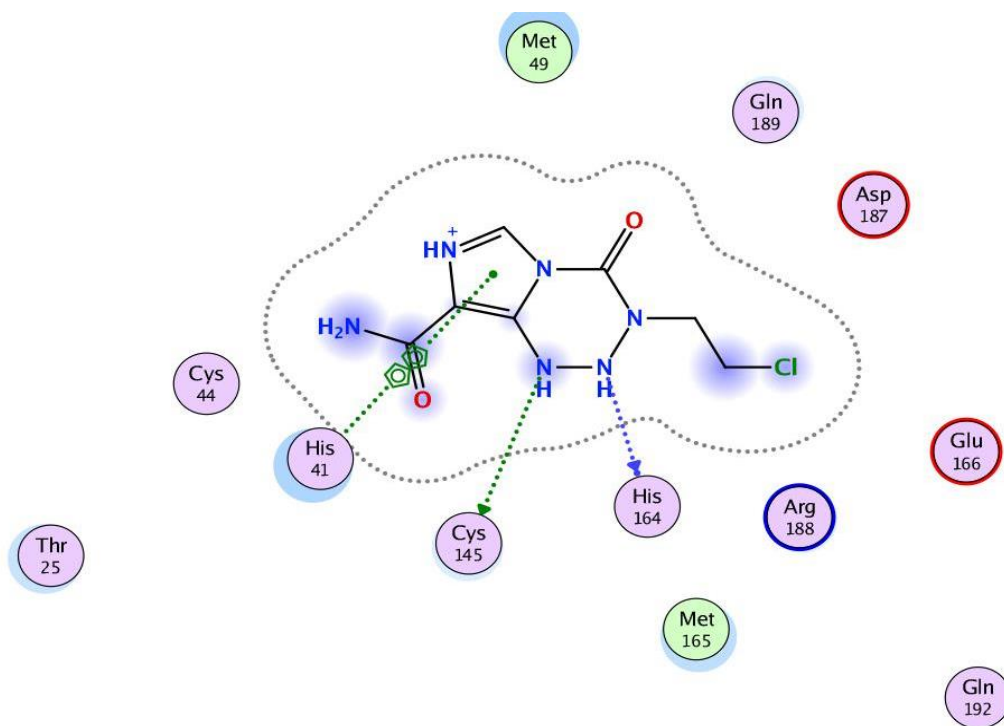


Fig 5.- aminoácidos que tiene un interacción con el ligando MproL3, se observan los residuos His #41, Cys #145 y His #164.

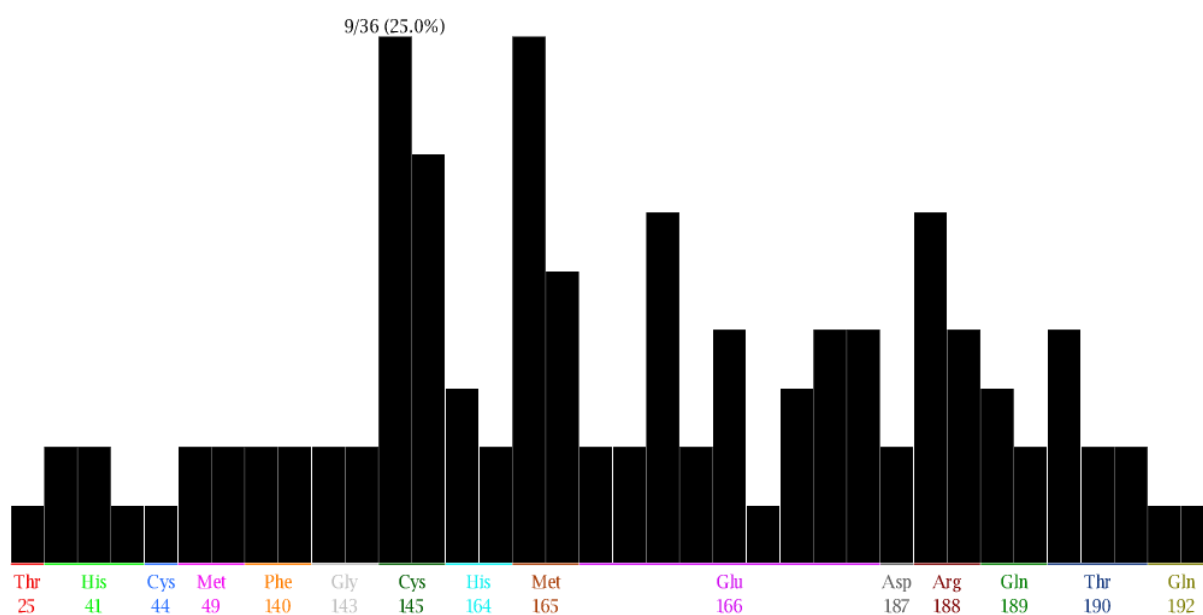


Fig 6.- PLIF del ligando MproL3, se observa el aminoácidos con mayor interacción que es el Cys #145

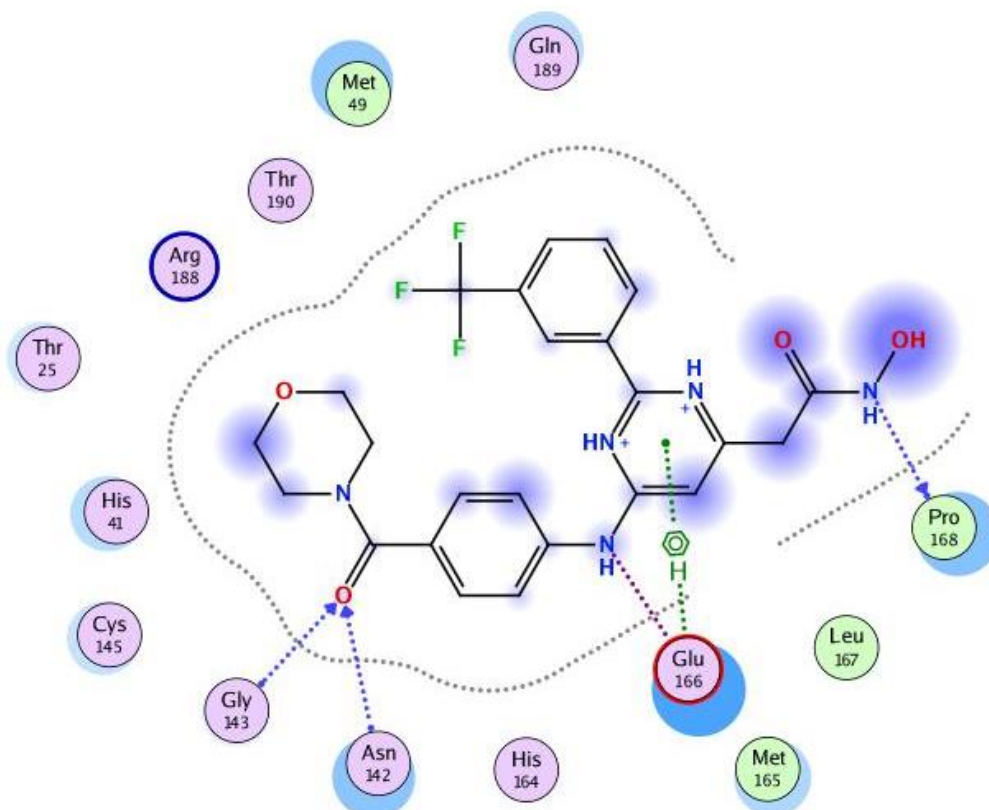


Fig 7.- Aminoácidos con interacción con el ligando MproL4, se observan los residuos Gly#143, Asn #142, Pro #168 y Glu #166 con unión el ligando.

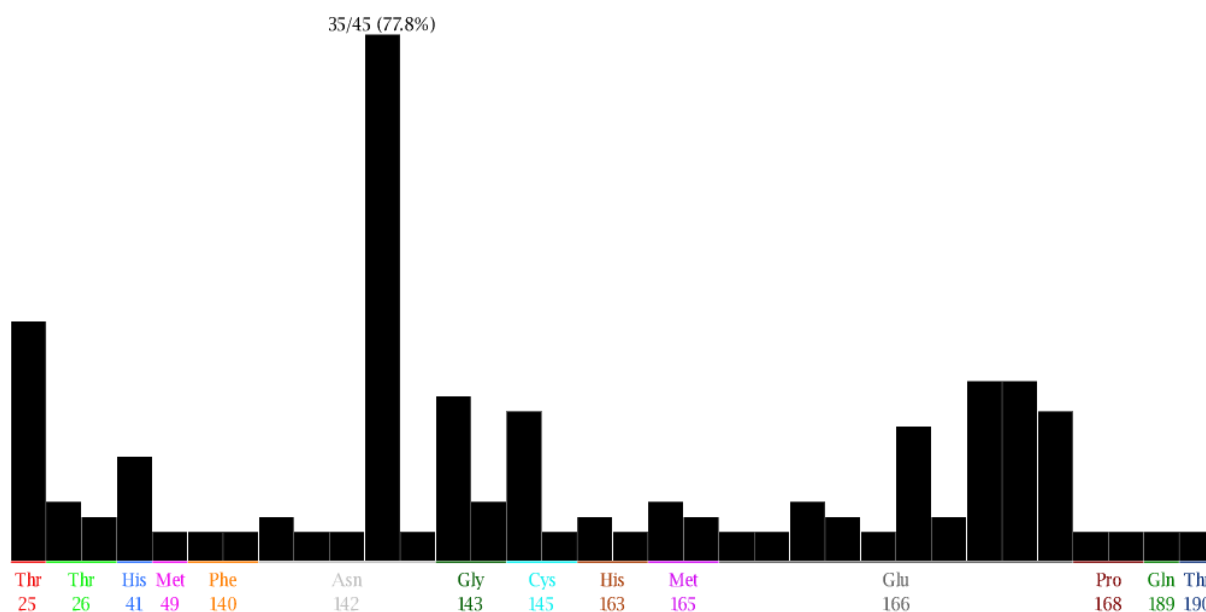


Fig 8.- Residuos que tienen una mayor interacción con el ligando MproL4 Asn# 142, Thr #25, Glu #166 y Gly #143.

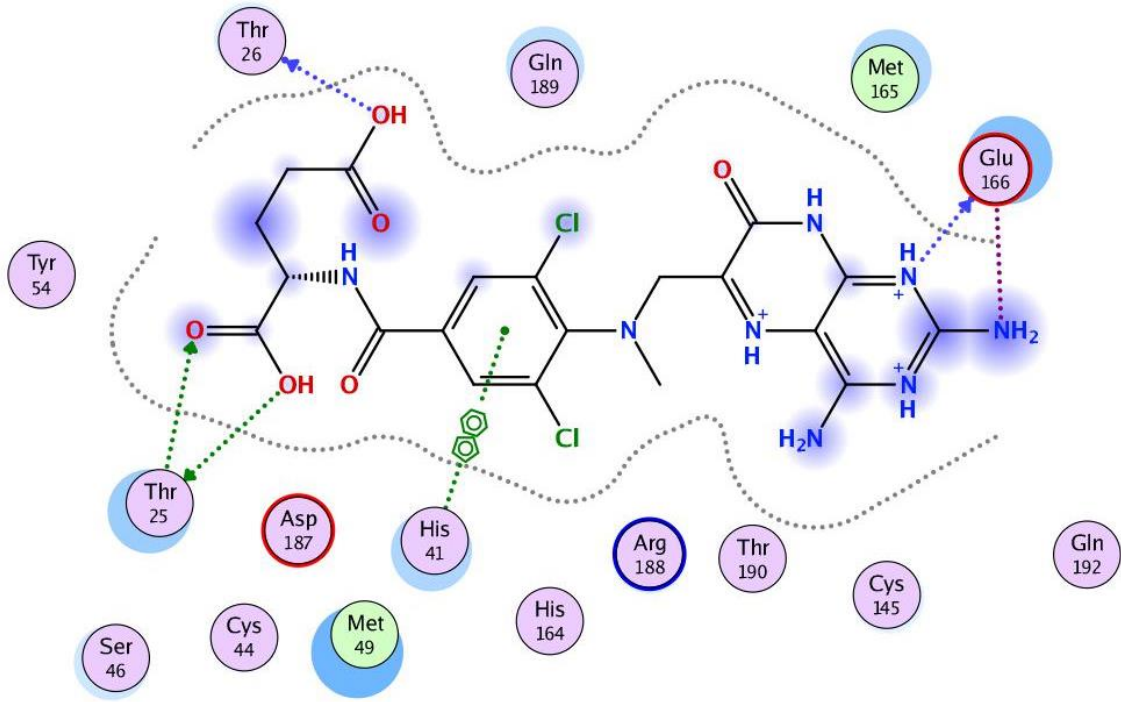


Fig 9.- Ligando MproL5 con los residuos de la Mpro que están interaccionando, se observan a los residuos Thr #25, Thr #26, His #41 y Glu #166.

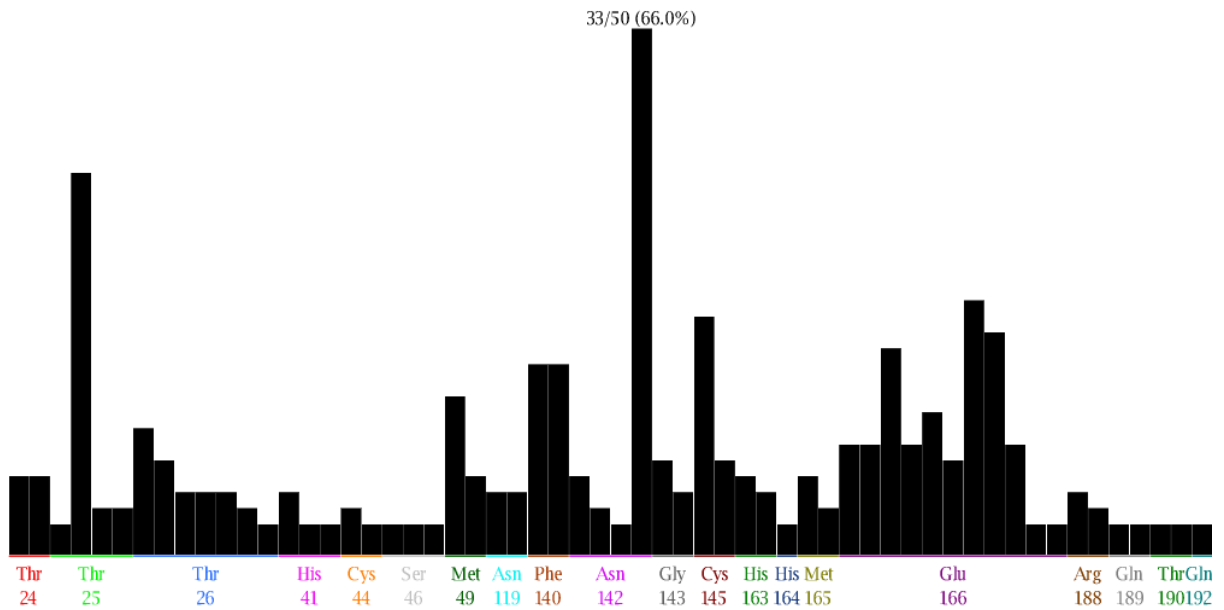


Fig 10.- PLIF del ligando MproL5, los residuos que están con mayor contacto es Gly#143, Thr #25, Glu# 166 y Cys #145

