



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

DOCTORADO EN QUÍMICA

TESIS DE DOCTORADO

ESTUDIO CUÁNTICO COMPUTACIONAL DE LOS SISTEMAS
RECEPTORES Y MOLÉCULAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD
ANTIVIRAL PARA EL SARS-COV-2

Para obtener el grado de
Doctora en Química

PRESENTA

M. Q. Wendolyne López Orozco

Director

Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar

Comité tutorial

Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia
Dra. Maricruz Sánchez Zavala
Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero

Mineral de la Reforma, Hidalgo., México, Febrero de 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Área Académica de Química

Department of Chemistry

Número de control: ICBI-AAQ/158/2024

Asunto: Autorización de impresión

Mtra. Ojuky del Rocío Islas Maldonado
Directora de Administración Escolar de la UAEH

El Comité Tutorial del trabajo de tesis titulado "ESTUDIO CUÁNTICO COMPUTACIONAL DE LOS SISTEMAS RECEPTORES Y MOLÉCULAS CON POTENCIAL ACTIVIDAD ANTIVIRAL PARA EL SARS-COV-2", realizado por la sustentante **WENDOLYNE LÓPEZ OROZCO** con número de cuenta **171194** perteneciente al programa del **DOCTORADO EN QUÍMICA**, una vez que ha revisado, analizado y evaluado el documento recepcional de acuerdo con lo estipulado en el Artículo 110 del Reglamento de Estudios de Posgrado, tiene a bien extender la presente:

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Por lo que la sustentante deberá cumplir los requisitos del Reglamento de Estudios de Posgrado y con lo establecido en el proceso de grado vigente.

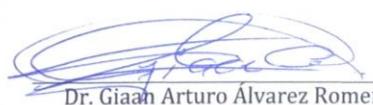
Atentamente

"Amor, Orden y Progreso"

Mineral de la Reforma, Hidalgo a 8 de febrero de 2024


Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval
Director del ICBI


Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar
Director de Tesis


Dr. Gian Arturo Álvarez Romero
Miembro del Comité Tutorial


Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia
Miembro del Comité Tutorial


Dra. Maricruz Sánchez Zavala
Miembro del Comité Tutorial

Ciudad del Conocimiento
Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5 Colonia
Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,
México. C.P. 42184
Teléfono: +52 (771) 71 720 00 ext. 2200, 2201
Fax 6502
aaq_icbi@uaeh.edu.mx



www.uaeh.edu.mx

Agradecimientos

Por los recursos otorgados:

Agradezco a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por permitirme realizar mis estudios de posgrado a través del Doctorado en Química y el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (Conahcyt) por la beca otorgada para llevar a cabo mis estudios de doctorado.

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por el financiamiento otorgado para la realización del presente trabajo a través del proyecto PAO-2022-1389 UAEH.

Se agradece el financiamiento otorgado a través del proyecto CONACYT CB2015-257823, “Síntesis de nano y meso estructuras magnéticas, puras y mixtas, a base de Co, Pd y Fe por medio de Deposición Electroquímica de Barrido y de Fuerza atómica y Magnética”.

Los autores agradecen al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS), perteneciente al padrón de laboratorios nacionales CONACYT, por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica brindados, a través del proyecto No. 202203072N.

El Laboratorio Nacional de Guanajuato (CONACyT 123732) es reconocido por sus recursos de supercómputo.

A mis profesores:

A mi asesor el Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar, que sin su apoyo y conocimientos no hubiera sido posible realizar el presente trabajo. Gracias por recibirme en el laboratorio 3 y por ser un mentor para mí, por motivarme y guiarme en libertad para explorar la ciencia desde mis propios ojos y crecer.

A los integrantes de mi comité tutorial por todas sus aportaciones en el desarrollo del presente trabajo, gracias. A la Dra. Maricruz Sánchez Zavala por su tiempo para comentar los avances del proyecto y la relación con la parte farmacológica y de productos naturales. Al Dr. Giaan Arturo Álvarez Romero por su atención en mis revisiones y aportar el enfoque analítico para mejorar la discusión de los resultados. Al Dr. J. Jesús Martín Torres Valencia, por compartir conmigo su experiencia en productos naturales para seleccionar los metabolitos y por las asesorías de ChemDraw.

A mi familia:

Con cariño agradezco a mi familia quienes sin esperar nada a cambio me han apoyado y son los principales impulsores de mis sueños, también, por ser mi equipo de trabajo y apoyo técnico durante el confinamiento y el home office. Gracias a mi madre Martha Orozco Miranda, por acompañarme sin importar las circunstancias y enseñarme que con constancia y trabajo todo se puede lograr. Gracias a mi padre Miguel Ángel López Candiani, por guiarme con sus consejos y enseñarme la importancia de conducirme con valores e ideales. Gracias a mi hermano, Miguel Ángel López Orozco por enseñarme a curiosear y filosofar, y motivarme a tener grandes expectativas. Gracias a mi niño Edwin Martínez Hernández, por hacerme ver las cosas de forma positiva y recordarme la importancia de divertirme y jugar.

A mis amigos:

A mi amiga y comadre Erika Hernández Ortiz, gracias por animarme en cada proyecto que realizo y creer en mí. A las familias Martínez Hernández y Hernández Ortiz por su compañía.

A mi amigo Hugo Armando Salazar Olvera, por brindarme su comprensión, por contagiarme su inspiración y alentarme para continuar, gracias.

A mi amigo el Inge Raúl Castillo Téllez, por su apoyo y compañía en el AAQ durante esta etapa. Gracias por compartir sus consejos y enseñanzas conmigo.

A mí querido labo 3, donde compartieron conmigo conocimientos, alegrías y grandes momentos. A María Isabel Nungaray Cruz, Mitzy Daniela Moreno Islas, Jair Azael Corona Castro, Karen Montserrat Hernández, Adrián Said Bravo Rodríguez, Eltonh Islas Trejo y Emmanuel Blass Partricio Rangel, gracias. #Labo3 #Amigos #Química

Dedicado a la memoria

De mi Tía Tony

María Antonieta Orozco Miranda

Índice

Lista de siglas y símbolos	1
Índice de figuras	5
Índice de tablas	11
Capítulo 1. Antecedentes sobre el virus SARS-CoV-2 y el estudio de inhibidores presentes en componentes de la medicina tradicional mediante química computacional	12
1.1. El virus SARS-CoV-2	13
1.1.2 Etapas del ciclo de vida del SARS-CoV-2	15
1.1.3 Variantes del SARS-CoV-2	17
1.2 Tratamiento de la COVID-19.....	18
1.2.1 Proteasa principal M ^{Pro}	18
1.3 Enfoque del diseño molecular asistido por computadora.....	19
1.4 Fármacos derivados de la medicina tradicional	20
1.5 Justificación.....	20
1.6 Hipótesis.....	21
1.7 Objetivos	21
1.7.1 Objetivo general	21
1.7.2 Objetivos específicos.....	21
Capítulo 2. Conceptos teóricos del diseño de fármacos asistido por computadora	23
2.1 Modelado molecular.....	23
2.2 La ecuación de Schrödinger	24
2.2.1 Métodos <i>ab initio</i>	25
2.2.1.1 El Hamiltoniano molecular	26
2.2.1.1.1 La aproximación de Born-Oppenheimer	26
2.2.1.1.2 El espín electrónico	27
2.2.2 Método Hartree-Fock	27
2.2.2.1 Conjuntos de funciones de base	29
2.2.3 Métodos semiempíricos.....	31
2.2.4 Teoría de los funcionales de la densidad.....	32
2.2.4.1 Parámetros de reactividad	34
2.3 Diseño de fármacos asistido por ordenador	35
2.3.1 Estudio de acoplamiento molecular	36

2.3.2 Estudio de acoplamiento molecular	38
Capítulo 3. Metodología.....	41
Capítulo 4. Reactividad química de aliina y sus interacciones moleculares con la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2.....	43
4.1 Metodología	44
4.2 Resultados y discusión	45
4.2.1 Regla de cinco de Lipinski y predicción ADMET	45
4.2.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de aliina con DFT	47
4.2.3 Descriptores de reactividad global	48
4.2.4 Descriptores de reactividad local	49
4.2.5 Estudio de acoplamiento molecular	54
4.2.5.1 Simulación de dinámica molecular	56
4.3 Conclusiones	56
Capítulo 5. Estudio computacional de la reactividad química de la astragalina y análisis de su capacidad inhibitoria hacia la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2 mediante docking y dinámica molecular.....	58
5.1 Metodología	59
5.2 Resultados y discusión	60
5.2.3. Descriptores de reactividad global	63
5.2.4 Descriptores de reactividad local	64
5.2.5 Estudio de acoplamiento molecular	70
5.2.5.1 Simulación de dinámica molecular	72
5.3. Conclusiones	73
Capítulo 6. Estudio computacional de la bioactividad inhibitoria del ácido hibiscus y el ácido garcinia contra el SARS-CoV-2	74
6.1 Metodología	75
6.2 Resultados y discusión	76
6.2.1. Regla de cinco de Lipinski y propiedades ADMET.....	76
6.1.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de astragalina con DFT.....	78
6.2.3. Descriptores de reactividad global	79
6.2.4 Descriptores de reactividad local	80
6.2.5 Estudio de acoplamiento molecular	89
6.2.5.1 Simulación de dinámica molecular	91
6.3. Conclusiones	93

