

Diseño racional y análisis *in silico* de potencial antiviral multitarget para el tratamiento de la COVID-19

José Patricio Hernández Contreras¹, María José Araiza Macías¹, Yvanna Helena Martínez Méndez¹,
Alonso Vivar Sierra¹, Marco Antonio Loza Mejía²

¹Universidad La Salle México, Facultad de Ciencias Químicas. Ciudad de México, México.

²Universidad La Salle México, Vicerrectoría de Investigación. Ciudad de México, México.

jp-hernandez@lasallistas.org.mx, mj.araiza@lasallistas.org.mx,
yh.martinezm@lasallistas.org.mx, alonso.vivar@lasallistas.org.mx,
marco.loza@lasallistas.org.mx

Resumen. En 2019 en Wuhan, China, surgió el virus SARS-CoV-2, el cual provocó el confinamiento de millones de personas que; detonó en problemas socioeconómicos y políticos y provocó la disminución del PIB per cápita en 90% de los países, siendo esta la mayor caída en la economía desde la Segunda Guerra Mundial, estimándose que 88 millones de personas serán empujadas a la pobreza extrema. Ha causado alrededor de 175,000,000 de casos y casi 4,000,000 decesos a nivel mundial (12 de junio de 2021). Para infectar a la célula une la proteína espiga (S) con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina-2 (ECA-2). Además, la rotura proteolítica de la proteína S por la serin proteasa transmembranal (TMPRSS2) induce la fusión de la membrana viral y la plasmática. Se diseñó una molécula y se determinó su potencial actividad farmacológica a través de estudios *in silico*. El fármaco multitarget podría imposibilitar la entrada celular del virus mediante la inhibición de la proteína Spike y TMPRSS2 y a su vez disminuir la tormenta de citocinas con el agonismo de PPAR- γ . Este efecto terapéutico representaría una opción viable para el tratamiento de la enfermedad COVID-19.

Palabras Clave: COVID-19, Fármaco multitarget, Tratamiento.

1 Descripción de la problemática prioritaria abordada

En diciembre del 2019, un nuevo virus perteneciente a la familia de coronavirus, el SARS-CoV-2, fue identificado en Wuhan, China y se esparció a lo largo del mundo causando que la Organización Mundial de la Salud (OMS) declarara una pandemia en marzo de 2020. La pandemia provocó el confinamiento de millones de personas que detonó en problemas socioeconómicos y políticos, lo que provocaría la disminución del PIB per cápita en 90% de los países, siendo esta la mayor caída en la economía desde la Segunda Guerra Mundial, estimándose que 88 millones de personas serán empujadas a la pobreza extrema. Además, mundialmente ha causado más de 175,000,000 de casos y 4,000,000 decesos (12 de junio del 2021).

Los síntomas comunes de esta enfermedad son fiebre, tos, secreción nasal, cansancio, disnea y pérdida del olfato y gusto, sin embargo, no todas las personas que contraen la enfermedad refieren síntomas. En 10-15% de los casos, el Covid-19 se complica por una neumonía severa que requiere hospitalización con un alto riesgo de desarrollar síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) que puede ser letal [1].

El SARS COV-2 es un virus que se caracteriza por contener RNA monocatenario como material genético y poseer proteínas espiga (S) a lo largo de su superficie. Dichas proteínas al unirse con el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ECA2) permite la fusión viral.

Uno de los targets farmacológicos innovadores para impedir dicha unión es la cavidad de unión a los ácidos grasos como lo ha propuesto nuestro grupo de trabajo y otros a nivel mundial. Cuando se unen los ácidos grasos ω -3 y 6 estabilizan la conformación cerrada de la proteína S, lo que impide la unión con la ECA2 y la proteasa TMPRSS2 que al escindir a la proteína S permite la fusión de la membrana viral y celular. Se ha observado que en los casos más graves se desata una tormenta de citocinas donde se elevan muchas sustancias proinflamatorias. En este sentido, PPAR- γ tiene un papel fundamental en el control de la inflamación, ya que agonistas de este ayudan a la disminución de la expresión de citocinas proinflamatorias mediante la interacción con NF- κ B, donde este, activa los genes de IL-10, una citocina antiinflamatoria.

Actualmente, el único tratamiento farmacológico disponible para la COVID-19 es el Remdesivir, el cual, no ha demostrado gran efectividad. Por ello, otros autores han planteado el uso de ácidos grasos omega 3 [2] y la inhibición de TMPRSS2 [3] como posibles alternativas para combatir al virus.

Es por lo anterior, que en este trabajo se propone una solución a esta enfermedad mediante el diseño racional *in silico*, es decir, hecho por simulación computacional, de un potencial fármaco antiviral multitarget que nos permita frenar la propagación de este virus, cumpliendo con el PRONACE dirigido a salud y el Objetivo de Desarrollo Sostenible número 3 en específico la meta 3.b enfocada a la investigación y desarrollo de nuevos medicamentos para enfermedades transmisibles.