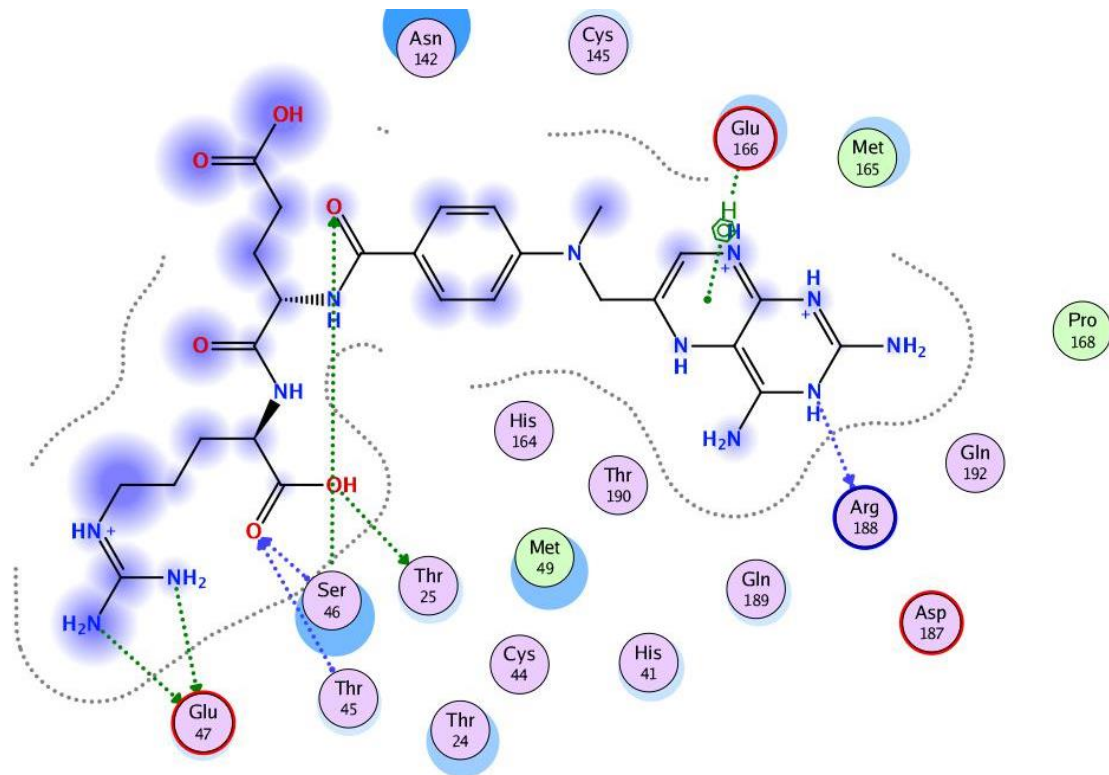


Fig 11.- Ligando MproL6 con los residuos que tiene una unión, los residuos son Glu#166, Arg #188, Ser #46, Thr #25, Thr #45 y Glu #47

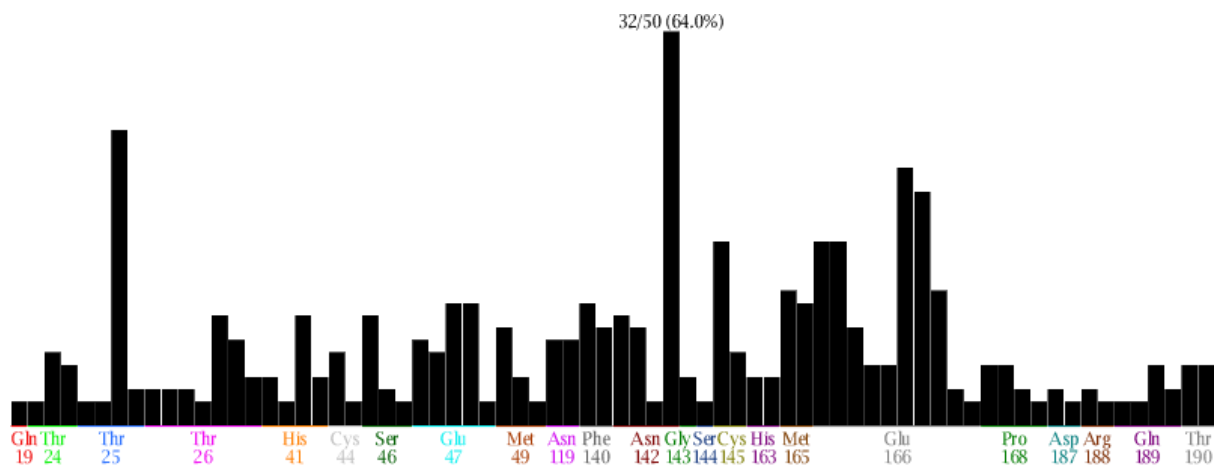


Fig 12.- PLIF del ligando MproL6, los residuos que tienen mayor interacción son Asn #142, Thr #25, Glu #166 y Cys #145

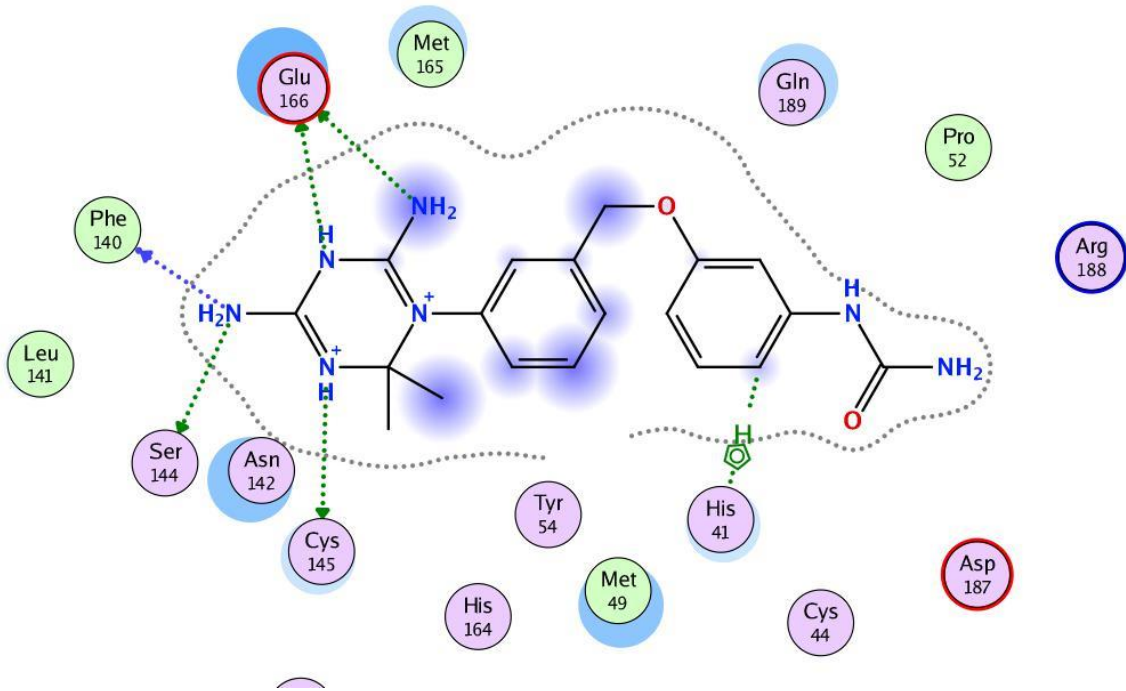


Fig 13.- Ligando MproL7 que tienen una unión con los residuos de Ser #144, Glu #166, Phe #140 y His #41

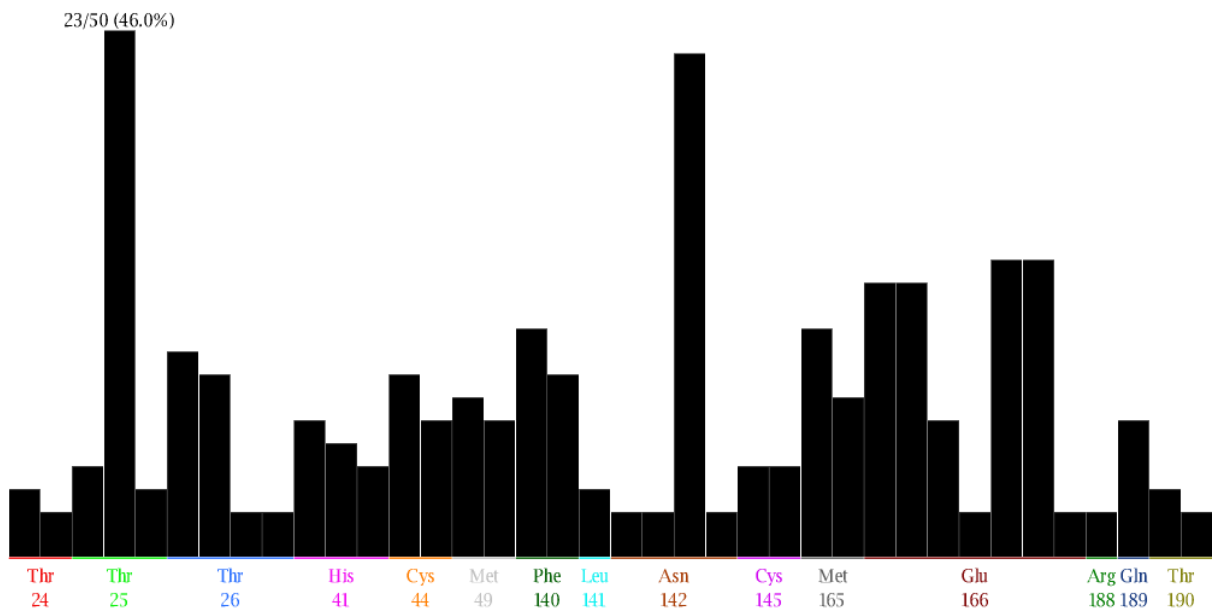


Fig 14.- PLIF del ligando MproL7 con los residuos que más interactúan estos son Thr #25, Asn #142, Glu #166 y Met #165

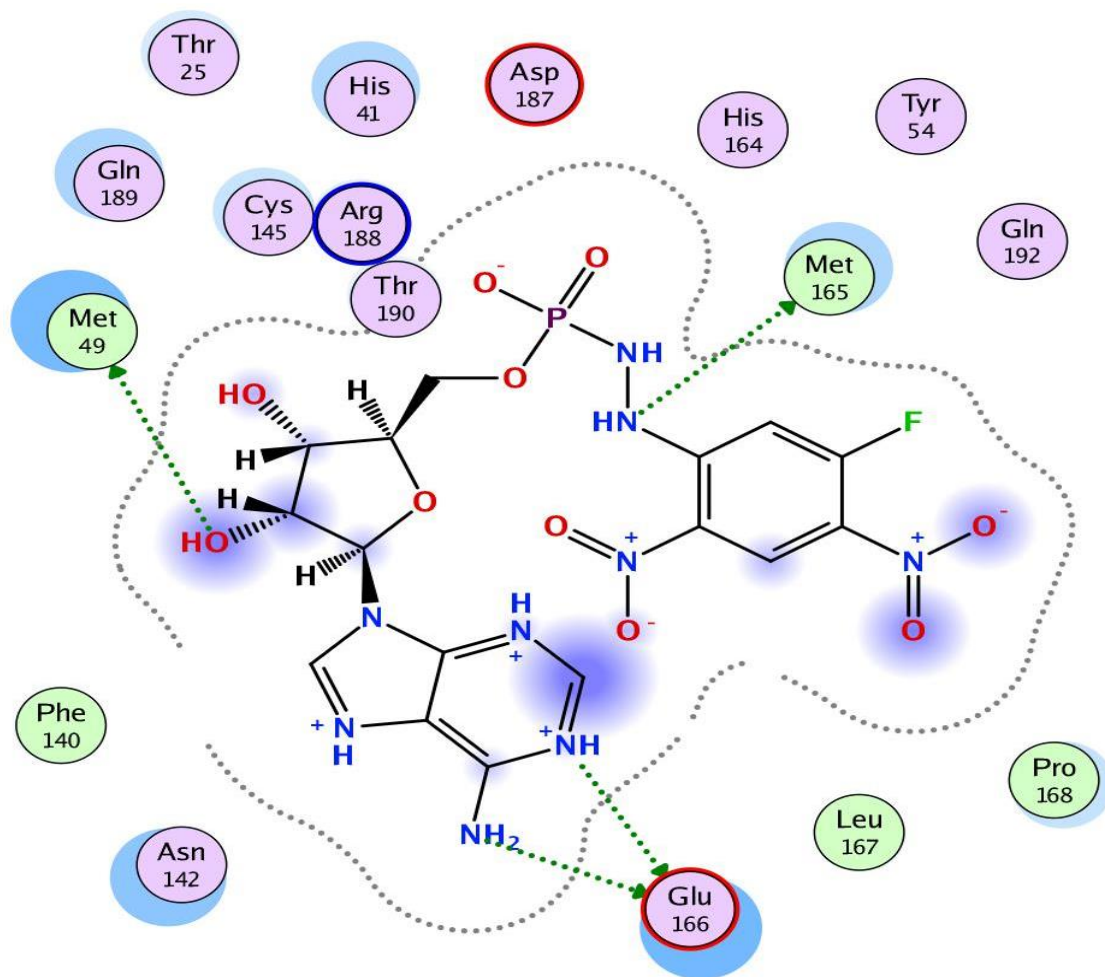


Fig 15.- Ligando MproL8 en unión con los residuos Met #49, Met #165 y Glu #166.