Capítulo 7. Estudio computacional de ácido (2<i>S</i>,3<i>R</i>)-hidroxicítrico y ácido (2<i>S</i>,3<i>S</i>)-hidroxicítrico como posibles compuestos bioactivos contra el SARS-CoV-2.....	94
7.1 Metodología	95
7.2 Resultados y discusión	96
7.2.1. Regla de cinco de Lipinski y propiedades ADMET.....	96
7.1.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de astragalina con DFT.....	98
7.2.3. Descriptores de reactividad global	99
7.2.4 Descriptores de reactividad local	100
7.2.5 Estudio de acoplamiento molecular	108
7.2.5.1 Simulación de dinámica molecular	111
7.3. Conclusiones	112
Capítulo 8. Conclusiones generales.....	113
Bibliografía	115
Perspectivas	128
Anexos	129

Lista de siglas y símbolos

Lista de siglas

Sigla	Significado
ACE2	Angiotensin-converting enzyme 2
ADMET	Administración, metabolismo, excreción y toxicidad
AHB	Hydrogen bond acceptor
AM1	Modelo uno de Austin
ARN	Ácido ribonucleico
B3LYP	Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr
CFF	Condensed fukui function
CLOA	Combinación lineal de orbitales atómicos
CNDO	Complete neglect differential Overlap
DFT	Density Functional Theory
DHB	Hydrogen Bond Donor
DZ	Base doble zeta
DZV	Base doble zeta de valencia
FC	Frozen core
FD	Finite differences
FF	Fukui function
FTG	Funciones tipo gaussianas
HF	Hartree-Fock
INDO	Intermediate neglect differential overlap
LDA	Local density approximation
LSDA	Local spin density approximation
MC	Mecánica cuántica
MD	Molecular dynamics
MEE	Métodos de estructura electrónica

MEP	Mapa de potencial electrostático
MM	Modelado molecular
MNDO	Modified neglect of diatomic overlap
NCI	Conjunto isotérmico-isobárico
NPT	Temperatura y presión normales
NVT	Conjunto canónico
OA	Orbital atómico
OM	Orbital molecular
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCM	Continuous polarizable model
PM3	Parametrized model three
PM6	Parametrized model six
PM7	Parametrized model seven
PMC	Polarized continuum model
QZ	Base cuádruple zeta
RMSD	Root mean square deviation
SARS-CoV	Severe acute respiratory syndrome coronavirus
SCF	Self consistent field
STO	Orbitales tipo Slater
TMPRSS2	Proteasa serina transmembrana II
TZ	Base triple zeta
VOC	Variante preocupante
VOI	Variante de interés

Lista de símbolos

Símbolo	Significado
A	Afinidad electrónica
$f_j^-(r)$	Ataque electrofílico
$f_j^+(r)$	Ataque nucleofílico
$f_j^0(r)$	Ataque por radicales libres
q_i, q_j	Carga atómica
k	Constante de Boltzmann
\hbar	Constante de Plank entre 2π
(\vec{r})	Coordenada nucleares
$\rho(r)$	Densidad electrónica
$\rho_{N+1}(r)$	Densidad electrónica del anión
$\rho_{N-1}(r)$	Densidad electrónica del catión
$\rho_N(r)$	Densidad electrónica del neutro
$R_{i,\alpha}$	Distancia núcleo-electrón
$r_{1,2}$	Distancia Electrón-electrón
η	Dureza absoluta
χ	Electronegatividad
ϵ_i	Energía de la molécula en la configuración i
I	Energía de ionización
E_{HF}	Energía óptima de Hartree-Fock
ϵ_i	Energía orbital
E_v	Energía que depende del potencial externo
E	Energía total del sistema
$E_0[\rho_0]$	Energía total del sistema 0 como un funcional de la densidad
ϵ_i	Energías orbitales
ϕ_i	Espín orbitales moleculares
A	Exponente del orbital de Gaussianas
Z	Exponente de orbital de Slater
x_s	Funciones de base
Ψ	Función de onda del sistema
ψ^{ele}	Función de onda electrónica
ϕ_{1s}^{FS}	Función normalizada tipo Slater
ϕ_{1s}^{GS}	Función normalizada tipo Gausiana
$f(r)$	Función Fukui
P_i	Función de distribución de Maxwell-Boltzmann
$T[\rho]$	Funcional de la energía cinética
$T_s[\rho]$	Funcional de la energía cinética de Kohn-Sham
$V_{ee}[\rho]$	Funcional de la energía de interacción electrón-electrón
$Exc[\rho]$	Funcional de intercambio y correlación
m_{nuc}, M	Masa del núcleo
m_{el}	Masa de los electrones
N	Número de electrones
Z	Número atómico de los núcleos

\hat{T}	Operador de energía cinética
\hat{V}	Operador de energía potencial
\bar{F}	Operador de Fock
\bar{K}_j	Operador de intercambio
\bar{V}_{ne}	Operador de las interacciones entre los electrones y los núcleos
\bar{V}_{ee}	Operador de las interacciones electrón-electrón
$h^{ks}(1)$	Operador de Kohn-Sham
∇_i^2	Operador Laplaciano
∇	Operador nabra
ϕ	Orbitales atómicos
θ_i^{ks}	Orbitales atómicos de Kohn-Sham
ω^-	Poder de electrodonación
ω^+	Poder de electroaceptación
$v(r_i)$	Potencial externo
V_{xc}	Potencial de intercambio y correlación
μ	Potencial químico electrónico
$(N + 1)$	Sitio atómico aniónico
$(N - 1)$	Sitio atómico catiónico
(N)	Sitio atómico neutro
T	Temperatura absoluta
\bar{H}	Operador Hamiltoniano
C_{si}	Coefficientes de expansión
F_{rs}	Matriz del operador de Fock para la fila r y columna s
S_{rs}	Matriz de traslapedor de Fock para la fila r y columna s
Ψ_i	Función de onda de Kohn-Sham para i orbitales

Índice de figuras

	Página
Figura 1.1. Microscopía electrónica de los viriones del SARS-CoV-2 [1].	13
Figura 1.2. Historia del nombramiento de coronavirus durante los tres brotes zoonóticos.	14
Figura 1.3 Esquema de la estructura del SARS-CoV-2 [2].	14
Figura 1.4 Esquema de las etapas del ciclo de vida del SARS-CoV-2.	16
Figura 1.5 Estructura cristalina del SARS-CoV-2 M ^{pro} en complejo con N3 [3].	19
Figura 2.1 Mapa conceptual de los descriptos de reactividad derivados de la DFT.	35
Figura 2.2 Diagrama de flujo del diseño de fármacos asistido por ordenador.	36
Figura 2.3 Ilustración del proceso de acoplamiento para hallar la pose de unión y su afinidad asociada.	37
Figura 2.4 Representación de las interacciones que describen el movimiento molecular, basada en Figura 3 de [56]	40
Figura 4.1. Estructura química de aliina (ácido 2-amino-3-prop-2-enilsulfanilpropanóico).	44
Figura 4.2. Estructura de la aliína optimizada al nivel teórico B3LYP / DGDZVP en la fase acuosa utilizando el modelo de solución PCM. Las distancias de enlace se dan en Angstroms, DA=Ángulo diedro.	47
Figura 4.3. Espectro IR teórico de aliina en la fase acuosa obtenido al nivel de teoría.	48
Figura 4.4. Distribuciones HOMO y LUMO de aliina obtenidas en el nivel teórico B3LYP / DGDZVP en la fase acuosa utilizando el modelo de solución PCM. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0,08 e/u.a. ³ .	49
Figura 4.5. Isosuperficies de las funciones de Fukui para la aliina según las ecuaciones (2.32)-(2.34)) en el nivel teórico B3LYP/DGDZVP utilizando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0,008 e/a.u. ³ Los círculos punteados muestran las zonas más reactivas de cada molécula.	50
Figura 4.6. Valores condensados de la función de Fukui para ataques nucleofílicos a aliina en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ωB97XD), en fase acuosa usando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos de puntos muestran las zonas más reactivas de cada molécula.	51
Figura 4.7. Valores condensados de la función de Fukui para ataques electrófilos a aliina en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ωB97XD), en la fase	51

acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), la línea discontinua Los círculos muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	
Figura 4.8. Valores condensados de la función de Fukui para ataques de radicales libres a la aliina en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), la Los círculos discontinuos muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	52
Figura 4.9. Mapeo de los potenciales electrostáticos evaluados en el nivel teórico B3LYP/DGDZVP utilizando el modelo de solvatación PCM, en una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u. ³) para aliina.	53
Figura 4.10. Gráfico del gradiente de densidad reducido frente al signo (λ_2) ρ para la aliina en la fase acuosa.	54
Figura 4.11. Área de isosuperficie de NCI para aliina en fase acuosa.	54
Figura 4.12. Sitio de unión de aliina en la proteasa M ^{pro} del SARS-CoV-2.	55
Figura 4.13. Mapeo 2D de interacciones ligando/proteína para aliina.	55
Figura 4.14. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo.aliina/M ^{pro} a lo largo de 20 ns.	56
Figura 5.1. Estructuras de astragalina (5,7-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-3-[(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxicromen-4-ona).	59
Figura 5.2. Estructura de astragalina, optimizada al nivel de la teoría B3LYP/DGDZVP en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. Las distancias de unión se indican en Angstroms, DA=Ángulo Diedro.	62
Figura 5.3 Espectro IR teórico de astragalina en la fase acuosa obtenidos al nivel de teoría B3LYP/DGDZVP.	63
Figura 5.4. Distribuciones de HOMO y LUMO sobre astragalina obtenidas al nivel de la teoría B3LYP/DGDZVP en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0,08 e/u.a. ³ .	65
Figura 5.5. Isosuperficies de las Funciones Fukui para astragalina según las ecuaciones (2.32)-(2.34) en el nivel de teoría B3LYP/DGDZVP empleando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) de radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.008 e/u.a. ³ , los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	66
Figura 5.6. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre astragalina al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	67
Figura 5.7. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre astragalina al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en	67