2 Objetivo

Diseñar una molécula para el tratamiento de la COVID-19 mediante estudios *in silico*, los cuáles, determinan su potencial actividad farmacológica, brindando, así, un nuevo tratamiento que disminuya la mortalidad.

3 Propuesta de solución

A partir de la recopilación de una base de datos de ZINC 15, se eligieron moléculas base que fueran similares a los ácidos grasos omega 3 para realizar estudios de acoplamiento molecular en el programa Molegro Virtual Docker y determinar su potencial actividad farmacológica. Al partir de moléculas base es posible detectar los puntos importantes de la molécula y de esta manera modificarlos para mejorar su actividad farmacológica. El acoplamiento molecular nos permite determinar la conformación y posición óptima de un ligando en los blancos moleculares, que, en este caso son la cavidad del ácido graso, el receptor de TMPRSS2 y el receptor de PPAR- γ .

Para realizar los estudios de acoplamiento molecular se necesita de los ligandos optimizados en 3D, así como la estructura de las proteínas a estudiar. Estas últimas se obtuvieron del Protein Data Bank, una base de datos que almacena estructuras tridimensionales de las proteínas. Se realizaron los primeros estudios de acoplamiento molecular, en donde se obtuvo una molécula base que presentó una buena afinidad hacia las 4 dianas biológicas, la cual, en su estructura presenta un heterociclo de furano, en posición 2 un ácido carboxílico y, en posición 5, una cadena de 12 átomos de carbono con instauraciones.

4 Discusión de resultados e impactos obtenidos

Se observó que el punto más importante de la molécula es el largo de la cadena de los átomos de carbono ya que esta es la que permite la actividad biológica. Entre más larga, mayor afinidad hacia los blancos moleculares. Por lo tanto, se decidió sustituir la cadena de 12 átomos de carbono de la molécula y probarla con los ácidos grasos omega 3 que son de cadena larga [ácido docosahexaenoico (DHA), ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido alfa linoleico (ALA)]. Mediante los estudios de acoplamiento molecular, se observó que la molécula con el DHA mejoró considerablemente la afinidad hacia las dianas biológicas. Posteriormente se evaluó la farmacocinética y la toxicidad del ligando en la plataforma pkCSM. Sin embargo, el ligando presentó una mala absorción debido a que es muy lipofílico.

Se logró mejorar la absorción de la molécula mediante el aumento de polaridad al sustituir el heterociclo de furano por uno de oxadiazol y la formación de un éster de serina. De esta manera fue como se logró llegar a la molécula objetivo, la cual, consta de un heterociclo de oxadiazol, en posición 5 el ácido docosahexaenoico (DHA), y en posición 2 el éster de serina. Se pretende que el fármaco pueda utilizarse en persona sanas de manera preventiva y en pacientes enfermos para el control de la inflamación.

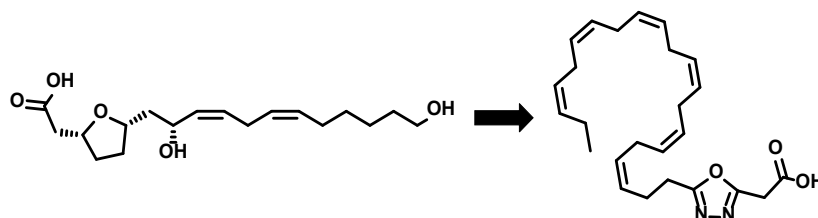


Figura 1. Proceso de modificación de molécula base (izquierda) a molécula final (derecha).

El ligando oxadiazol-DHA a través de los estudios de acoplamiento molecular demostró tener una mejor afinidad hacia las dianas biológicas que los ligandos de referencia, como se observa en la Tabla 1 en la cual, valores más negativos indican mayor afinidad.

Tabla 1. Resultados de acoplamiento molecular.

Diana biológica	Oxadiazol-DHA	Ligando de referencia
Proteína spike (conformación cerrada)	-146.889	-100.839 (Ácido linoleico)
Proteína spike (conformación abierta)	-104.049	-73.0672 (Ácido linoleico)
Receptor de PPAR- γ	-129.218	-106.888 (AZ2)
TMPPRS2	-109.748	-74.3763 (Nafamostat)

Tabla 2: Evaluación farmacocinética del oxadiazol-DHA.