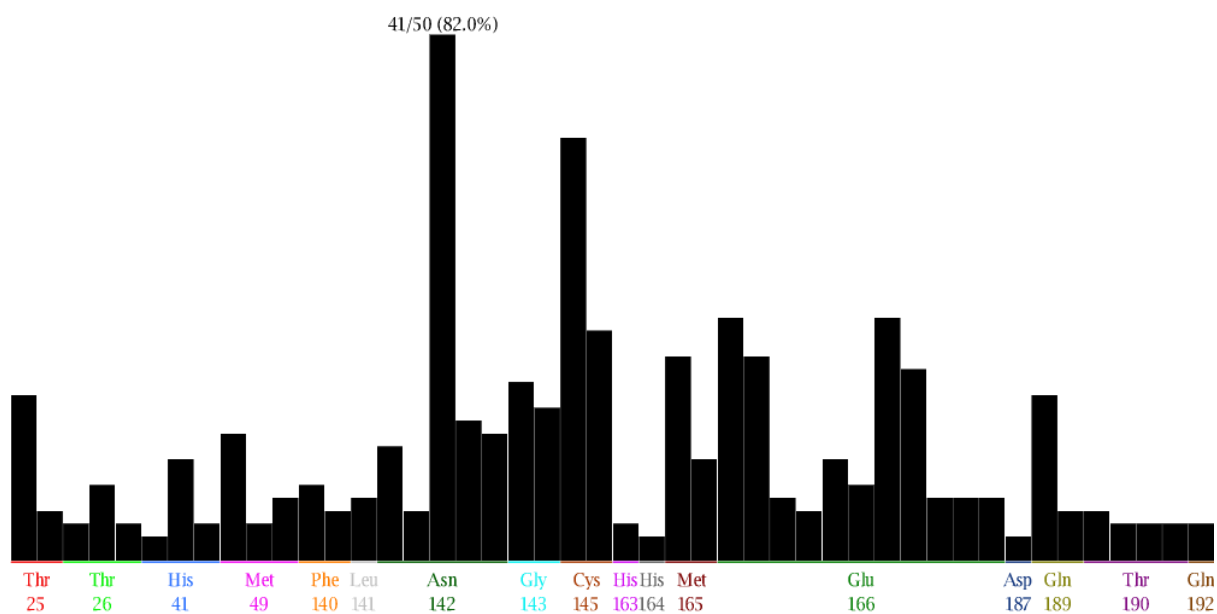


Fig 16.- PLIF del ligando MproL8, residuos con mayor interacción Asn #142, Cys #145, Glu #166, Met #165 y Thr #25



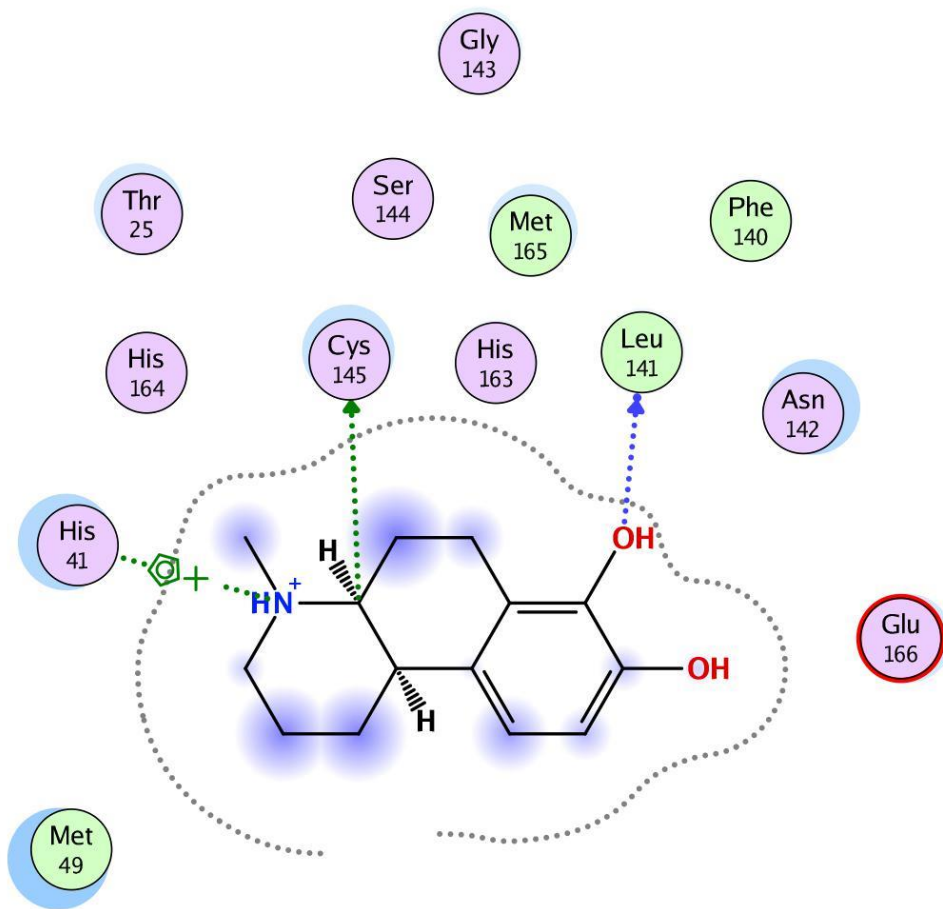


Fig 17.- Ligando MproL9 con interacción con His #41, Cys #145 y Leu #141

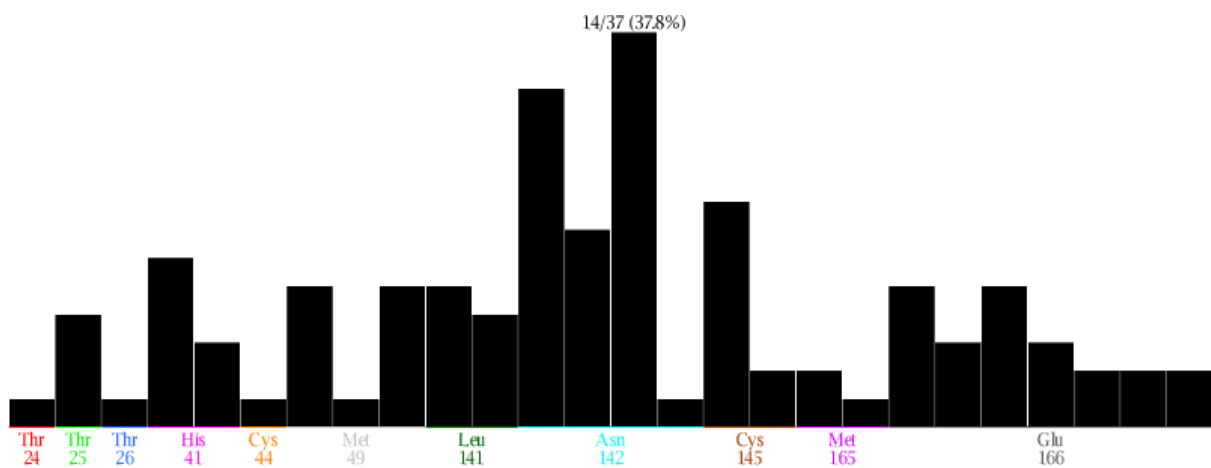


Fig 18.- PLIF del ligando MproL9 con residuos con mayor interacción estos son Asn #142, Leu #141, His #41 y Glu #166

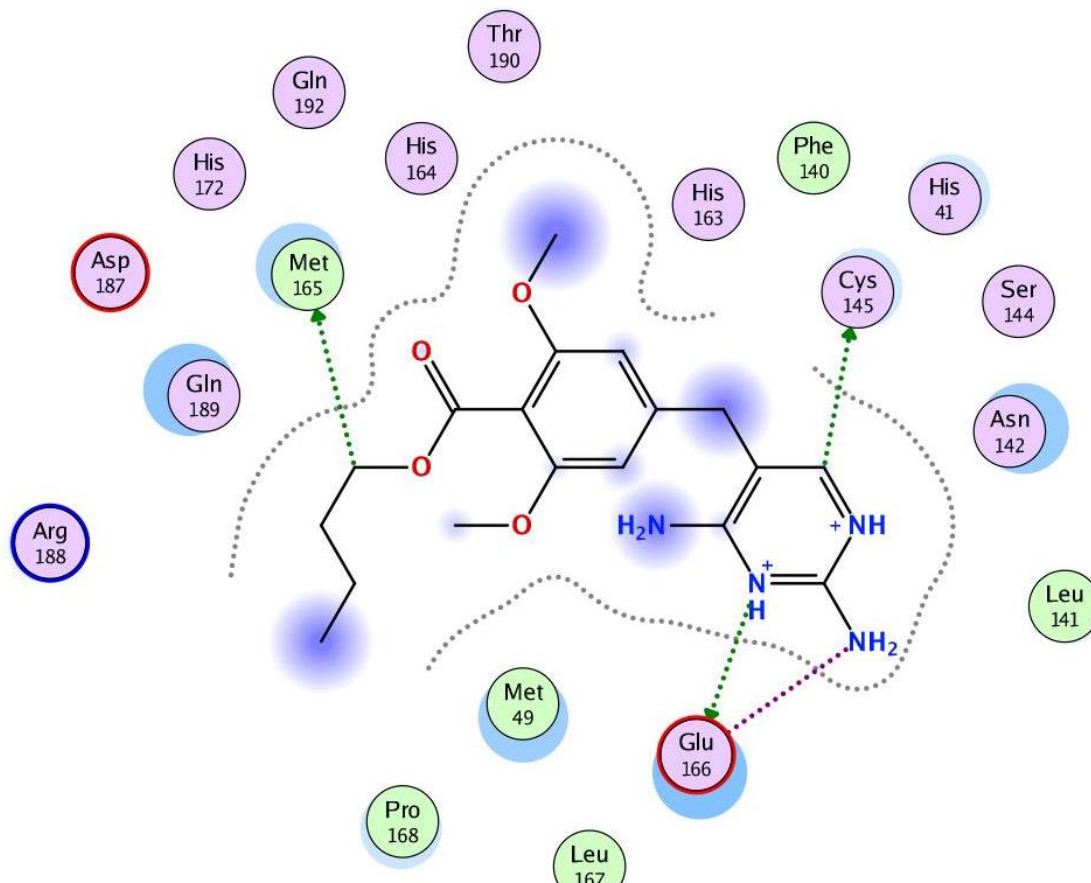


Fig 19.- Ligando MproL10 con interacción con los residuos Met #165, Cys #145 y Glu #166

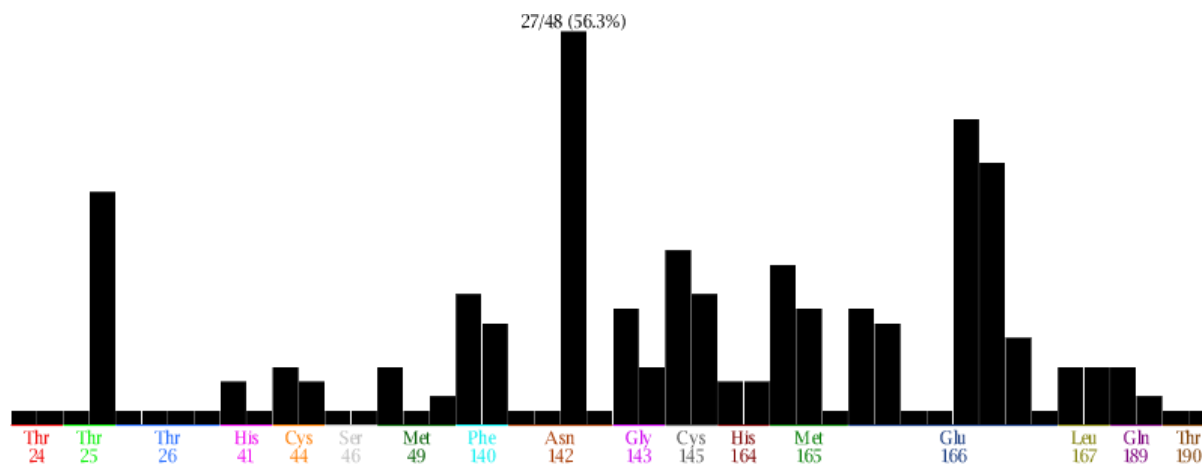


Fig 20.- PLIF del ligando MproL10 en este muestran los residuos con mayor interacción estos son Asn #142, Glu #166, Thr #25, Cys #145 y Met #165

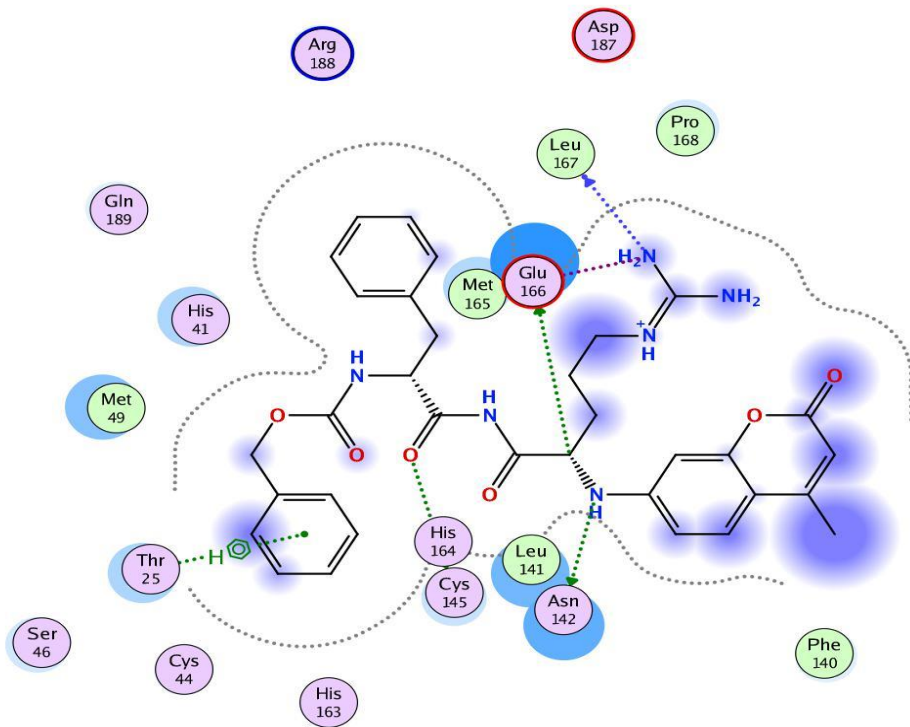


Fig 21.- Ligando MproL10 interacción con los residuos Glu #166, Leu #167, His #164 y Asn # 142

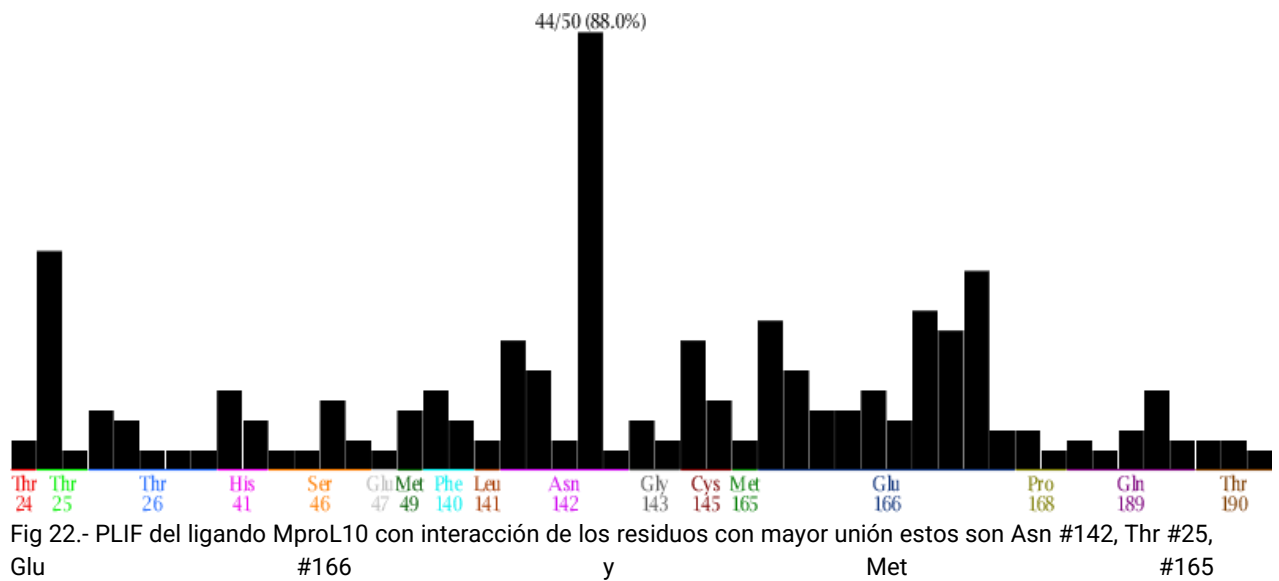


Fig 22.- PLIF del ligando MproL10 con interacción de los residuos con mayor unión estos son Asn #142, Thr #25, Glu #166 y Met #165