la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	
Figura 5.8. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre astragalina al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	68
Figura 5.9. Mapeo de los potenciales electrostáticos evaluados en el nivel de teoría B3LYP/DGDZVP empleando el modelo de solvatación PCM, sobre una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u. ³) para astragalina.	69
Figura 5.10. Gráfico del gradiente de densidad reducida vs $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para astragalina en la fase acuosa.	70
Figura 5.11. Isosuperficie del NCI = 0.2 para astragalina en fase acuosa.	70
Figura 5.12. Sitio de enlace de astragalina en la proteasa M ^{pro} del SARS-CoV-2.	71
Figura 5.13. Mapeo 2D de las interacciones ligando/proteína para astragalina.	72
Figura 5.14. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo astragalina-M ^{pro} a lo largo de 50 ns.	73
Figura 6.1. Estructura química del ácido hibiscus ((2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-3-hidroxi-5-oxofurano-2,3-dicarboxílico) y del ácido de la garcinia ((2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-3-hidroxi-5-oxofurano-2,3-dicarboxílico).	75
Figura 6.2. Estructuras optimizadas de a) HA, y b) GA en el nivel teórico B3LYP/6-311G (d,p) en fase acuosa empleando el modelo de solvatación PCM. Las distancias de enlace se expresan en Angstroms, DA=Ángulo diedro.	78
Figura 6.3. Espectros IR teóricos de HA (línea discontinua) y GA (línea negra) en fase acuosa obtenidos en el nivel teórico B3LYP / 6-311G (d,p).	79
Figura 6.4. Las distribuciones HOMO para a) ácido de hibisco y b) ácido garcinia y las distribuciones LUMO para a) ácido de hibisco y b) ácido garcinia se obtuvieron en el nivel teórico B3LYP / 6-311G (d,p) en fase acuosa utilizando el modelo de solución PCM. En todos los casos, las isosuperficies se obtuvieron a 0,02 e/u.a. ³ .	81
Figura 6.5. Isosuperficies de las Funciones de Fukui para HA según las ecuaciones (2.32)-(2.34) en el nivel teórico B3LYP/ 6-311G (d,p) empleando el modelo de solvatación PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) radicales libres. En todos los casos, las isosuperficies de densidad se obtuvieron a 0,01 e/u.a. ³ , los círculos discontinuos muestran las zonas más reactivas de cada molécula.	82
Figura 6.6. Isosuperficies de las funciones de Fukui para GA según las ecuaciones (2.32)-(2.34) en el nivel teórico B3LYP / 6-311G (d,p) empleando el modelo de solvatación PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) radicales libres. En	83

todos los casos, las isosuperficies se obtuvieron a $0,01 \text{ e/u.a.}^3$, los círculos discontinuos muestran las zonas más reactivas de cada molécula.	
Figura 6.7. Valores de la función de Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre HA en el nivel teórico X / 6-311G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	84
Figura 6.8. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre HA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	84
Figura 6.9. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre HA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	85
Figura 6.10. Valores de la función de Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre GA en el nivel teórico X / 6-311G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	85
Figura 6.11. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre GA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	86
Figura 6.12. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre HA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)-(2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	86
Figura 6.13. Mapeo de los potenciales electrostáticos para a) ácido hibiscus, b) ácido garcinia, obtenidos al nivel de la teoría X / 6-311G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91) en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM, sobre una isosuperficie de densidad (valor = 0.002 e/a.u.^3).	87
Figura 6.14. Gráfico del gradiente de densidad reducida frente a $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para a) ácido de hibisco y b) ácido garcinia en la fase acuosa.	89
Figura. 6.15. Isosuperficie NCI para a) HA y b) GA en fase acuosa	89
Figura 6.16. Sitio de unión de HA en la M^{pro} del SARS-CoV-2.	90
Figura 6.17. Sitio de unión de GA en la M^{pro} del SARS-CoV-2.	90
Figura 6.18. Mapa 2D de las interacciones ligando / M^{pro} para HA.	91
Figura 6.19. Mapa 2D de las interacciones ligando / M^{pro} para GA.	91

Figura 6.20. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo HA-M ^{pro} a lo largo de 100 ns.	92
Figura 6.21. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo GA-M ^{pro} a lo largo de 100 ns.	92
Figura 7.1. Estructuras a) (2 <i>S</i> , 2 <i>S</i>)- 1,2-dihidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico y b) (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-1,2-dihidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico.	95
Figura 7.2. Estructuras a) (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)- ácido hidroxicítrico, b) ácido (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-hidroxicítrico, optimizados al nivel de la teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. Las distancias de unión se indican en Angstroms, DA=Ángulo diedro.	98
Figura 7.3. Espectros IR teóricos de (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)- ácido hidroxicítrico (línea discontinua) y ácido (2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-hidroxicítrico (línea negra) en fase acuosa obtenidos en el nivel teórico B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente.	99
Figura 7.4. Distribuciones de HOMO sobre a) (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)- ácido hidroxicítrico y b) (2 <i>S</i> , 3 <i>R</i>)-ácido hidroxicítrico y LUMO c) (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)- ácido hidroxicítrico y d) (2 <i>S</i> , 3 <i>R</i>)- ácido obtenidas al nivel de la teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0,08 e/u.a. ³ .	101
Figura 7.5. Isosuperficies de las Funciones Fukui para (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-ácido hidroxicítrico según las ecuaciones (2.32)-(2.34) en el nivel de teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente empleando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) de radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.008 e/u.a. ³ , los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	102
Figura 7.6. Isosuperficies de las Funciones Fukui para (2 <i>S</i> , 3 <i>R</i>)-ácido hidroxicítrico según las ecuaciones (2.32)-(2.34) en el nivel de teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente empleando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) de radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.008 e/u.a. ³ , los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	102
Figura 7.7. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) (donde X=B3LYP, B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (12)-(14), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	103
Figura 7.8. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre (2 <i>S</i> , 3 <i>S</i>)-ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) (donde X=B3LYP,	104

B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (12)- (14), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	
Figura 7.9. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre (2S, 3S)-ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) (donde X=B3LYP, B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (12)- (14), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	104
Figura 7.10. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2S, 3R)- ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)- (2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	105
Figura 7.11. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2S, 3R)- ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)- (2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	105
Figura 7.12. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2S, 3R)- ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.35)- (2.37), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.	106
Figura 7.13. Mapeo de los potenciales electrostáticos para a) (2S, 3S)- ácido hidroxicítrico, b) ácido (2S,3R)-hidroxicítrico, obtenidos al nivel de la teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++ (d,p) respectivamente, en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM, sobre una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u. ³).	107
Figura 7.14 Gráfico del gradiente de densidad reducida vs $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para a) (2S, 3S)- ácido hidroxicítrico y b) ácido (2S,3R)-hidroxicítrico en la fase acuosa.	108
Figura 7.15. Isosuperficie del NCI = 0.2 para a) (2S, 3S)-ácido hidroxicítrico b) ácido (2S,3R)-hidroxicítrico, en fase acuosa.	108
Figura 7.16. Sitio de unión de ácido (2S,3S)-hidroxicítrico en la M ^{pro} del SARS-CoV-2.	109
Figura 7.17. Sitio de unión de ácido(2S,3R)-hidroxicítrico en la M ^{pro} del SARS-CoV-2.	110
Figura 7.18. Mapa 2D de las interacciones ligando / M ^{pro} para ácido (2S,3S)-hidroxicítrico.	110
Figura 7.19. Mapa 2D de las interacciones ligando / M ^{pro} para ácido(2S,3R)-hidroxicítrico.	111
Figura 7.20. Resultados de la simulación de dinámica molecular para ácido (2S,3S)- hidroxicítrico.-M ^{pro} a lo largo de 100 ns.	111

Índice de tablas

	Página
Tabla 1.1 Variantes preocupantes según la OMS.	17
Tabla 2.1 Componentes del modelado molecular.	24
Tabla 2.2 Resumen de las diferentes bases STO y sus principales características.	30
Tabla 2.3 Resumen de softwares para el estudio de acoplamiento molecular y algunas de sus características más importantes.	38
Tabla 3.1 Resumen de las moléculas estudiadas y la información de cálculo.	42
Tabla 4.1. Predicción <i>in silico</i> de las propiedades la molécula aliina.	46
Tabla 4.2 Parámetros de reactividad global calculados para aliina, evaluados en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ωB97XD) en fases acuosa y gaseosa, usando las ecuaciones (2.26) a (2.37). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans.	49
Tabla 5.1. Predicción <i>in silico</i> de las propiedades de astragalina.	61
Tabla 5.2 Parámetros de reactividad global calculados para astragalina, evaluados en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ωB97XD) en fases acuosa y gaseosa, usando las ecuaciones (2.26) a (2.37). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans.	64
Tabla 6.1. Predicción <i>in silico</i> de las propiedades de HA y GA.	77
Tabla 6.2. Descriptores de reactividad global calculados para HA y HA, evaluados en X / 6-311G (d,p) [27] (donde X = B3LYP[28, 29] y B3PW91 [30]) y en fase acuosa, utilizando las ecuaciones (2.26) a (2.37). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans.	80
Tabla 7.1. Predicción <i>in silico</i> de las propiedades ADMET de (2S,3S)-ácido hidroxícítrico y ácido (2S,3R)-hidroxícítrico.	97
Tabla 7.2. Parámetros de reactividad global calculados para (2S, 3S)- ácido hidróxicítrico y (2S,3R)-ácido hidróxicítrico, evaluados al nivel de teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente en la fase acuosa, empleando ecuaciones (2.26)-(2.37). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans.	100