Propiedades de la molécula	Evaluación farmacocinética	Evaluación toxicológica
Peso molecular: 410.558	Absorción intestinal: 60%	Inhibidor hERG I y II: No
Log P: 5	CYP450: No es inhibidor	Hepatotóxico
Enlaces rotables: 16	Sustrato Gp: Sí	AMEs: negativo
Aceptores de puente de hidrógeno: 4	Lipinski: Cumple con las reglas	

El fármaco tiene; buena absorción intestinal, no es inhibidor de citocromo p450, es fácilmente metabolizado, es sustrato de Gp así que es expulsado de la célula, cumple con las reglas de Lipinski indicando una buena absorción, no es inhibidor de hERG I y II por lo que no es cardiotoxico, es

hepatotóxico, pero al ser un fármaco de uso agudo no habría un daño considerable y es Ames negativo por lo que no es mutagénico.

Para complementar los estudios de acomplamiento molecular se realizó una simulación de dinámica molecular de 30 ns en el receptor de PPAR- γ y de 10 ns en la conformación cerrada de la proteína Spike. En el cálculo de la energía de unión utilizando el modelo MM/PBSA (molecular mechanics [MM] with Poisson-Boltzmann [PB] and surface area solvation) el oxadiazol-DHA en la conformación cerrada de la proteína spike tiene un valor de 430.6 kcal/mol y con el receptor de PPAR- γ de 223.1 kcal/mol, por lo que el fármaco tiene mayor afinidad en comparación a los ligandos de referencias.

Otro parámetro que se evaluó es el RMSD que es la desviación cuadrática media de las posiciones atómicas, esta es la medida de la distancia promedio entre los átomos de proteínas superpuestas que podemos trasladarlo a que tan estable es un complejo L-R.

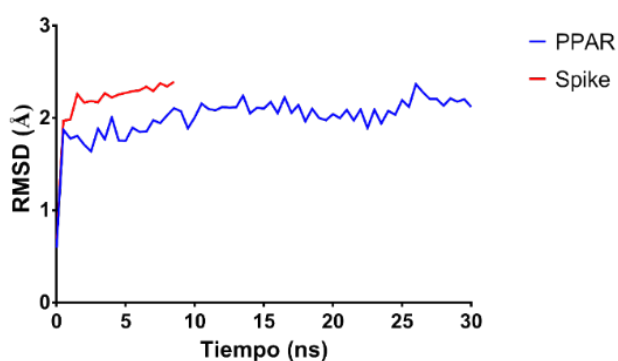


Figura 1: Cambio del RMSD a lo largo de la dinámica.

Tras un breve periodo de relajación de más o menos 0.2 ns ambos complejos se estabilizan, por lo que los análisis que se realicen sobre este complejo son confiables.

El trabajo tendría impacto en los objetivos de desarrollo sostenible; salud y bienestar, debido a que el proyecto propone un tratamiento novedoso a la infección por SARS-CoV-2 que ha provocado lo largo de esta pandemia más de 3.81 millones de fallecimiento y más de 176 millones de casos.

En conjunto todos estos resultados sugieren que la molécula es atractiva para un posterior desarrollo de fármacos anti-COVID 19 e incluso otras afecciones respiratorias con un perfil sintomatológico similar.

5 Conclusiones y perspectivas futuras

El oxadiazol-DHA logró ser un potencial fármaco multitarget puesto que podría imposibilitar la entrada del virus a las células del huésped y a su vez disminuir la tormenta de citocinas mediante la inhibición de la proteína Spike, TMPRSS2 y el agonismo de PPAR-g, lo cual representaría una opción para el tratamiento de la enfermedad COVID-19, además esta molécula mostró un buen perfil farmacocinético y toxicológico.

El siguiente paso que se buscaría desarrollar en esta investigación es el desarrollo de una ruta sintética viable para la molécula propuesta con el fin de que una vez sintetizada esta, se pueda probar en células (*in vitro*) y posteriormente en un modelo animal (*in vivo*) para evaluar su comportamiento y comprobar su eficacia y seguridad como posible tratamiento.

6 Referencias

1. S. Boopathi, A. B. Poma, and P. Kolandaivel, "Novel 2019 coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment," *J. Biomol. Struct. Dyn.*, vol. 0, no. 0, pp. 1–10, 2020, doi: 10.1080/07391102.2020.1758788.
2. A. Vivar-Sierra *et al.*, "In Silico Study of Polyunsaturated Fatty Acids as Potential SARS-CoV-2 Spike Protein Closed Conformation Stabilizers: Epidemiological and Computational Approaches," *Molecules*, vol. 26, no. 3, p. 711, Jan. 2021, doi: 10.3390/molecules26030711.
3. A. Weissenstein, "TMPRSS2-Inhibitors Play a role in Cell Entry Mechanism of COVID-19: An Insight into Camostat and Nafamostat," *J. Regen. Biol. Med.*, 2020, doi: 10.37191/maps-ci-2582-385x-2(2)-022.