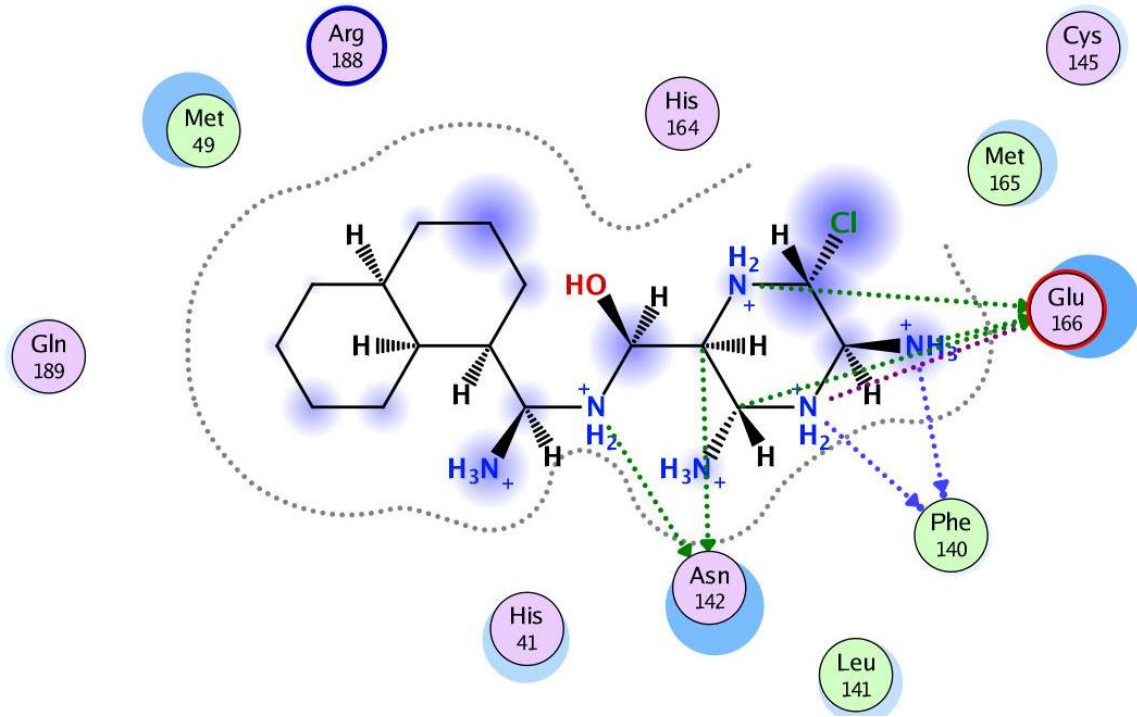


Fig 23.- Ligando MproL11 con interacción con los residuos Glu #166, Asn #142 y Phe #140

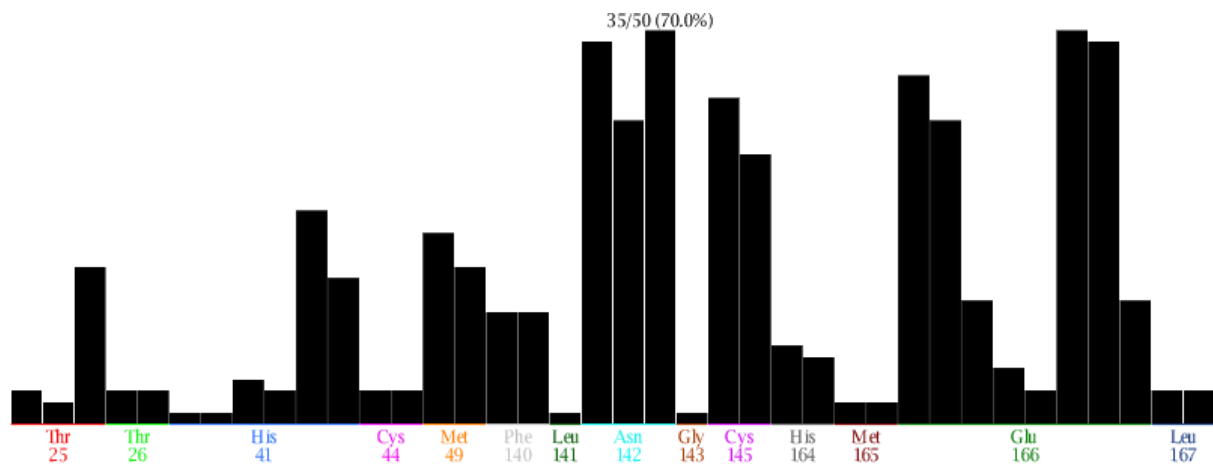


Fig 24.- PLIF del ligando MproL11 y muestra los residuos con mayor unión, Asn #142, Glu #166, Cys #145, His #41 y Thr #25

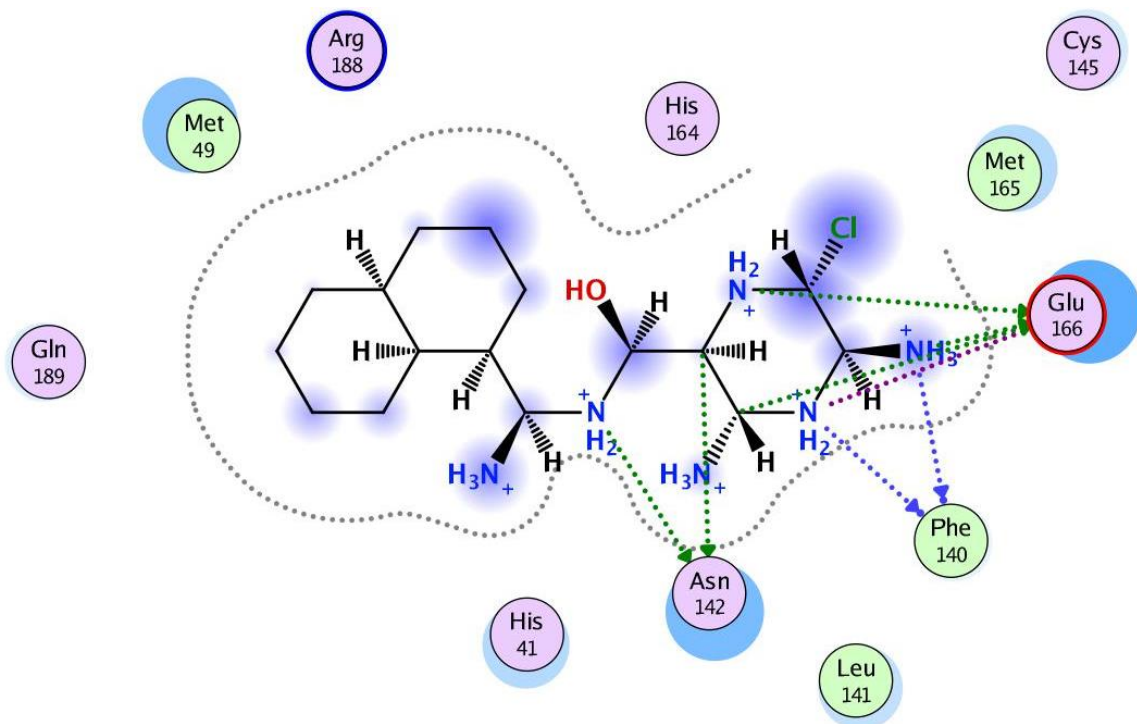


Fig 25.- Ligando MproL12 interacción con los residuos Glu #166, Phe #140 y Asn #142,

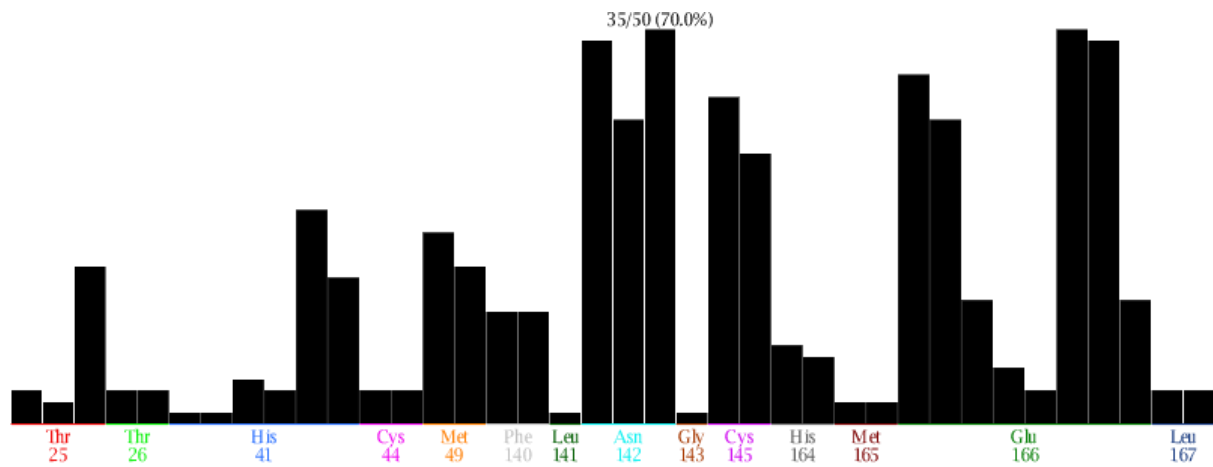


Fig 26.- PLIF del ligando MproL12 con interacción con los residuos Asn #142, Glu #166, Cys #145, Met #49, His #41 y Thr #25.

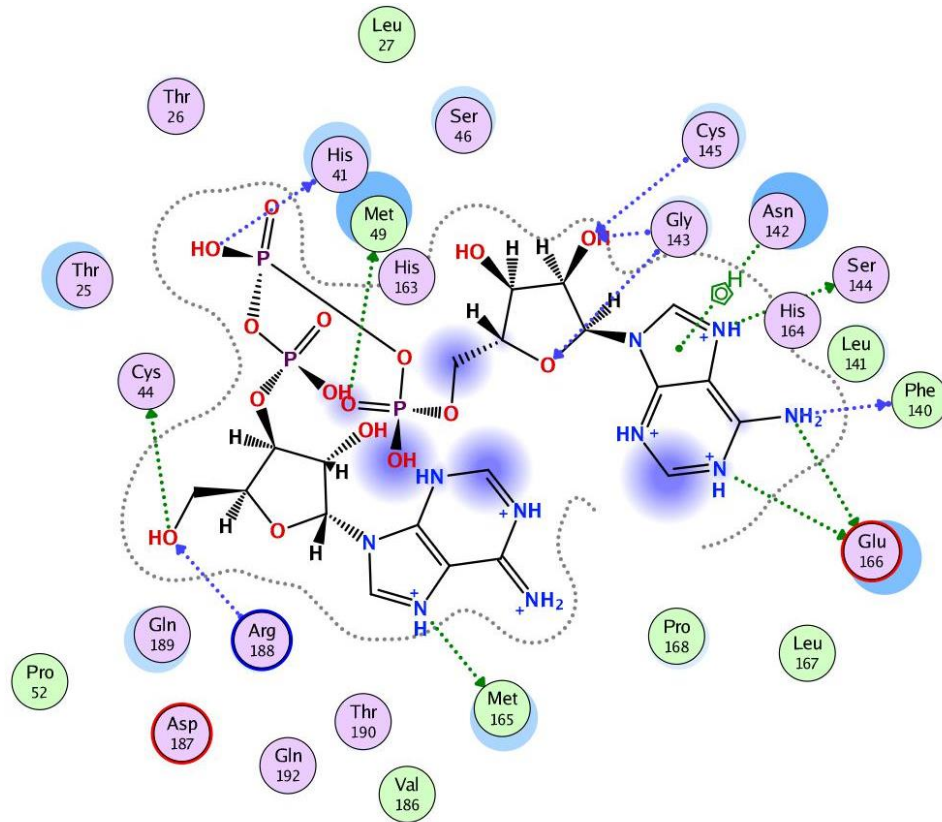


Fig 27.- Ligando MproL13, este ligando tiene interacción con los residuos de la proteasa Mpro, los residuos son Cys #145, Asn #142, His #41, Glu #166, Phe #140, Met #49, Cys #44 Gly #143 y Ser #144

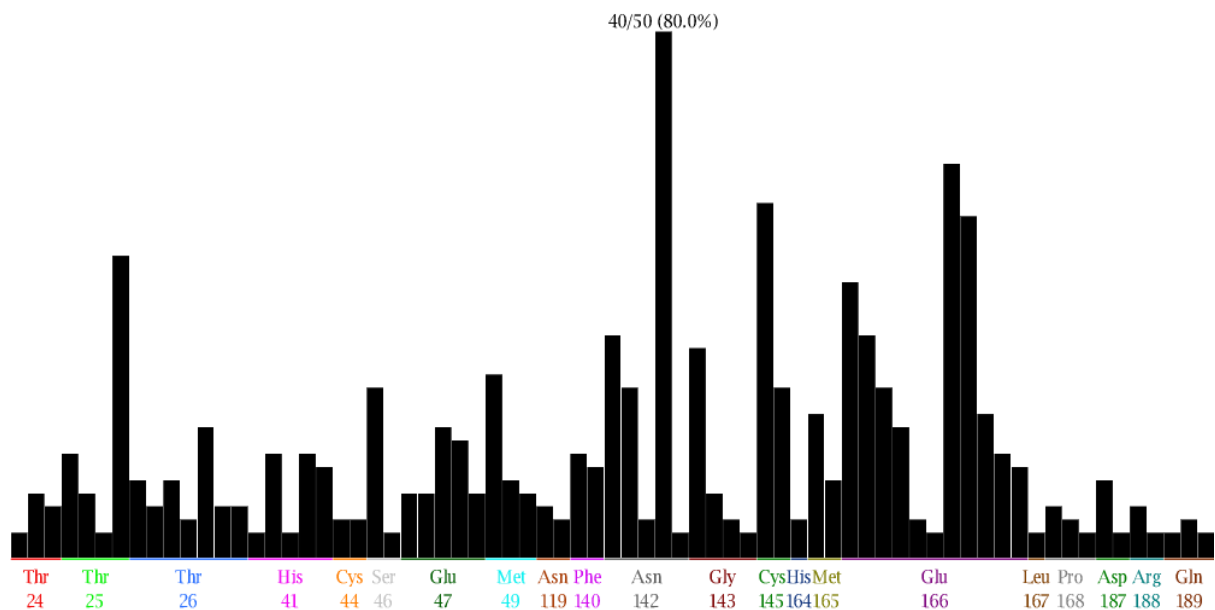


Fig 28.- PLIF del ligando MproL13, los residuos con mayor interacción con el ligando son Asn #142, Glu #166, Cys #145, Thr #25 y Met #49