Capítulo 1. Antecedentes sobre el virus SARS-CoV-2 y el estudio de inhibidores presentes en componentes de la medicina tradicional mediante química computacional

El SARS-CoV-2 apareció en la población humana en China a finales de 2019, como el tipo salvaje Hu-1 [1–3] (ver Figura 1.1), este virus causó el primer brote de la enfermedad pulmonar COVID-19 [1] y ha evolucionado rápidamente en nuevas variantes [4]. El nombre SARS-CoV-2 se debe a que es 82% idéntico genéticamente al SARS-CoV (2002) [1]. Las principales manifestaciones clínicas de COVID-19, entre las variantes predominantes son: fiebre, tos, dolor de cabeza y dolor de garganta [5–9]. Mientras que las complicaciones de la enfermedad son: el síndrome Respiratorio Agudo Severo SARS-CoV por sus siglas en inglés *Severe Acute Respiratory Syndrome*, lesión cardíaca aguda, lesión renal aguda y shock [10]. Adicionalmente, se han observado una serie de síntomas persistentes que abarcan: problemas respiratorios, cardiovasculares, neurológicos, inmunológicos, manifestaciones cutáneas, gastrointestinales o renales [11]. En este sentido se ha observado una diferente intensidad de los síntomas para las diferentes cepas que han ido apareciendo, por lo que es de gran importancia contar con una terapia efectiva para tratar este padecimiento. En este sentido, existen dos categorías de agentes terapéuticos: por un lado, los basados en reforzar el sistema inmunológico (ya sea para potenciar la respuesta inmunitaria o para aliviar el daño) y por otra parte, los que atacan el ciclo de vida del virus (que buscan bloquear la unión del virus a la célula o la replicación de nuevas copias virales) [12]. Aquí, es importante mencionar que el desarrollo y evaluación de nuevos medicamentos puede tardar varios años. En este sentido, se han desarrollado diversos modelos asistidos por computadora, que permiten realizar una buena predicción para la evaluación de la actividad biológica de un fármaco, con lo que se puede disminuir mucho el tiempo de desarrollo de un fármaco nuevo [13]. Para el tratamiento de la COVID-19, se ha aprovechado el conocimiento y técnicas de acoplamiento molecular para identificar si medicamentos previamente usados para tratar otras infecciones virales, son capaces de bloquear los receptores específicos del SARS-CoV-2, como por ejemplo, los antivirales lopinavir, ritonavir y remdesivir [14]. Además, es posible realizar la búsqueda de los fármacos en fuentes naturales,

ya que aportan una variedad de posibilidades a partir de los metabolitos con actividad biológica que contienen [13].



Figura 1.1 Microscopía electrónica de los viriones del SARS-CoV-2, tomada de Figura 4 de [1].

1.1. El virus SARS-CoV-2

Los virus son agentes infecciosos y se caracterizan por tomar una célula anfitrión y apoderarse de ella para lograr sobrevivir y multiplicarse [15]. Tal es el caso del actual brote de la enfermedad respiratoria aguda COVID-19 asociada a un coronavirus, es el tercer derrame documentado de un coronavirus animal transmitido a los seres humanos en dos décadas [15]. El grupo de estudio sobre los coronaviridae reconoce que el nuevo virus es un hermano del virus de Síndrome Respiratorio Agudo Severo SARS-CoV de humano y murciélago y lo designan SARS-CoV-2 basándose en la taxonomía y práctica establecida (Ver Figura 1.2) [15]. También, se ha sugerido que existe una relación con el virus de pangolín SARSr-CoVs, donde las variaciones se atribuyen a mutaciones y selección natural, así como recombinación genética [16]. La relación entre los diferentes coronavirus ocurre debido a que comparten características estructurales y genéticas.

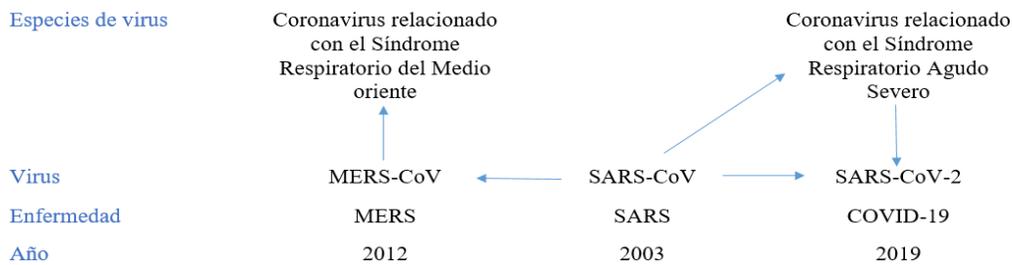


Figura 1.2 Historia del nombramiento de coronavirus durante los tres brotes zoonóticos, basada en [15].

El origen del nombre coronavirus se debe a la palabra del latín “corona” o “halo”, relacionada a su aspecto característico bajo el microscopio electrónico de transmisión bidimensional [1]. Los coronavirus son una familia de virus de ácido ribonucleico con envoltura proteica, en sentido positivo monocatenario (+)ARNs (ver Figura 1.3) pertenece al clado b de los β -coronavirus [1]. El tamaño del genoma de esta familia de virus es más grande que en la mayoría de los virus de ARN, oscilando entre 27 y 34 kb y las partículas de coronavirus son esféricas en general con un diámetro de entre 120-160 nm [17], ver Figura 2.3. Estas características estructurales dan lugar a las diferentes cepas del virus, además de tener un papel esencial en el ciclo de replicación viral.

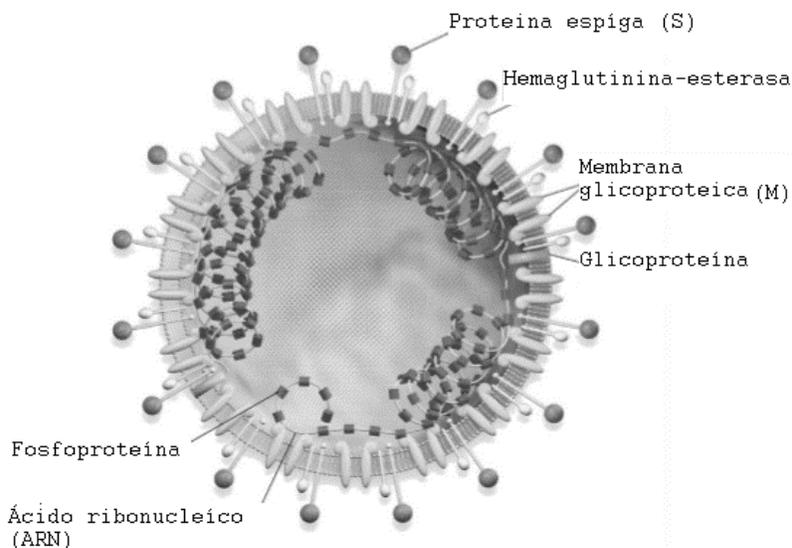


Figura 1.3 Esquema de la estructura del SARS-CoV-2, tomada de Figura 1 de [2].

1.1.2 Etapas del ciclo de vida del SARS-CoV-2

El ciclo de vida del SARS-CoV-2 se conoce razonablemente bien gracias a años de estudio de los coronavirus relacionados [18], involucra varias etapas desde la primera interacción con la célula anfitriona hasta la liberación del genoma del virus, a continuación se describen estas etapas y se esquematiza el proceso en la Figura 1.4:

- I. Adsorción. En esta etapa el virión se adhiere a la célula anfitriona [19], esto mediante una unión entre el receptor de dominio de unión de la proteína espiga y el receptor de la enzima convertidora de angiotensina II (ACE2) por sus siglas en inglés *angiotensin-converting enzyme* [10]. La cápsula altamente especializada reconoce de forma selectiva y se une al tejido objetivo [20]. En la superficie de la célula la enzima proteasa serina transmembrana II (TMPRSS2) se encarga de dividir tanto a la ACE2 como a la proteína espiga del coronavirus. Se cree que la división de la ACE2 promueve la absorción viral, mientras que la división de la espiga prepara a la partícula viral para la siguiente etapa, la fusión en la célula anfitriona [18].
- II. Penetración y desenmascaramiento. La última función de la cápside es la liberación del genoma [20]. En primer lugar, ocurre la fusión de las membranas virales y celulares. La división de la proteína espiga se produce en dos sitios, el primero es importante para la separación del receptor de dominio de unión y la segunda para exponer el péptido de fusión. La fusión tiene lugar por lo general en los endosomas acidificados. Sin embargo, algunos coronavirus pueden fusionarse en la membrana plasmática [17]. En cualquier caso, el resultado final es la liberación del ácido nucleico viral.
- III. Replicación y transcripción. En esta etapa los genes tempranos, es decir genes que no necesitan la síntesis de nuevas proteínas, toman el control de la célula anfitriona permitiendo la síntesis del ARN viral [19]. El gen replicasa viral que consiste en dos marcos de lectura directa que codifican dos poliproteínas pp1a y pp1ab. Estas contienen todas las poliproteínas no estructurales del virus, esenciales para la replicación intracelular y en esta etapa son divididas para después ser ensambladas [17].

- IV. Síntesis y ensamblaje de nucleocápside. Aquí los genes tardíos dirigen la síntesis de nuevas proteínas que se autoensamblan para formar la cápside [19]. Las poliproteínas no estructurales se ensamblan en el complejo replicasa-transcriptasa que replica el ARN viral [17].
- V. Liberación de viriones. En esta etapa las proteínas virales espiga, la membrana glicoprotéica y la envoltura se traducen y ocurre una inserción en el retículo endoplasmático y se trasladan al compartimento intermedio del retículo endoplasmático-Golgi, donde los genomas virales se encapsulan y se pellizcan de la nucleocápside para liberar los viriones maduros [17]. Existen casos donde se han observado variaciones en la proteína espiga del SARS-CoV-2, que dan como resultado la mutación del virus y la aparición de nuevas cepas virales [21].

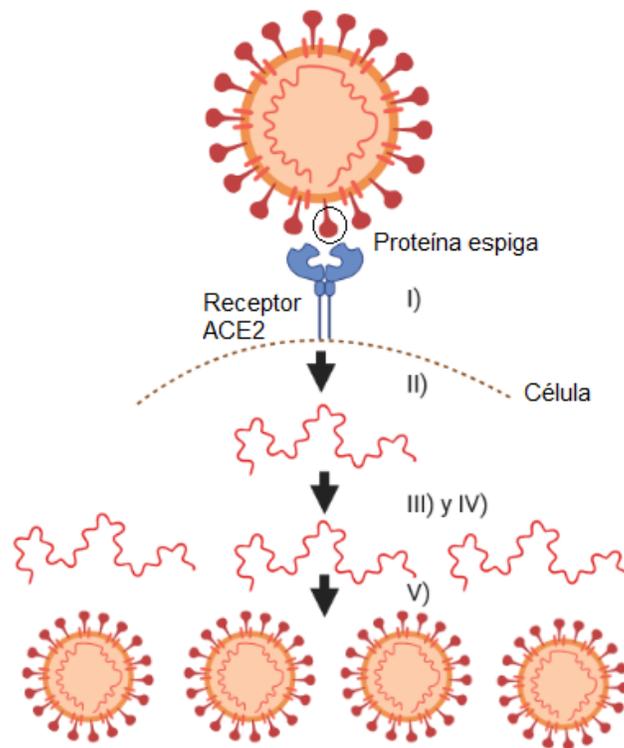


Figura 1.4 Esquema de las etapas del ciclo de vida del SARS-CoV-2 tomada de Figura 1 de [22].

1.1.3 Variantes del SARS-CoV-2

Desde su primera aparición del SARS-CoV-2 en 2019 como Hu-1, han aparecido nuevas variantes que se han etiquetado usando el alfabeto griego [23]. Las mutaciones pueden encontrarse en la parte del genoma vírico que codifica la glicoproteína de la espiga S o en el resto del genoma [23]. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS), en cooperación con autoridades nacionales, instituciones e investigadores, ha estado vigilando y evaluando la evolución del virus SARS-CoV-2 ya que la aparición de variantes supone un riesgo para la salud pública mundial. Por ello se creó el Grupo Consultivo Técnico sobre la Evolución del Virus SARS-CoV-2, y se comenzó la caracterización de las variantes como “variante de interés” (VOI), y “variante preocupante” (VOC). En función de su potencial para aumentar de la transmisibilidad, la virulencia, cambio de la presentación clínica de la enfermedad y disminución de la eficacia de las medidas sociales y de salud pública [24]. En la Tabla 1.1, se muestran algunas de las VOCs que han circulado alrededor del mundo. Esta información se encuentra en constante actualización y la variante predominante a la fecha de actualización (18 de diciembre de 2023) es la VOI que es una subvariante de Omicron de linaje pango XBB.1.5 conocida como Kraken [24].

Tabla 1.1. Variantes preocupantes según la OMS basada en [24].

Nombre	Linaje pango	Lugar de aparición
Alpha	B.1.1.7	Reino Unido
Beta	B.1.357	Sudáfrica
Gamma	P.1	Brasil
Delta	B.1.617.2	India
Omicron	B.1.1.529	Varios países

Cabe mencionar que la aparición de nuevas variantes han causado nuevas olas pandémicas y suprimido las variantes anteriores [23]. En este sentido, se plantea cual será el nivel de infectividad de cada cepa, y por ello se ha identificado la dependencia de la infectividad de la concentración de partículas en el aire [23]. Otro factor importante es la velocidad de entrada del virus a la célula [23]. Finalmente, de la tasa de biosíntesis de los componentes de

los nuevos viriones y su excreción, lo que consiste en la replicación, transcripción, traducción, autoensamblaje y maduración [23], aquí es posible. En caso de la entrada y la biosíntesis se hace referencia a las etapas del ciclo de vida del virus para el cual se tienen algunos objetivos farmacológicos identificados como se presenta a continuación.

1.2 Tratamiento de la COVID-19

Debido a las funciones fisiológicas fundamentales en la invasión y la replicación viral, se consideran tres principales targets moleculares[25]. El primero es el receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), que interactúa con la proteína espiga viral, lo que da lugar a la inserción del genoma del virus dentro de la célula [25]. A su vez, con los targets restantes se busca inhibir la replicación y transcripción viral bloqueando los sistemas receptores involucrados en el procesamiento de las poliproteínas que se traducen del ARN viral [26]. Este es el caso de la proteasa principal M^{pro} , que es responsable de procesar las proteínas no estructurales restantes de los coronavirus SARS y otras subunidades del complejo de la replicasa transcriptasa [3, 25–27], mientras que, el complejo de transcripción reversa dependiente del ARN RdRp (nsp12) controla la replicación y transcripción viral [3, 25–27]. En el presente trabajo se seleccionó la proteasa principal como objetivo de estudio, debido a que es un target que no se ve modificado en los diferentes coronavirus, además de que existe información sobre su estructura cristalina y de su mecanismo de inhibición enzimática como se describe a continuación.

1.2.1 Proteasa principal M^{pro}

La proteasa nsp5 (M^{pro} , 3CL pro) de los coronavirus es un objetivo terapéutico importante debido a su papel indispensable en la expresión genética y el procesamiento de la replicación del coronavirus. Entre los coronavirus, en las proteasas nsp5 generalmente se conserva su identidad de secuencia [26, 27]. En 2020, Jin y colaboradores obtuvieron la estructura cristalina de la proteasa principal del SARS-CoV-2 [3]. En la Figura 1.5, se observa que la proteasa M^{pro} se encuentra formada por dos protómeros A y B que están divididos en tres dominios, donde la bolsa de unión al sustrato se ubica en una hendidura entre el dominio I (residuos 8-101) y II (residuos 102-184). Además, se muestra la proteasa en complejo con el ligante N3; este ligante dio los mejores resultados de IC_{50} para la inhibición de la proteasa

principal al unirse con su sitio activo en la diada catalítica CYS145-HIS164, la cual es similar en otros coronavirus [3]. Los inhibidores del sitio catalítico mostraron actuar como inhibidores de la reacción de adición Michael, este hecho se confirmó a través de la adición de diferentes estructuras propuestas que formaron un enlace covalente de 1.8 Å entre el átomo de azufre S γ del residuo de CYS145 con el carbono C β del grupo vinilo en la estructura propuesta, lo que se observa en la Figura 1.5c [3]. Este tipo de interacción es conocida, ya que el grupo electrofílico puede alquilar nucleófilos biológicos como la cisteína. La inhibición de la proteasa principal del SARS-CoV-2 podría bloquear la replicación viral además, es poco probable que estos inhibidores sean tóxicos ya que no se conocen proteasas humanas con una especificidad de anclaje similar [28]. En este sentido, contar con la estructura principal proporciona una base para el desarrollo de estudios *in silico* orientados al diseño de nuevos inhibidores.

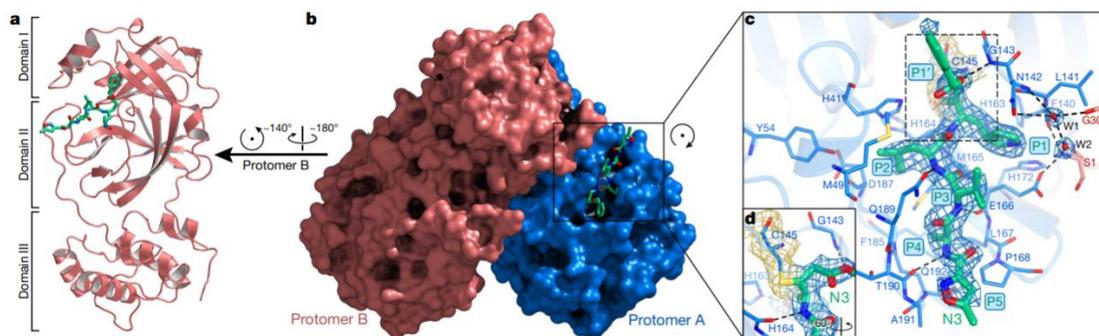


Figura 1.5 Estructura cristalina del SARS-CoV-2 M^{pro} en complejo con N3, tomado de Figura 1 de [3].