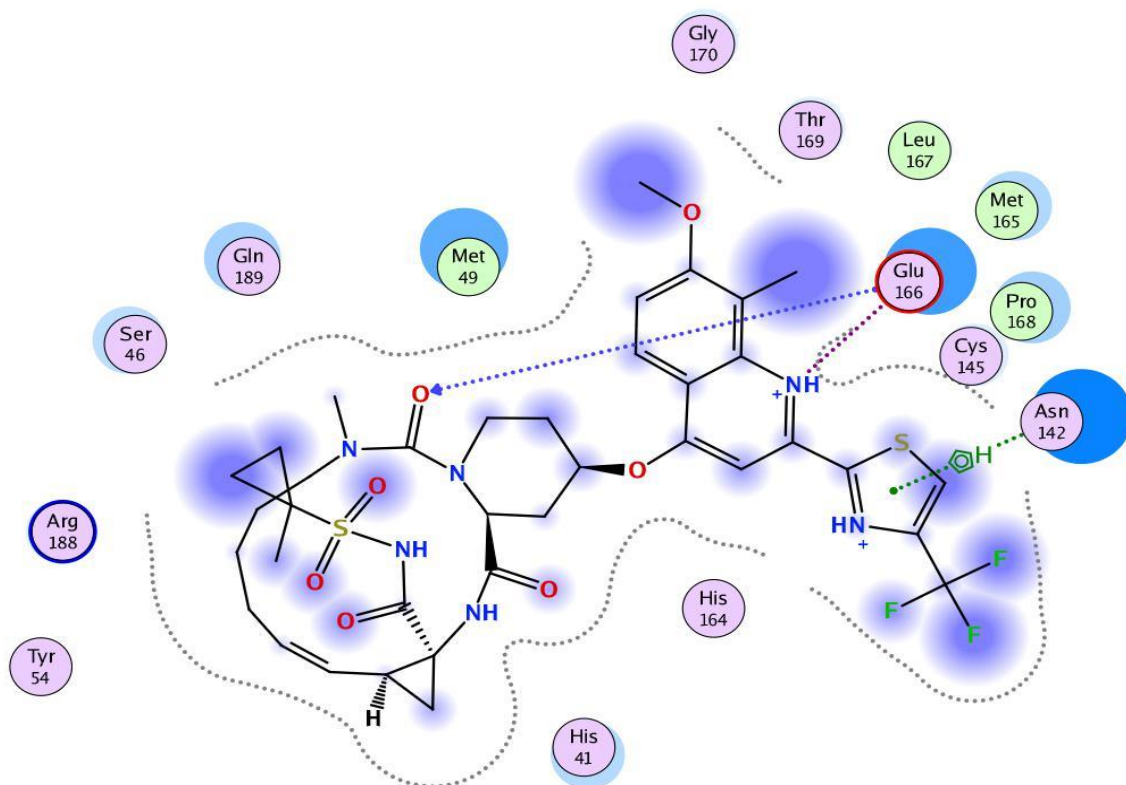


Fig 29.- Ligando MproL14, este ligando está interaccionando con residuos de la Mpro, los residuos son: Glu #166 y Asn #142.

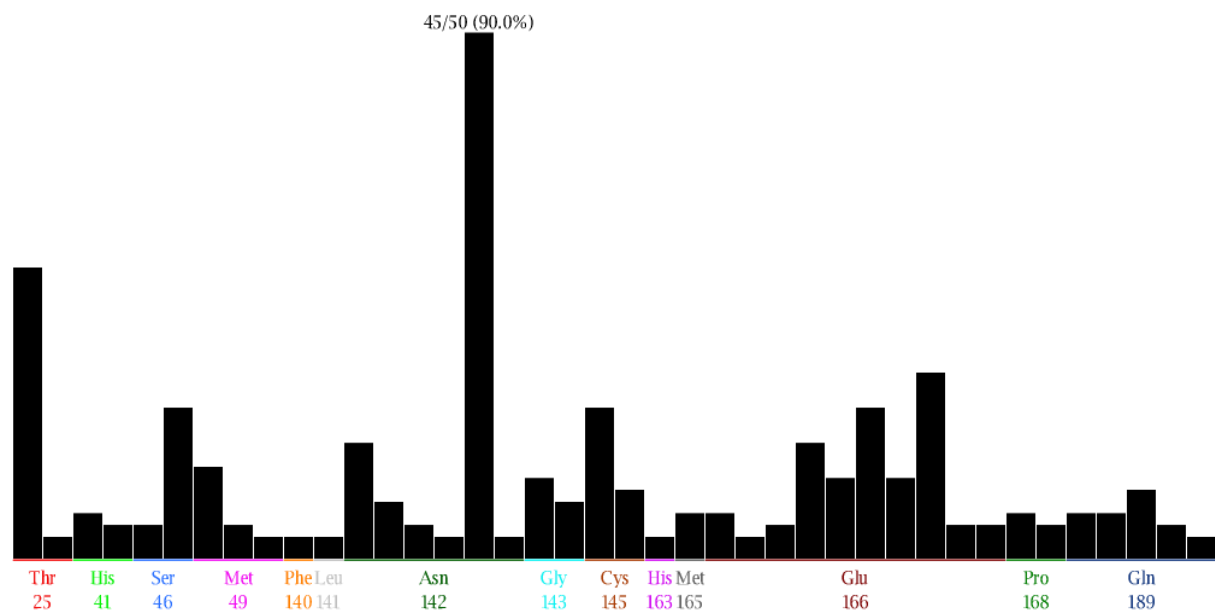


Fig 30.- PLIF del ligando MproL14, los residuos que tienen mayor contacto con el ligando son, Asn # 142, Thr 25, Glu # 166 y Cys #145.



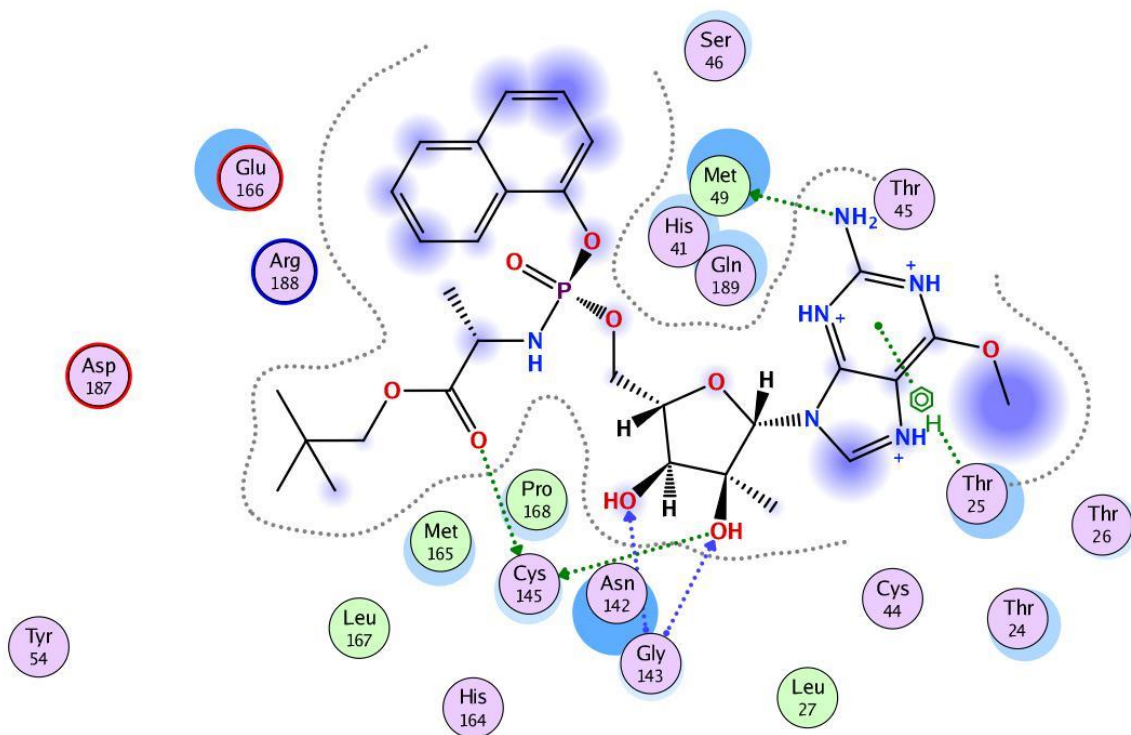


Fig 31.- Ligando MproL15 que está interaccionando con los residuos Cys #145, Gly #143, Thr 25 y Met #49 de la proteasa del SARS-CoV-2.

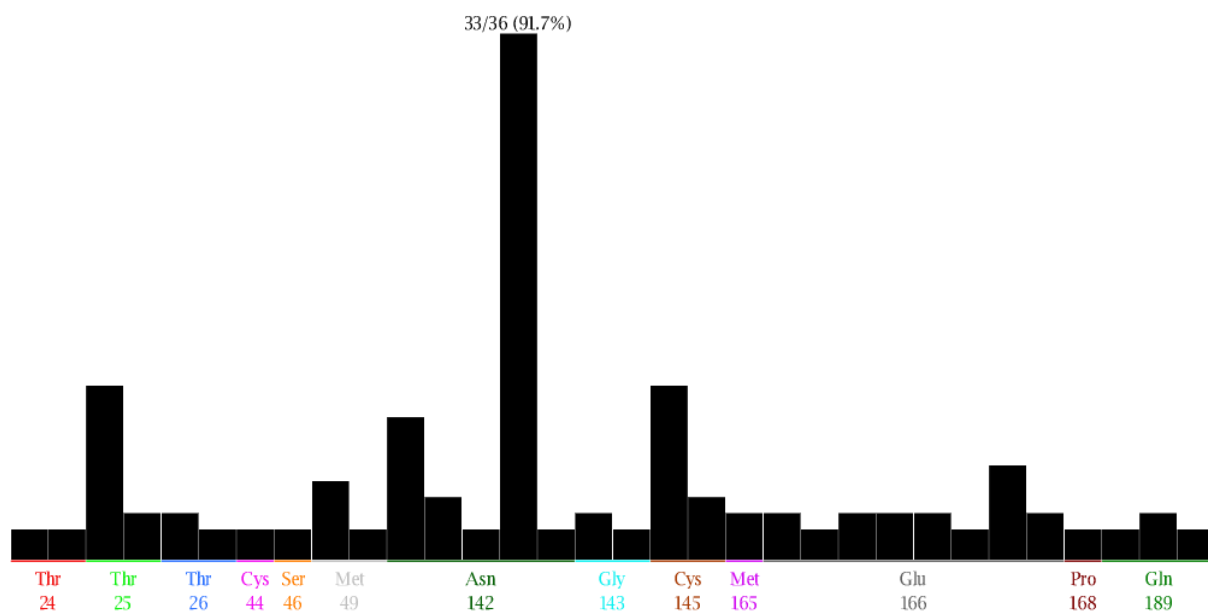


Fig 32.- PLIF del ligando MproL15 en el que muestra los aminoácidos que tiene mayor interacción estos son: Asn #142, Cys #145 y Thr #25

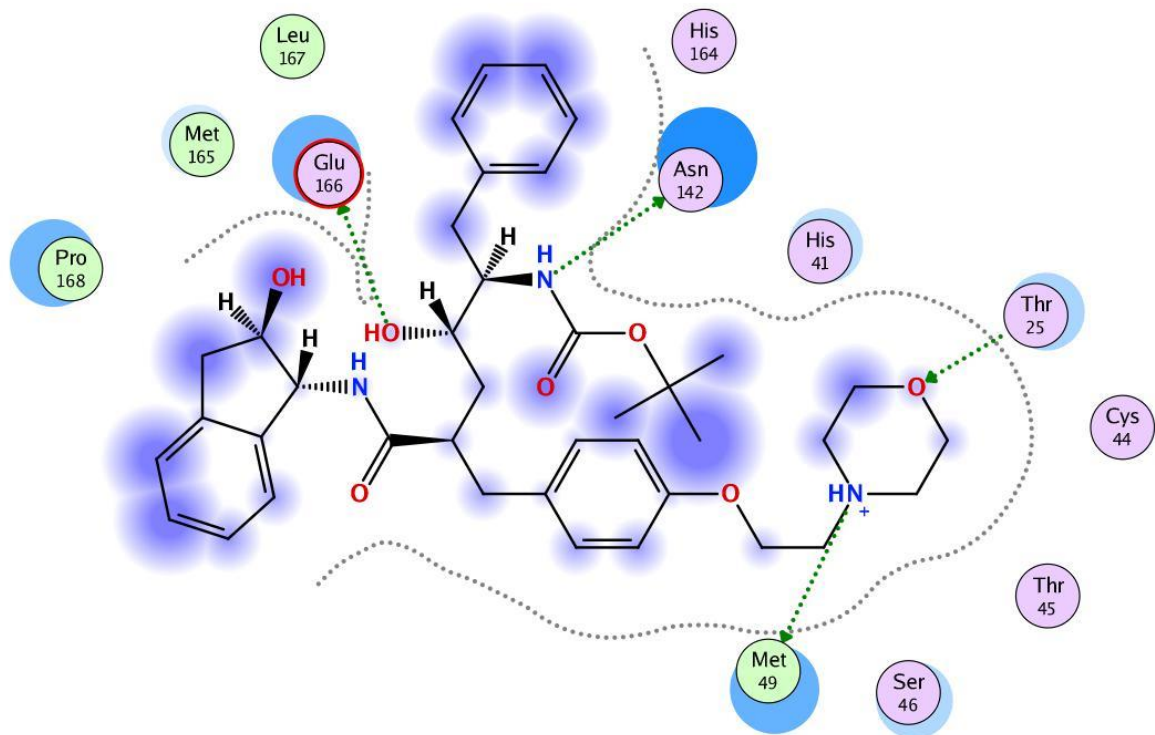


Fig 33.- Ligando MproL16 que está interaccionando con los residuos Glu #166, Asn #142, Thr #25 y Met #49 del SARS-CoV-2.

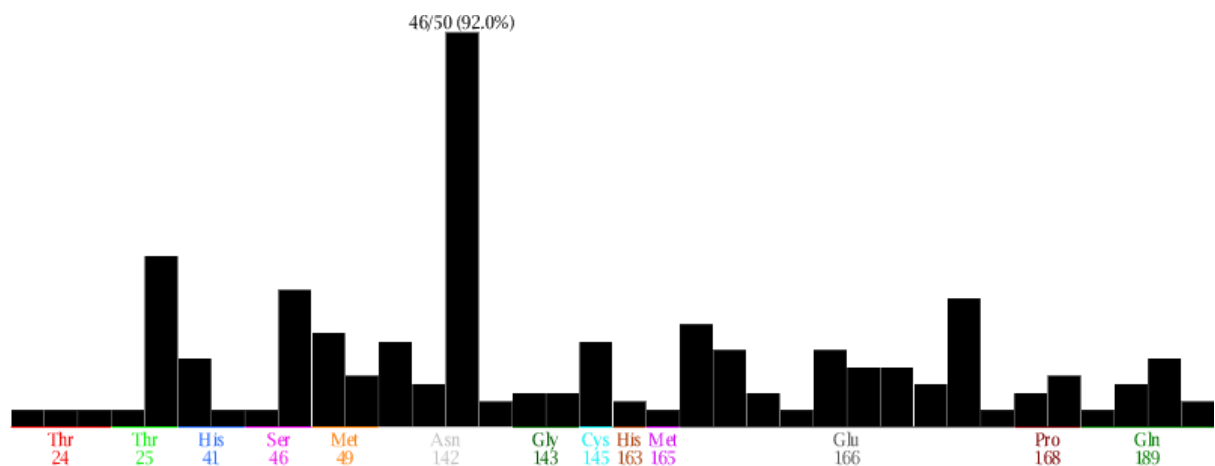


Fig 34.- PLIF del MproL16 en el que muestra los aminoácidos que tienen mayor interacción, estos son: Asn #142, Glu #166 y Thr #25.