1.3 Enfoque del diseño molecular asistido por computadora

La química computacional se refiere al uso de técnicas computacionales aplicadas a la química [29]. Estas herramientas computacionales han mostrado una gran eficacia en el diseño de nuevos fármacos ya que permiten a la industria farmacéutica desarrollar medicamentos vinculados a objetivos específicos, lo que optimiza el proceso y permite invertir en nuevas actividades de investigación [13]. En este sentido, el modelado molecular es el proceso de describir sistemas químicos complejos, en términos de un modelo atómico

realista, con la finalidad de comprender y predecir las propiedades macroscópicas a partir de un conocimiento detallado a escala atómica [29]. Un estudio de rutina en el modelado molecular es la exploración virtual por medio del acoplamiento molecular, que utiliza diferentes algoritmos para ajustar el ligante en el objetivo molecular [30]. Debido a que los receptores poseen los sitios de unión de un fármaco-ligante es primordial conocer la estructura del objetivo [13]. Una vez identificado el sistema receptor, la siguiente tarea es la búsqueda de posibles ligandos con potencial actividad biológica.

1.4 Fármacos derivados de la medicina tradicional

Dada a la importancia de estudiar los targets moleculares capaces de inhibir la actividad del SARS-CoV-2, las fuentes naturales son una opción para la búsqueda de ligantes ya que ofrecen una variedad de estructuras de metabolitos activos, además, eficacia oral y compatibilidad de uso tradicional [31]. En este sentido, en México existe una gran diversidad de especies vegetales, dado que su territorio se encuentra en una de las seis regiones de alta densidad biológica en el mundo. De hecho, el uso de la herbolaria se reconoce desde tiempos remotos para el alivio de las dolencias. Con el paso del tiempo se han descubierto los compuestos puros que son responsables de la actividad biológica de la plantas, lo que ha permitido desarrollar fármacos efectivos a partir de la modificación estructural de dichos compuestos aislados de plantas medicinales [32].

1.5 Justificación

El 11 de marzo de 2020 la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró el brote de coronavirus una pandemia [28], debido a su propagación por todos los continentes. Mientras el virus y sus nuevas variantes [4] sigan en algún país, las re-infecciones serán inevitables y cíclicas [33]. Se sabe que la letalidad del COVID-19 disminuye significativamente con un trato médico oportuno [34], sin embargo aún no se ha desarrollado un tratamiento específico. Por lo mencionado, surge el interés de realizar un estudio teórico, sobre moléculas presentes en plantas medicinales tradicionales de México y su actividad en el tratamiento contra el SARS-CoV-2. En el presente trabajo se realizó un estudio de la reactividad química de moléculas con actividad analgésica, antiviral y antiinflamatoria, presentes en plantas medicinales, mediante el uso de la Teoría de los Funcionales de la Densidad. Debido a que, este tipo de estudio brindará información importante que servirá de base para conocer la

interacción de estas moléculas bioactivas con la proteasa principal M^{pro} , además de poder conocer el tiempo que permanecen unidas. Con esta información se contribuirá de forma importante en el conocimiento de la capacidad de estas moléculas podrían inhibir la replicación del virus SARS-CoV-2.

1.6 Hipótesis

Es posible identificar moléculas de origen natural con potencial actividad antiviral contra el virus SARS-CoV-2, mediante la utilización de las teorías aceptadas de la mecánica clásica y cuántica y simulaciones computacionales.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo general

Estudiar moléculas con actividad biológica que se encuentran presentes en plantas de uso tradicional en México y evaluar la inhibición enzimática de la proteasa principal M^{pro} y su actividad contra el virus SARS-CoV-2 mediante química computacional.

1.7.2 Objetivos específicos

1. Realizar una búsqueda bibliográfica que permita identificar los sistemas receptores involucrados en el mecanismo viral del SARS-CoV-2.
2. Hacer una búsqueda bibliográfica y en la localidad de los metabolitos de plantas de uso tradicional en México que tengan potencial actividad contra el SARS-CoV-2.
3. Hacer un primer estudio de acoplamiento receptor/ligante usando la estructura cristalina de la M^{pro} y los principios bioactivos de las plantas medicinales.
4. Optimizar la geometría de las estructuras de los de los ligantes más adecuados, mediante el empleo de la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) en fase acuosa.
5. Determinar los parámetros de reactividad derivados de las optimizaciones realizadas empleando DFT y analizar la toxicidad de las moléculas optimizadas empleando el concepto de poder de electroaceptación.
6. Realizar un segundo estudio de acoplamiento receptor/ligante con las estructuras optimizadas en fase acuosa de los metabolitos que en el primer acoplamiento se unieron en el sitio activo.

7. Realizar una simulación de dinámica molecular para la configuración óptima receptor / ligante.

Capítulo 2. Conceptos teóricos del diseño de fármacos asistido por computadora

La química computacional se refiere al uso de técnicas computacionales aplicadas a la química [13]. Estas herramientas computacionales han mostrado una gran eficacia en el diseño de nuevos fármacos ya que permiten a la industria farmacéutica desarrollar medicamentos vinculados a objetivos específicos, lo que optimiza el proceso y permite invertir en nuevas actividades de investigación [13]. En el presente capítulo no centraremos en el modelado molecular (MM), que es el proceso de describir sistemas químicos complejos, en términos de un modelo atómico realista, con la finalidad de comprender y predecir las propiedades macroscópicas a partir de un conocimiento detallado a escala atómica [29]. En relación a los modelos matemáticos empleados en la descripción de los sistemas químicos existen varios enfoques y metodologías. También se tratarán ampliamente los enfoques basados en la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT), los cuales han avanzado como herramientas computacionales aptas para el tratamiento de sistemas de interés y aplicaciones en la química médica [35]. Otro enfoque tratado a continuación es el estudio de acoplamiento que proviene del diseño racional de fármacos, donde el principio que produce los efectos benéficos de los fármacos es el reconocimiento y la unión de ligantes a objetivos específicos [30]. El último tema que se abordará en este capítulo es el cálculo de dinámica molecular. En donde se enfatiza la forma compleja que cambia con el tiempo [30].

2.1 Modelado molecular

Gracias al aumento de la potencia de cálculo disponible para la investigación en los últimos 50 años se ha potenciado el desarrollo de las herramientas informáticas para complementar los enfoques experimentales [36]. En este sentido, el modelado molecular ofrece métodos cada vez más precisos para simular, explicar y predecir las estructuras tridimensionales y propiedades fisicoquímicas de las moléculas [37], lo que es de utilidad para conocer las características y propiedades de los sistemas moleculares antes de ser sintetizados, esto permite descartar compuestos inadecuados para el uso de interés y optimizar el tiempo de trabajo, materias primas y residuos generados [38] lo que ha mejorado su rentabilidad en relación con los experimentos de laboratorio [39].

Los programas que realizan el MM llevan a cabo una variedad de experimentos teóricos para la obtención de información sobre las propiedades de las moléculas a partir de los componentes mostrados a continuación [37]. El primer componente son los métodos de cálculo para conocer las energías del sistema, estos métodos de cálculo pueden ser empíricos, semiempíricos, ab initio o funcionales de la densidad [37], aquí los sistemas con energías más negativas son los más estables [38]. El siguiente elemento es el estudio conformacional de las estructuras tridimensionales de las moléculas. Y finalmente el análisis e interpretación de los resultados que permite la aplicación de los métodos a problemas específicos [37].

Tabla 2.1. Componentes del modelado molecular.

Componentes	Características
Métodos de cálculo	Calculan las energías y propiedades electrónicas.
Manipulación de la geometría molecular	Estudio conformacional.
Procedimientos de análisis	Interpretación de resultados.

Existen dos grupos para clasificar el MM en base a principios físicos, por un lado los cálculos de campos de fuerza que permiten la predicción de estructuras y propiedades de las moléculas fundamentada en la física clásica [40]. Por otro lado, los métodos de estructura electrónica que permiten obtener la energía y propiedades de las moléculas empleando la mecánica cuántica y la ecuación de Schrödinger [40], las cuales se discutirán y se definirán las ecuaciones y términos correspondientes a continuación.

2.2 La ecuación de Schrödinger

A principios del siglo XX, los físicos encontraron que la mecánica clásica no describe correctamente el comportamiento de partículas pequeñas como electrones y los núcleos de los átomos. El comportamiento de estas partículas se rige por un conjunto de leyes denominado *mecánica cuántica* [41], que describen matemática y probabilísticamente el comportamiento electrónico de los átomos [37]. La ecuación de Schrödinger, ec. (2.1), es la base de los métodos de química computacional [37], donde \hat{H} es el denominado operador Hamiltoniano del sistema, E es la energía, y Ψ es la función de onda del sistema [37].