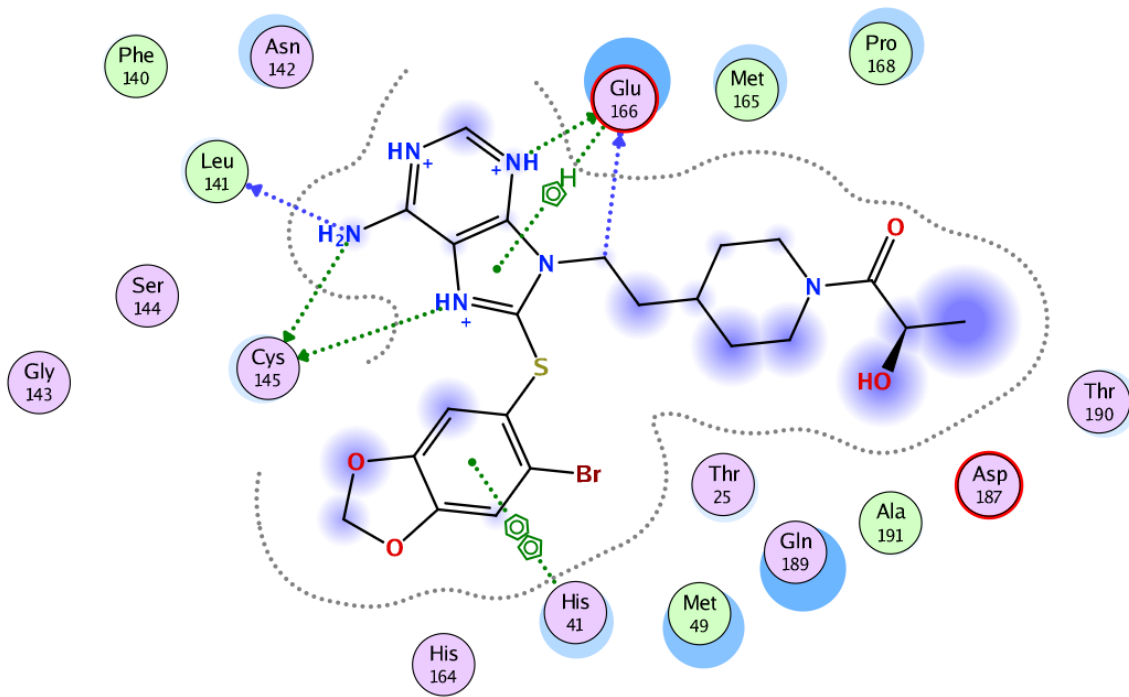


Fig 35.- Ligando MproL17 que están interaccionando con los siguientes residuos, Glu #166, Cys #145, Leu #141 y His #41

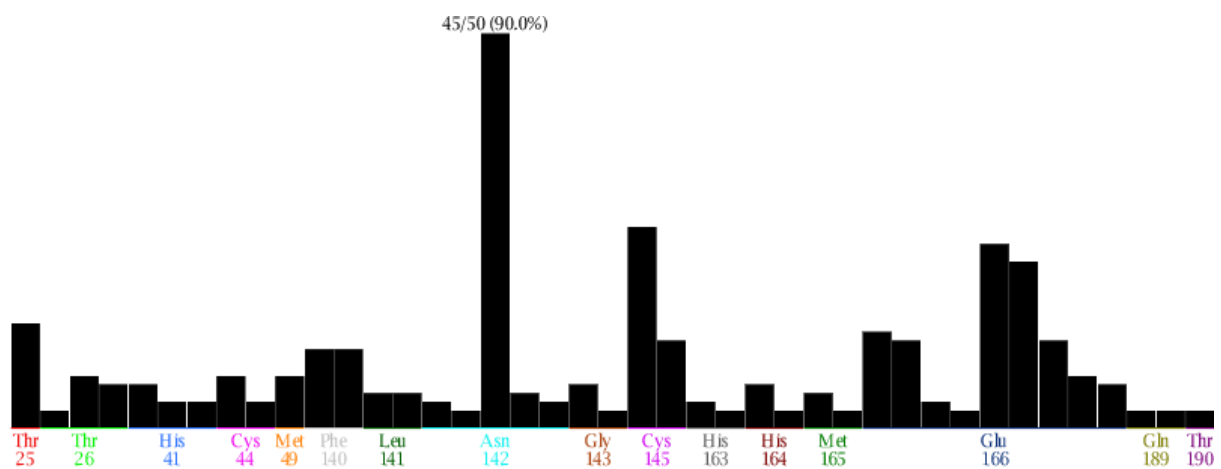


Fig 36.- PLIF del ligando MproL17 en el que muestran los residuos con mayor interacción con el ligando, estos son los residuos : Asn #142, Cys #145, Glu #166 y Thr #25

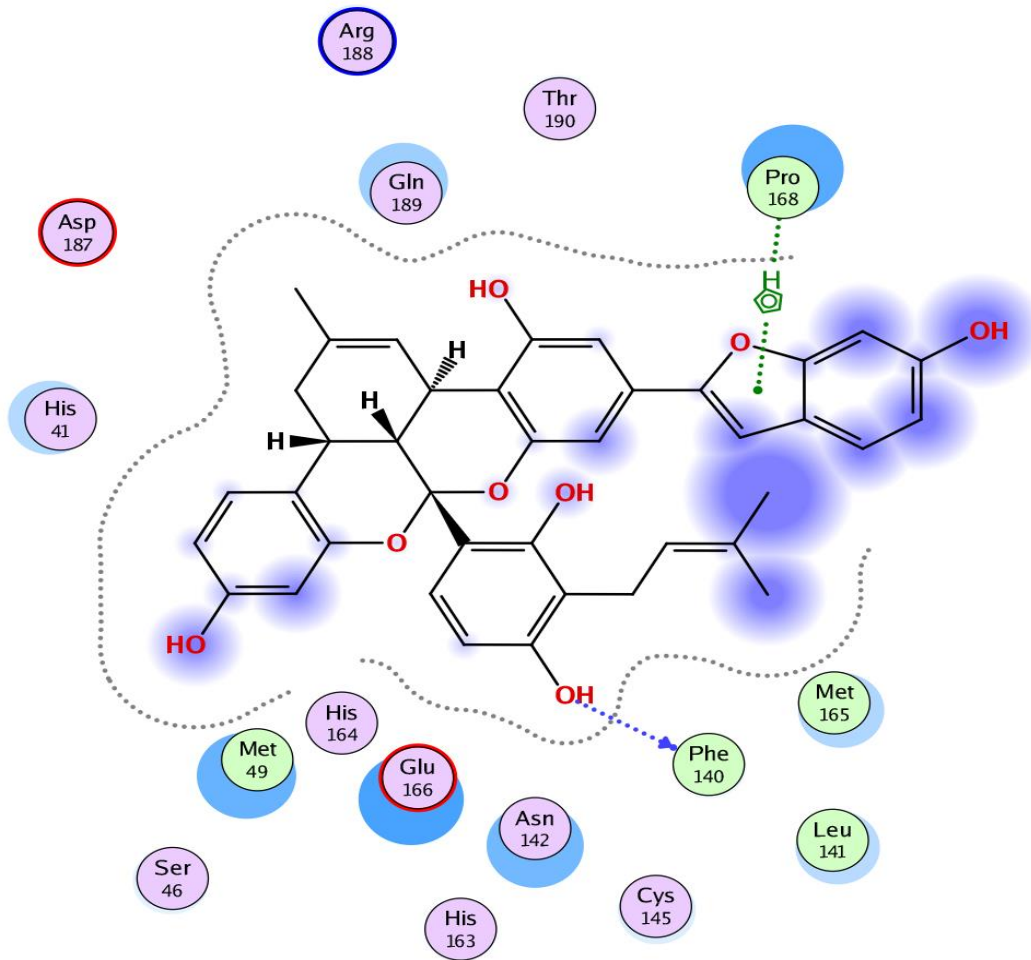


Fig 37.- Ligando MproL18 que está interaccionando con los residuos Phe #140 y Pro #168 de la proteasa del SARS-CoV-2

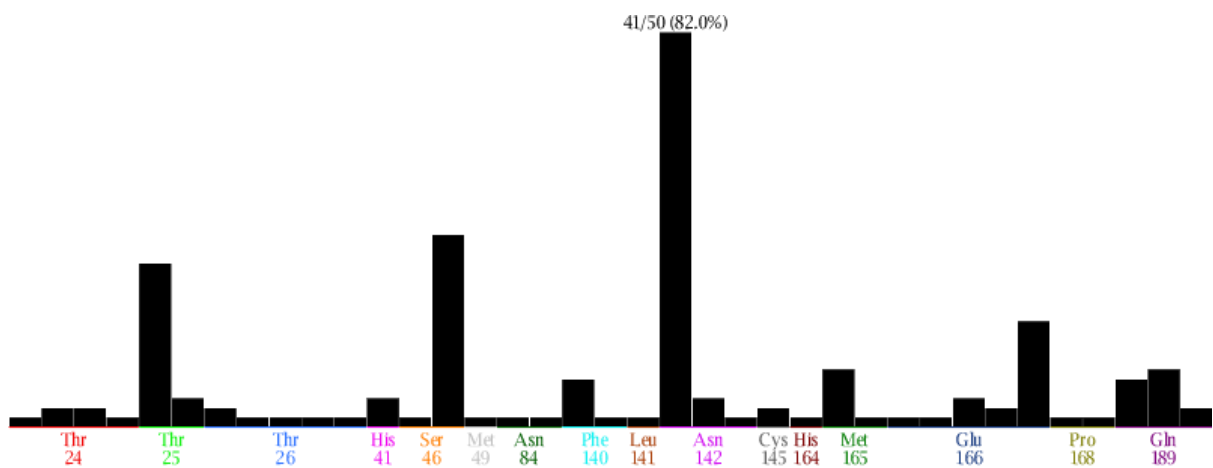


Fig 38.- PLIF del ligando MproL18 que muestra los aminoácidos con mayor interacción con el ligando estos son: Asn #142, Ser #46, Thr #25 y Glu #166.

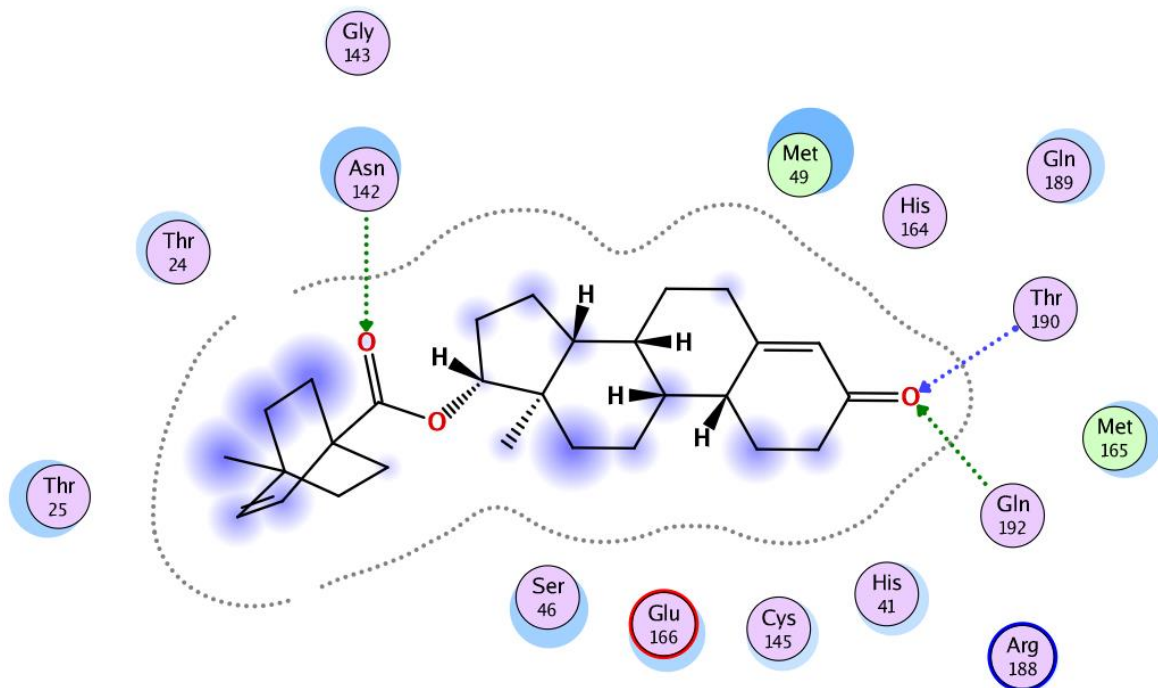


Fig 39.- Ligando MproL19 que está interaccionando con los residuos Asn #142, Gln #192 y Thr #190.