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (2.1)$$

La función de onda describe de forma probabilística el comportamiento de los electrones y el núcleo y permite predecir la probabilidad de que los electrones se encuentren ubicados en cierta región de la molécula. La ecuación (2.2) muestra cómo está definido el operador Hamiltoniano, sobre la partícula i . Las partículas son el electrón y el núcleo, El primer término representa a la energía cinética de la partícula, mientras que el segundo término es la energía de repulsión de Coulomb. Los subíndices m_i y q_i son la masa y carga de la partícula i . r_{ij} es la distancia entre las partículas. Donde ∇_i^2 es el operador Laplaciano, definido en la ecuación (2.3) [37].

$$\hat{H} = -\sum_i^{\text{partículas}} \frac{\nabla_i^2}{2m_i} + \sum_{i<j}^{\text{partículas}} \sum \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2.2)$$

$$\nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \quad (2.3)$$

Los métodos de estructura electrónica permiten realizar la evaluación de la función de onda de un sistema mediante la resolución de la ecuación de Schrödinger [37]. Estos métodos se clasifican en tres tipos dependiendo de los principios teóricos que los fundamentan [37]. Los primeros son los métodos *ab initio*, después los métodos semiempíricos y finalmente la teoría de los funcionales de la densidad. A continuación, se describirán las características de estos métodos.

2.2.1 Métodos *ab initio*

El nombre *ab initio* proviene del latín “a primeros principios” y hace referencia a un tipo de cálculo basado en los principios fundamentales [41]. Este tipo de cálculos son aproximaciones matemáticas derivadas de principios teóricos, sin tomar en cuenta datos experimentales, únicamente se consideran valores de constantes físicas fundamentales [41]. El tipo de cálculo principal en los métodos *ab initio* se llama el método de Hartree-Fock (HF).

En el método HF es posible conocer la función de onda exacta para el átomo de hidrógeno y para algunos átomos con una mayor cantidad de electrones, como helio ($2e^-$) o litio ($3e^-$), también ha sido posible calcular funciones de onda, distancias interelectrónicas y frecuencias vibracionales con buena precisión [37]. Por otro lado, en caso de sistemas moleculares con una mayor cantidad de electrones el cálculo se vuelve imposible debido a que las ecuaciones que describen este tipo de sistemas son muy complejas [37]. En este sentido, se han

desarrollado métodos que toman algunas consideraciones y aproximaciones para resolver este problema [37], como se muestra más adelante.

2.2.1.1 El Hamiltoniano molecular

En un sistema molecular, la función de onda depende del total de partículas que lo conforman. Por esta razón, al construir la ecuación del Hamiltoniano molecular es necesario considerar las coordenadas de los núcleos y electrones, con sus respectivos operadores de energía cinética. La ecuación (2.4) expresa el Hamiltoniano molecular como la suma de un operador de energía cinética \hat{T} y otro de energía potencial \hat{V} [42].

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} = -\frac{\hbar^2}{2}\nabla^2 + V \quad (2.4)$$

Expresado en unidades atómicas queda de la siguiente forma:

$$\hat{T} = -\frac{\hbar^2}{2}\sum_i^{el} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \right) - \frac{1}{2}\sum_l^{nuc} M^{-1} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_l^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_l^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_l^2} \right) \quad (2.5)$$

Mientras que para el operador de energía potencial, la expresión es la siguiente:

$$\hat{V} = -\sum_i^{el} \sum_l^{nuc} \frac{Z_l}{|r_i - R_l|} + \sum_i^{el} \sum_j^{el} \frac{Z_l}{|r_i - R_j|} + \sum_l^{nuc} \sum_{m < l}^{nuc} \frac{Z_l Z_m}{|R_l - R_m|} \quad (2.6)$$

Aquí se representan la interacción electrón-núcleo, electrón-electrón y núcleo-núcleo, respectivamente [42], donde M y Z representan la masa y número atómico de los núcleos [42]. Las expresiones de las interacciones pueden ser simplificadas mediante la aproximación que se presenta a continuación.

2.2.1.1.1 La aproximación de Born-Oppenheimer

La aproximación de Born-Oppenheimer es una simplificación al Hamiltoniano molecular, donde se considera que la masa de los núcleos es más grande comparada con la de los electrones $m_{nuc} \gg 1836.1 m_{el}$, esto significa que los electrones se mueven en una superficie de energía potencial generada por los núcleos y permite hacer una separación de las ecuaciones que describen el movimiento del núcleo con respecto al electrón [43]. La ecuación de Schrödinger con la nueva expresión del Hamiltoniano molecular quedaría de la siguiente forma [42]:

$$H^{ele}\psi^{ele} = E\psi^{ele} \quad (2.7)$$

2.2.1.1.2 El espín electrónico

De acuerdo al principio de Pauli, sabemos que no es posible que dos electrones tengan los mismos números cuánticos, esto es resultado del requerimiento de antisimetría. En este sentido, el determinante de Slater es una función antisimétrica formada por espín-orbitales, ver ecuación (2.8), donde cada columna de la matriz representa un espín-orbital, mientras que las filas representan las coordenadas [42].

$$\psi(r_1, r_2 \dots r_n) = \begin{vmatrix} \phi_1(r_1) & \phi_2(r_1) & \dots & \phi_n(r_1) \\ \phi_1(r_2) & \phi_2(r_2) & \dots & \phi_n(r_2) \\ \phi_1(r_3) & \phi_2(r_3) & \dots & \phi_n(r_3) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(r_n) & \phi_2(r_n) & \dots & \phi_n(r_n) \end{vmatrix} \quad (2.8)$$

2.2.2 Método Hartree-Fock

El método de HF se obtuvo por la sustitución de un determinante de Slater en la ecuación de Schrödinger, como resultado se obtiene la ecuación de Schrödinger donde el Hamiltoniano exacto se sustituye por el término de Fock (\bar{F}). El Hamiltoniano de Fock no considera la interacción electrónica uno a uno mediante el potencial de Coulomb, en su lugar considera una interacción promedio entre el total de los electrones del sistema [42]. Dado que no es posible separar la ecuación de Schrödinger para un átomo debido a los términos de repulsión electrónica, es necesario despreciar el término, este procedimiento se conoce como el tratamiento de perturbaciones. Lo anterior da como resultado separar n ecuaciones hidrogenoides monoeléctricas y una función de onda de orden cero, producto de n orbitales hidrogenoides monoeléctricos [42].

La función de onda que se obtiene está descrita como un producto antisimétrico, el determinante de Slater, de espín-orbitales ϕ_i , para lo cual el método de HF consiste en hallar los orbitales ϕ que den la mínima energía del sistema a partir de la ecuación:

$$\bar{F}(1)\phi_i(1) = \varepsilon_i\phi_i(1) \quad (2.9)$$

donde ε_i es la energía del orbital y \bar{F} es el operador de Fock que se define en la ecuación (2.10). En el caso de moléculas de capa cerrada, $h(1)$ es la suma de la energía cinética para un electrón más la energía potencial de la atracción entre el electrón 1 con los núcleos. Mientras que J_j y K_j son operadores, el segundo conocido como operador de intercambio [42].

$$\bar{F}(1) = h(1) + \sum_{j=1}^{N/2} [2J_j(1) - K_j(1)] \quad (2.10)$$

La expresión del operador coulombico, que describe el promedio de las interacciones entre los electrones del sistema, se obtiene al hacer la consideración de una función que es producto de funciones de onda ϕ_i normalizadas para cada electrón. Esta es una función de onda de orden cero. Así, la ecuación de Schrödinger se separa en n ecuaciones monoeléctricas, y la función de onda de orden cero es el producto de n orbitales monoeléctricos [7].

$$\psi^{(0)} = f_1(r_1\theta_1\phi_1)f_2(r_2\theta_2\phi_2) \dots f_n(r_n\theta_n\phi_n) \quad (2.11)$$

Debido a que el operador \bar{F} es dependiente de funciones propias que no son conocidas inicialmente, es necesario resolver las ecuaciones mediante iteraciones. Con el fin de obtener la expresión de la energía de los orbitales, se multiplica la ecuación (2.9) por $\phi_i^*(1)$, y posteriormente se integra sobre todo el espacio (suponiendo que ϕ_i está normalizada) para obtener la ecuación (2.12). El cálculo de la energía del orbital ε_i se realizó aplicando procedimientos iterativos a la ecuación de Schrödinger para un electrón. El cálculo de la energía potencial incluye las interacciones promedio entre el electrón 1 y 2, 1 y 3...1 y n , debido a que la suma de la energía de los orbitales de todos los electrones no es la misma que la energía del sistema [42].

$$\varepsilon_i = \int \phi_i^*(1)F(1)\phi_i(1)dv_1 \quad (2.12)$$

La expresión de la energía óptima de Hartree-Fock (E_{HF}) quedaría como en la ecuación (2.13) después de dejarla en términos de sumatorias e introduciendo la definición del operador de Fock, donde la $2 \sum_{i=1}^{n/2} \varepsilon_i$ es el orbital molecular para cada uno de los dos electrones [42].

$$E_{HF} = 2 \sum_{i=1}^{n/2} \varepsilon_i - \sum_{i=1}^{n/2} \sum_{j=1}^{n/2} (2J_{ij}(1) - K_{ij}(1)) \quad (2.13)$$

Los orbitales moleculares se calcularon gracias a la propuesta que hizo Roothaan en 1951, donde los orbitales ϕ_i se expresaron como una combinación lineal de un conjunto de funciones de base χ_s de un electrón:

$$\phi_i = \sum_{s=1}^b C_{si}\chi_s \quad (2.14)$$

Cuando b es suficientemente grande y las funciones χ_s son correctamente elegidas, las representaciones de los orbitales moleculares tienen un error despreciable.