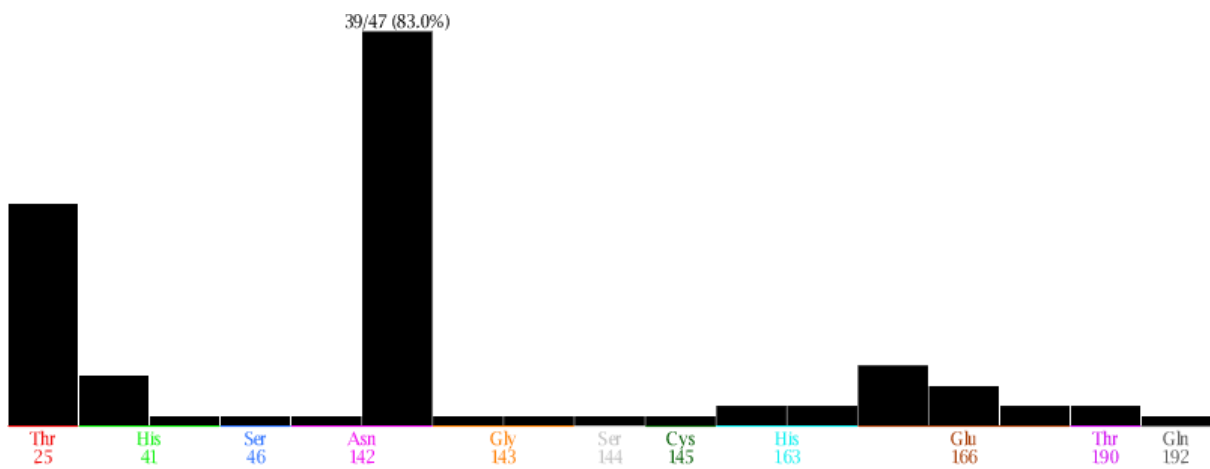


Fig 40.- PLIF del ligando MproL19 que muestra los residuos con mayor interacción estos son: Asn #142, Thr #25 y Glu #166

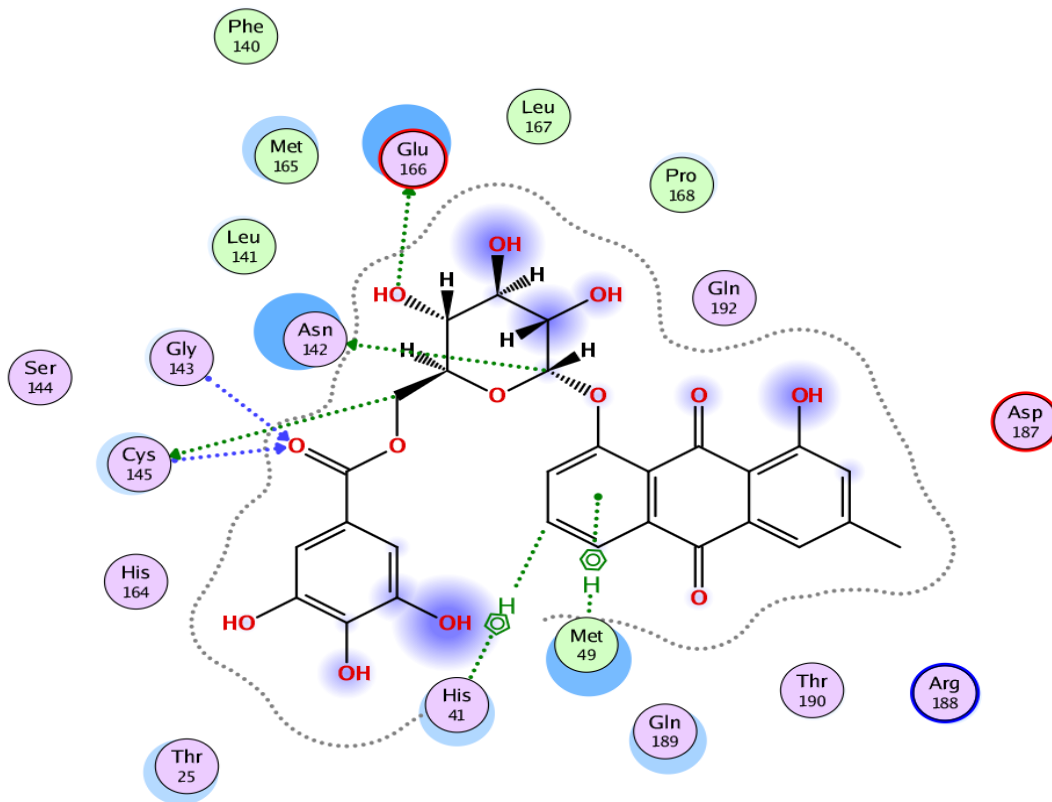


Fig 41.- Ligando MproL20 que tiene interacción con los siguientes residuos Asn #142, Cys #145, Gly #143, His #41, Met #49 y Glu #166.

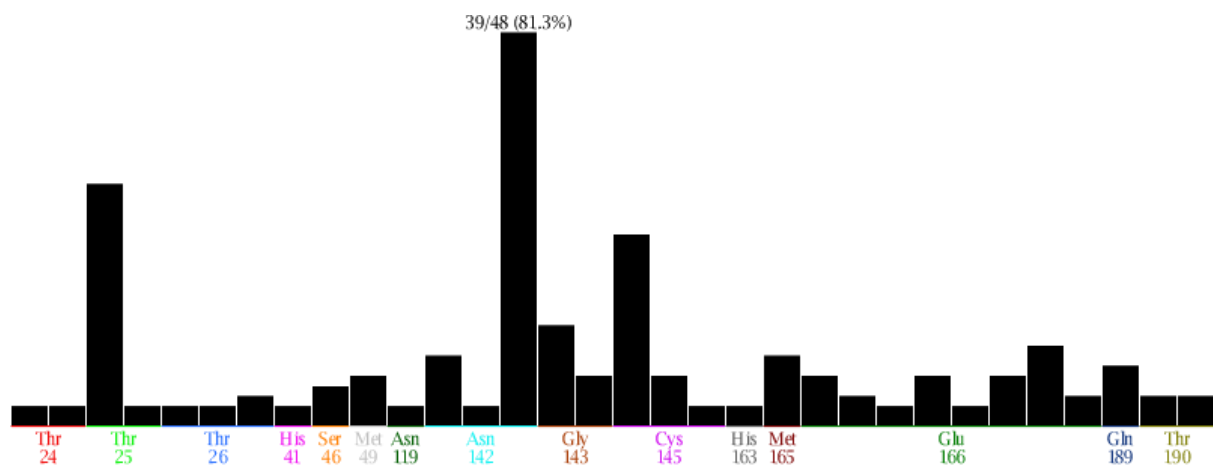


Fig 42.- PLIF del ligando MproL20 en el que muestran los aminoácidos con mayor interacción en el pocket, estos son: Asn #142, Thr #25, Cys #145, Met #165 y Glu #166

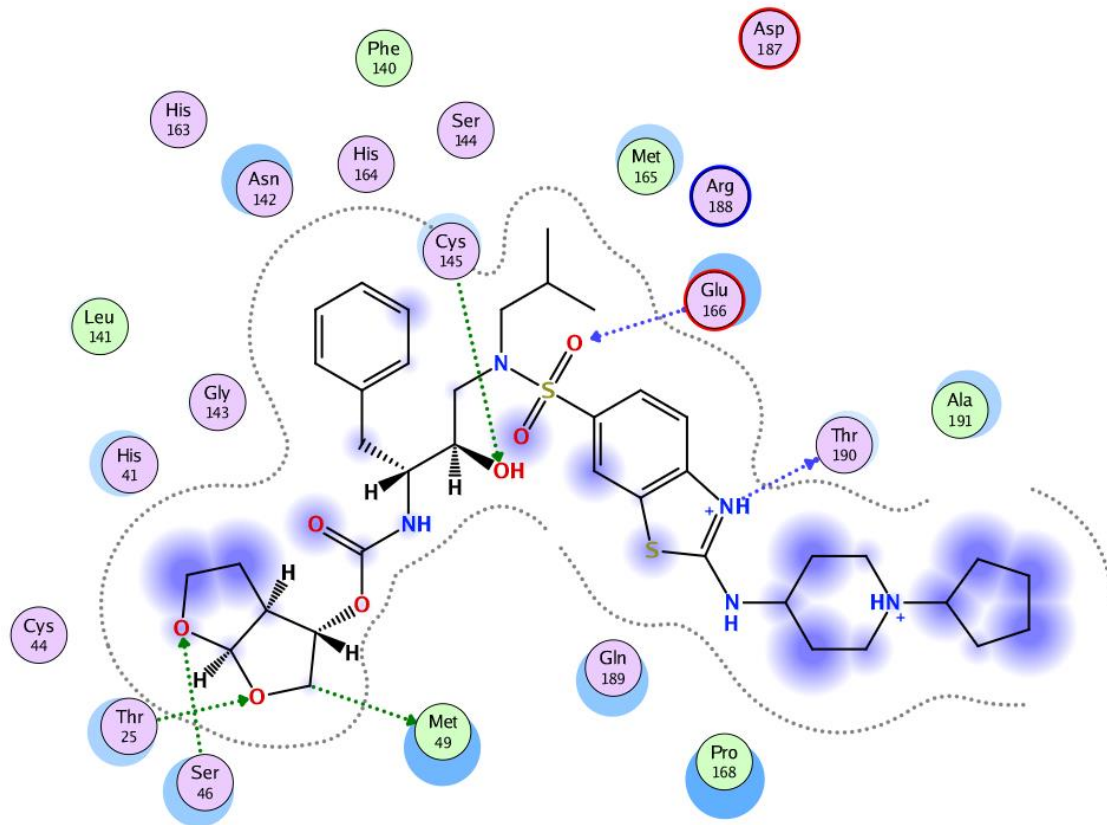


Fig 43.- Ligando MproL21 en el que están interaccionando los residuos Cys #145, Glu #166, Met #49, Thr #25, Thr #190 y Ser #46

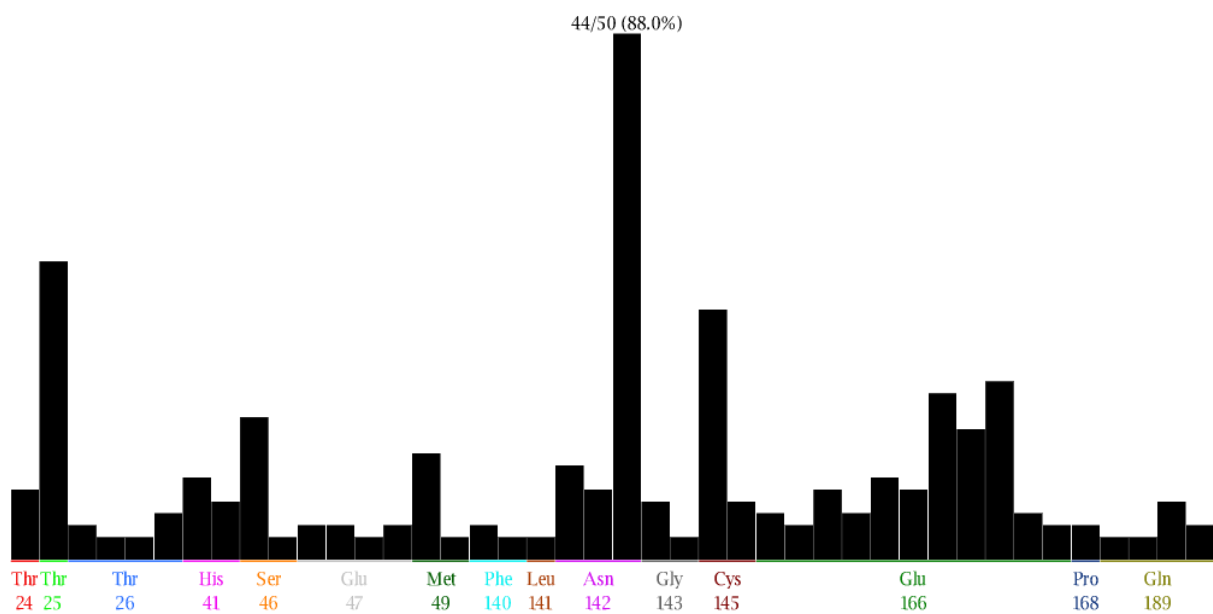


Fig 44.- PLIF del ligando MproL21 en que muestra los aminoácidos con mayor interacción estos son Asn #142, Glu #166, His #41, Met 49, Thr #25 y Cys #145.



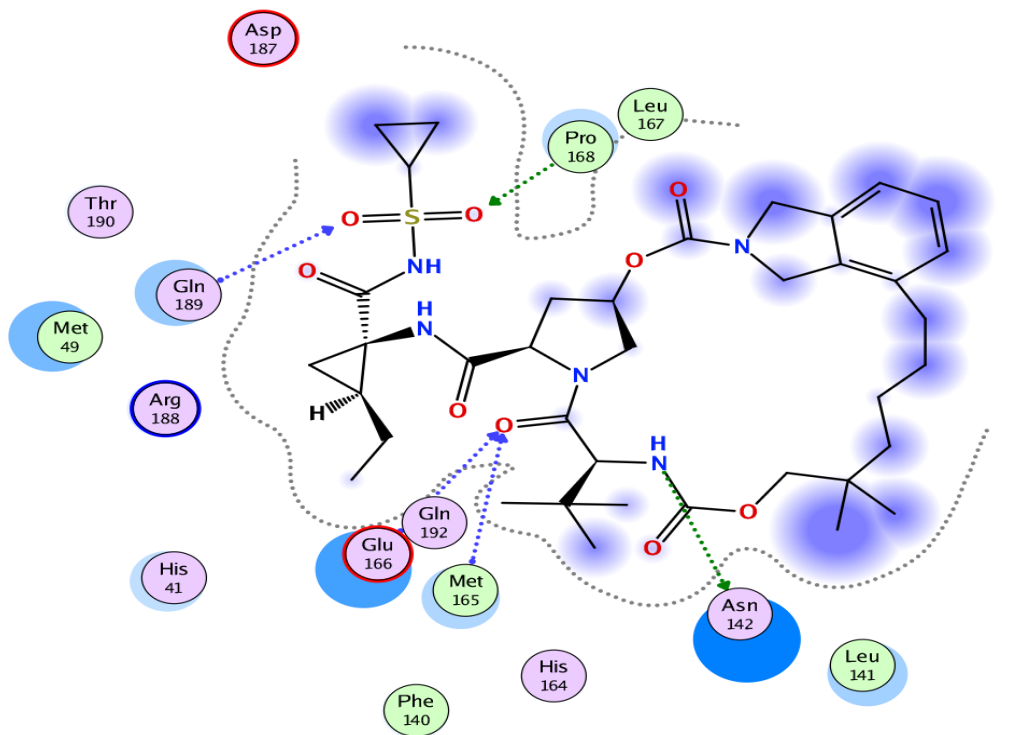


Fig 45.- Ligando MproL22 que muestra la interacción con los aminoácidos Asn #142, Glu #166, Met #165, Gln #189 y Pro #168

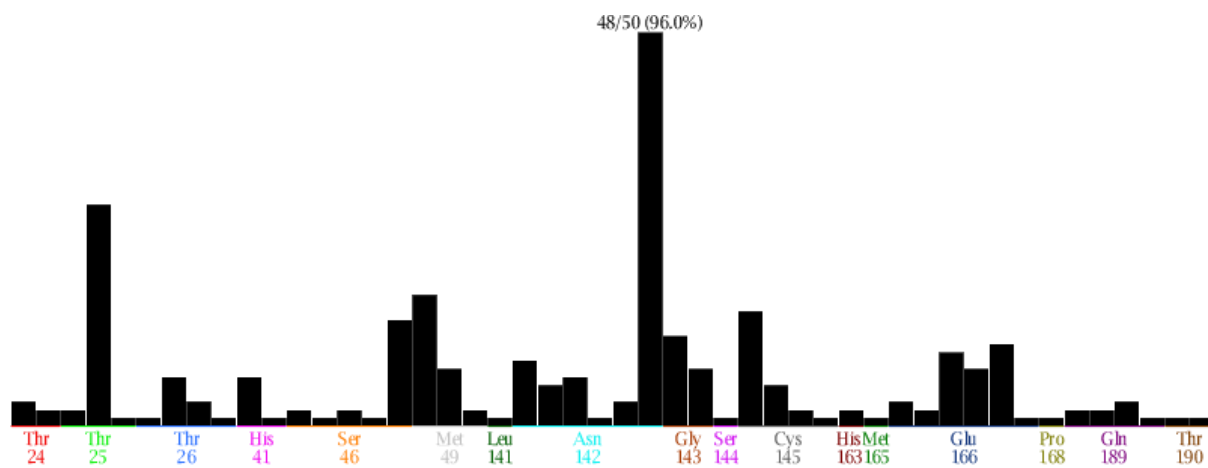


Fig 46.- PLIF del ligando MproL22 en el que muestra los aminoácidos con mayor interacción estos son Asn #142, Thr #25, Glu #166, Met #49 y Cys #145.

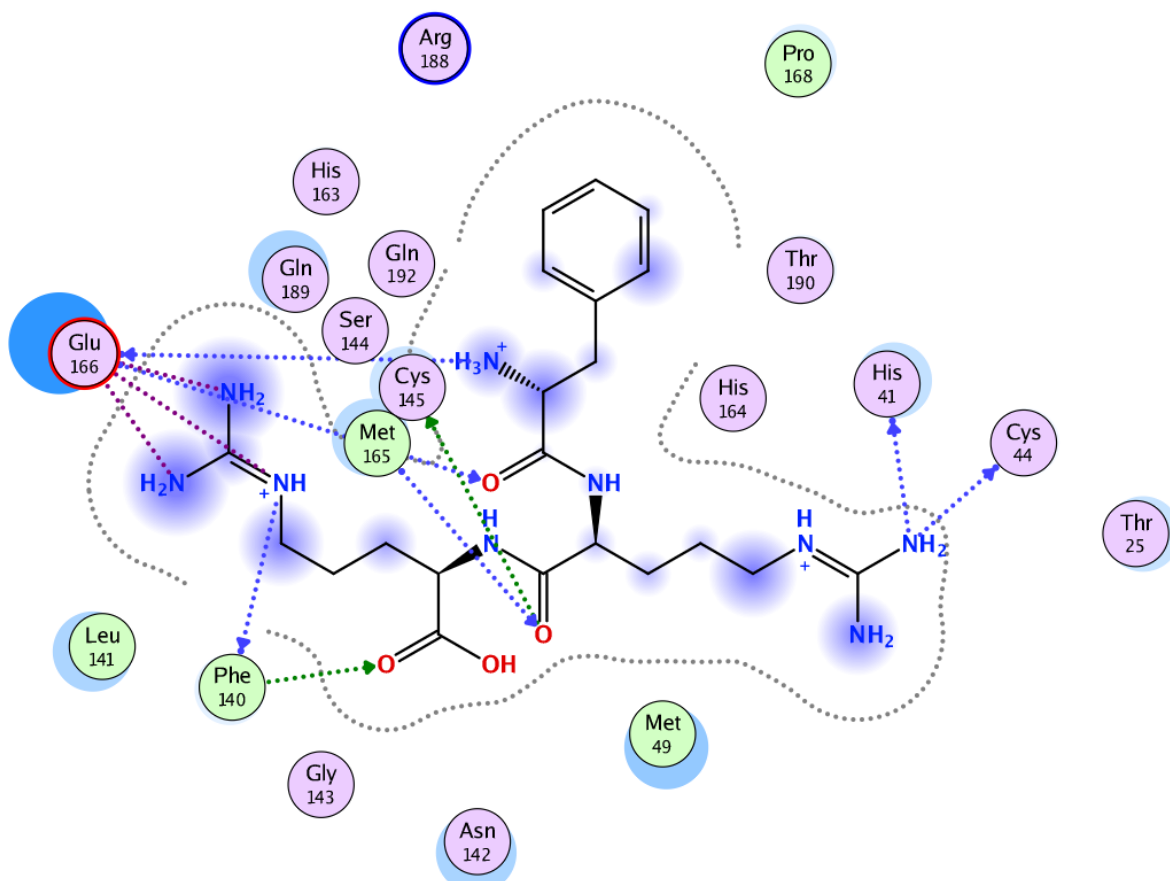


Fig 47.- Ligando MproL23, este está interaccionando con los aminoácidos His #41, Cys #44, Glu #166, Cys #145, Phe #140 y Met #165.

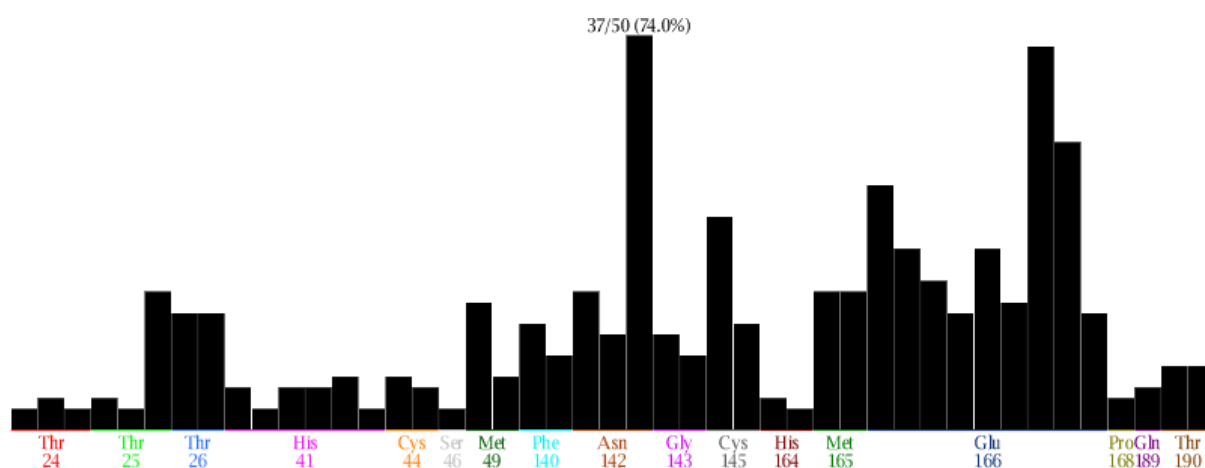


Fig 48.- PLIF del ligando MproL23 en el que muestra los aminoácidos con mayor interacción estos son: Asn #142, Glu #166, Cys #145, Thr #26 y Met #49.

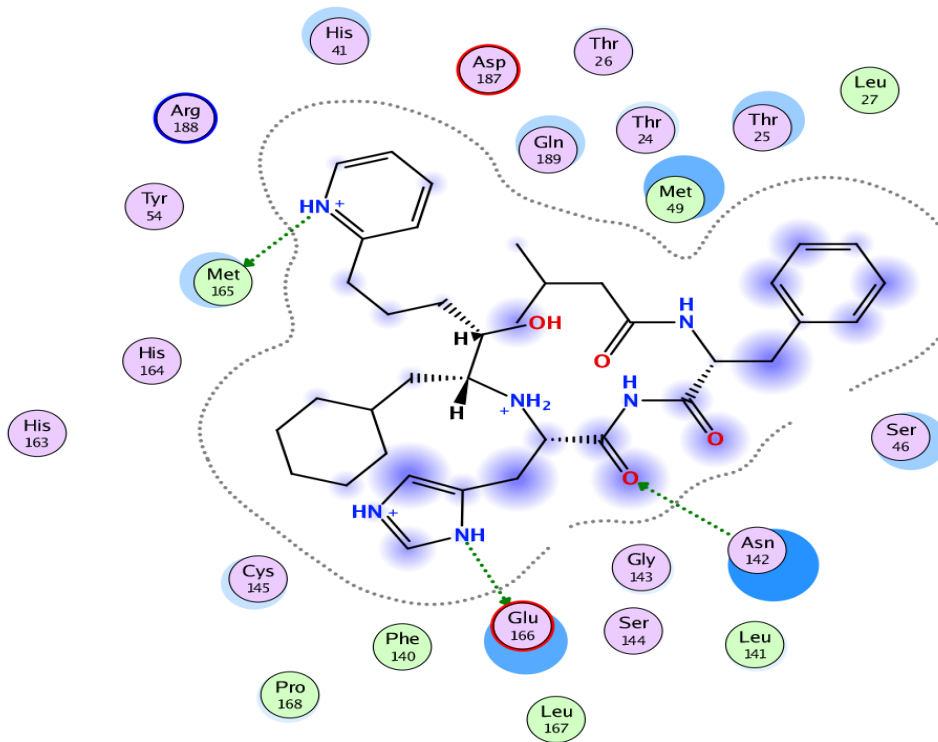


Fig 49.- Ligando MproL24 este tiene interacción con los siguientes residuos Asn #142, Glu #166 y Met #165.

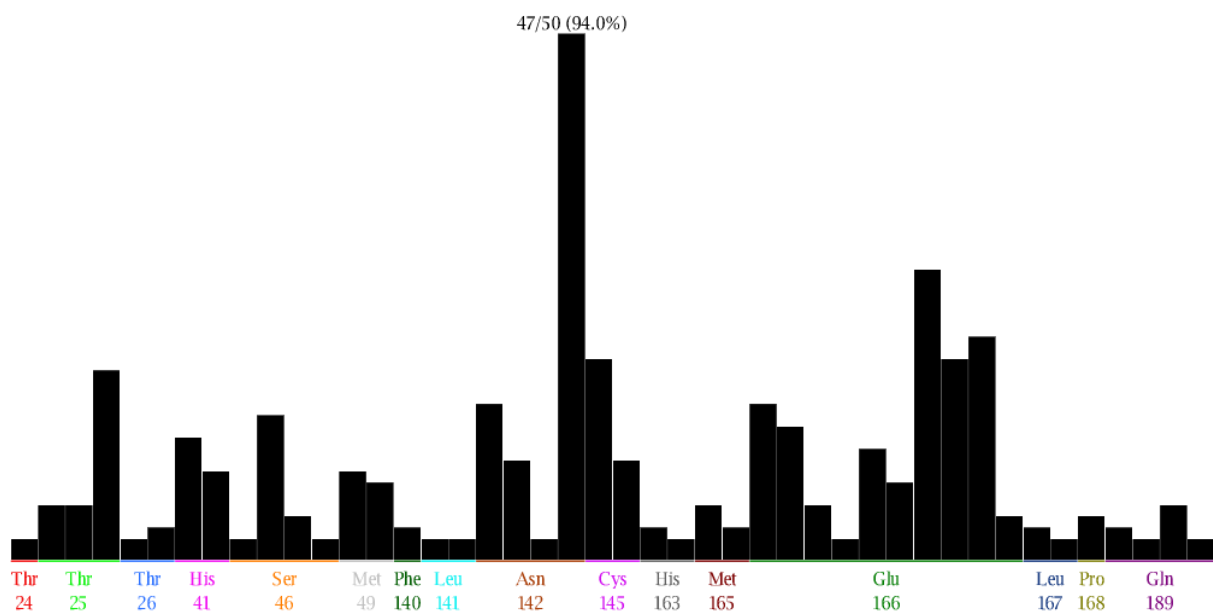


Fig 50.- PLIF del ligando MproL24, en este muestran los aminoácidos que tienen mayor interacción con el ligando, estos aminoácidos son Asn #142, Glu #166, Thr #25, His #41 y Cys #145.

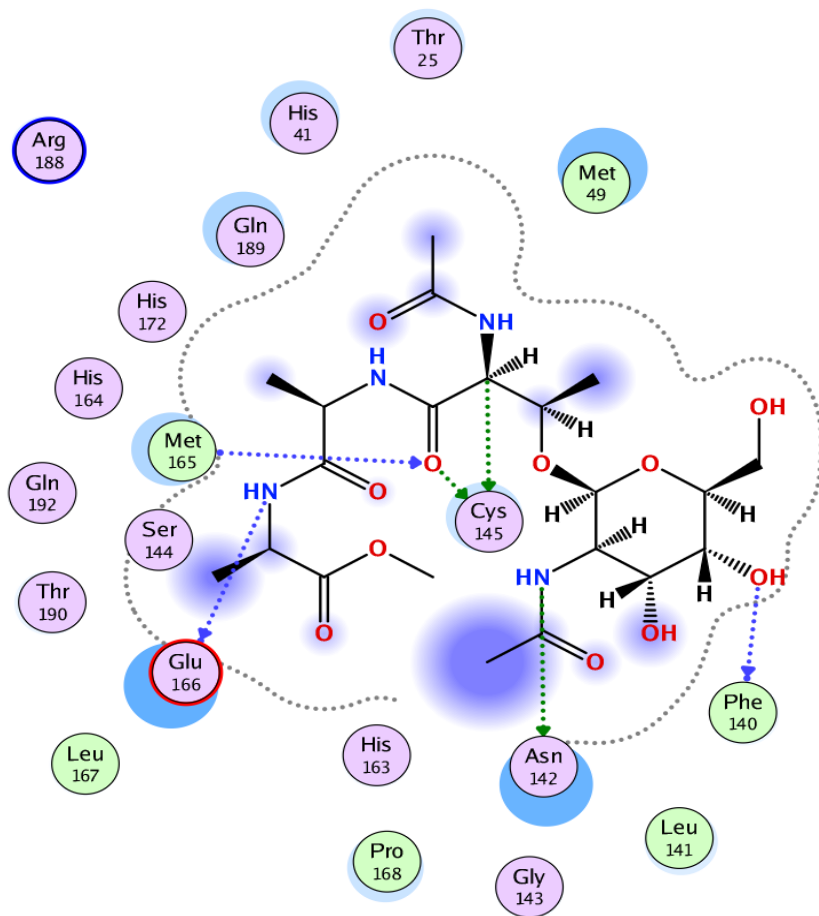


Fig 51.- Ligando MproL25 este tiene interacción con los aminoácidos del pocket estos son: Glu #166, Met 3165 y Phe #140

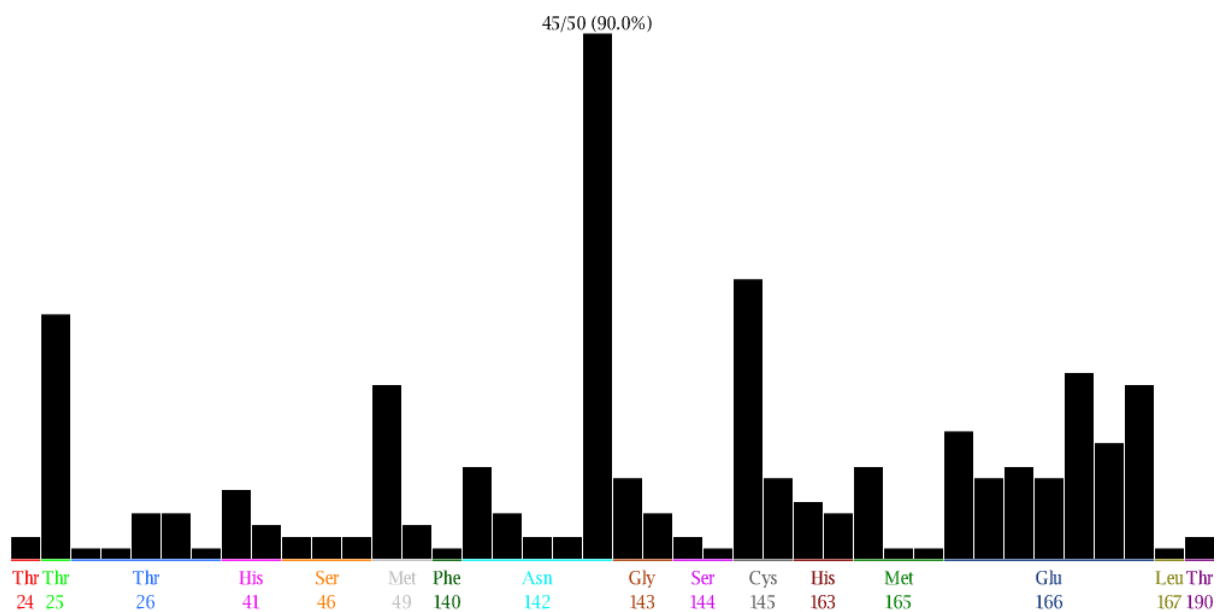


Fig 52.- PLIF del ligando MproL25 en el cual se muestran los residuos con mayor interacción con el ligando esto son: Asn #142, Cys #145, Glu #166, Thr #25, Met #49.