Se sustituye ϕ_i en la ecuación de HF y después se multiplica por x_s^* y se integra en todo el espacio para obtener:

$$\sum_{s=1}^b C_{si} (F_{rs} - \varepsilon_i S_{rs}) = 0 \quad (2.15)$$

donde

$$F_{rs} = \langle x_r | F | x_s \rangle \quad (2.16)$$

y

$$S_{rs} = \langle x_r | x_s \rangle \quad (2.17)$$

forman un sistema de b ecuaciones simultáneas con b incógnitas C_{si} donde $s=1,2,3,\dots,b$ y se describen los orbitales moleculares de ϕ_i . Para lograr obtener una solución no trivial es necesario cumplir la siguiente expresión:

$$\det(F_{rs} - \varepsilon_i S_{rs}) = 0 \quad (2.18)$$

La ecuación (2.18) es una de las ecuaciones denominadas las ecuaciones de Hartree-Fock-Roothan, esta simplificación se conoce como el método de Combinación Lineal de Orbitales Atómicos y su posterior ortonormalización y mezcla mediante un proceso iterativo [9, 10]. Este procedimiento se conoce como el “método de campo autoconsistente”, (*selfconsistent field*) SCF por sus siglas en inglés, cuyo objetivo es encontrar el valor de las incógnitas C_{si} , el cual no debe cambiar después de dos iteraciones más allá de un límite establecido, que se denomina parámetro de convergencia [7].

2.2.2.1 Conjuntos de funciones de base

La mayoría de los métodos mecanocuánticos moleculares comienzan con el cálculo de las funciones de base x_s para expresar los orbitales moleculares (OMs) $\phi_i = \sum_{s=1}^b C_{si} x_s$. La elección de una base adecuada es esencial para el éxito del cálculo [41]. En las moléculas diatómicas, las funciones de base se toman como orbitales atómicos, algunos centrados sobre un átomo y los restantes centrados sobre los otros átomos. En este sentido, cada OM se puede representar como la combinación lineal de uno o más orbitales atómicos (CLOA) de tipo Slater (STO). Un STO centrado en un átomo a tiene la forma [41]:

$$N r_a^{n-1} e^{-\delta r_a} Y_l^m(\theta_a, \phi_a) \quad (2.19)$$

En el caso de moléculas no lineales, se usa la forma real del STO, donde se reemplaza Y_l^m por $(Y_l^{m*} \pm Y_l^m)/2^{1/2}$.

Debido a que no es posible lograr una representación precisa de los orbitales atómicos (OA) utilizando únicamente un orbital de tipo Slater, es posible extender el número de STOs para mejorar la descripción (ver Tabla 2.2), [41, 44].

Tabla 2.2. Resumen de las diferentes bases STO y sus principales características, elaboración propia.

Nombre de la base	Descripción
Base Doble-Zeta (DZ)	Contiene 2 funciones STOs para cada OA
Base extendida (Triple Zeta (TZ) y Cuádruple Zeta (QZ))	Contiene cualquier número mayor que dos de funciones para cada OA
Base "Split-Valence" (DZV) ((VDZ) y (VTZ))	Conjunto de bases es mínima por capas de OA internos y doble o triple Zeta para los OAs de valencia
Base DZ con Polarización (DZP) ((VDZ) y (VTZ))	Se agregan funciones de base STOs, con números cuánticos l sean mayores que el máximo l de la capa de valencia del átomo en su estado fundamental

Con la finalidad de acelerar la evaluación de las integrales moleculares, Boys propuso en 1950, usar funciones tipo gaussianas (FTG) en la CLOA, en lugar de STO. Una gaussiana cartesiana en el átomo b se define de la siguiente forma [41]:

$$g_{ijk} = N x_b^i y_b^j z_b^k e^{-\alpha r_b^2} \quad (2.20)$$

donde $i, j, y k$ son enteros no negativos, α es un exponente orbital positivo, x_b, y_b y z_b son coordenadas con origen en el núcleo b.

La constante de normalización gaussiana cartesiana es:

$$N = \left(\frac{2\alpha}{\pi}\right)^{3/4} \left[\frac{(8\alpha)^{i+j+k} i! j! k!}{(2i)!(2j)!(2k)!}\right]^{1/2} \quad (2.21)$$

Cuando $i+j+k=0$ (en caso de que $i=0$, $j=0$ o $k=0$), la FTG se denomina gaussiana tipo s. Cuando $i+j+k=1$, tenemos una gaussiana tipo p, que contiene un factor x_b , y_b y z_b . Mientras que si $i+j+k=2$ es una gaussiana tipo d. Hay seis tipos de gaussianas tipo d, con los factores x_b^2 , y_b^2 , z_b^2 , $x_b y_b$, $x_b z_b$, y $y_b z_b$ [41].

Pople y colaboradores desarrollaron los conjuntos de base STO-3G [45, 46], este es un conjunto de bases mínimas con n gaussianas en combinaciones fijas para cada una de las funciones de base, 3-21G, que son DZV con tres o seis funciones primitivas en cada uno de los conjuntos de bases mínimas, que hace una descripción del núcleo de los átomos y dos o tres primitivas en la primera de las dos contraídas en la DZ de valencia [45, 46]. Adicionalmente, existen otros conjuntos de base similares, los 3-21G* y 6-31G**, los cuales incluyen funciones de polarización en los átomos de la primera fila, a excepción de los hidrógenos, también puede aparecer como (d) además de los asteriscos sin paréntesis. Los asteriscos entre paréntesis se usan para representar funciones desde el Na hacía arriba. La información de los conjuntos de base se encuentra en el programa gaussian [45, 46].

2.2.3 Métodos semiempíricos

Los métodos semiempíricos se basan en un Hamiltoniano y una función de onda como en los métodos HF. Sin embargo, ciertos datos se aproximan y se omiten algunas integrales ya que sus valores se obtienen de la parametrización del método y la vinculación a los datos experimentales o a los cálculos *ab initio* [38, 41]. La parametrización de estos métodos se lleva a cabo generalmente usando la geometría y la energía de calor de formación, momentos de dipolo, calores de reacción y potenciales de ionización. En este sentido, existe una variedad de aproximaciones realizadas en los métodos semiempíricos, algunos ejemplos son: El método CNDO (Complete Neglect of Differential Overlap), en el que se ignora completamente el traslape diferencial. También el método INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap), en el que se ignora de forma incompleta el traslape diferencial y el MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap) [41], la aproximación con el parámetro de cutoff en la que se hacen cortes finitos para las interacciones diatómicas [38, 41]. En 1987 se publicó una mejora del método MNDO, el modelo de Austin AM1, que por lo general predice calores de formación y es popular para compuestos orgánicos. Posteriormente Stewart lo re-

parametrizó para dar origen al método PM3. Finalmente los métodos PM6 y PM7, son versiones corregidas de los métodos semiempíricos AM1 y PM3 [47].

2.2.4 Teoría de los funcionales de la densidad

El concepto de funcional de la densidad surgió a finales de 1920 derivado del trabajo de E. Fermi y L. H. Thomas donde se propusieron expresar la energía de un sistema como una función de su densidad electrónica. Años después en 1951 J. C. Slater aplicó la misma idea en el método Hartree-Fock-Slater, que inició como una metodología aproximada a la teoría de HF, pero actualmente es considerada como predecesor de la Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT) [48]. Posteriormente en 1960 P. Hohenberg y W. Kohn publicaron un teorema donde demostraron que la energía del estado basal de un sistema electrónico no degenerado y la correspondiente propiedad electrónica está definida por su densidad electrónica [48]. El teorema de Hohenberg-Kohn confirma la existencia de un funcional que relaciona la energía de un sistema con la densidad electrónica y la energía de un sistema como $E_0 = E_0[\rho_0]$, sin embargo no nos dice cuál es el funcional [48]. De hecho, el funcional que relaciona estas dos cantidades es el objetivo de los métodos DFT. En este sentido, W. Kohn y L. Sham desarrollaron una aproximación para el funcional de energía cinética [48].

La premisa de la aproximación de Kohn-Sham es que el funcional de energía cinética de un sistema se puede dividir en dos partes: puede calcularse exactamente y por otro lado, considerando los electrones como partículas no interactuantes, usando un término de corrección. Siguiendo el lenguaje de Kohn-Sham, dentro de una formulación orbital la energía electrónica del estado basal de un sistema compuesto de n electrones y N núcleos puede escribirse como [48, 49]:

$$E[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \Psi_i^*(r_1) \nabla_i^2 \Psi_i(r_1) dr_1 - \sum_{X=1}^N \int \frac{Z_X}{r_{X_i}} \rho(r_1) dr_1 + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + E^{XC}[\rho] \quad (2.22)$$

Donde Ψ_i ($i=1, 2, \dots, n$) son los orbitales de Kohn-Sham, el primer término representa la energía cinética de los electrones no interactuantes, el segundo término tiene en cuenta las interacciones núcleo-electrón, el tercer término corresponde a las repulsiones de Coulomb entre r_1 y r_2 y el último término es conocido como el término de intercambio y correlación, representa la corrección de la energía cinética que surge para la interacción natural de los

electrones y todas las correcciones no clásicas para la energía de repulsión electrón-electrón [48].

La densidad electrónica $\rho(r)$ para una localización (r) se puede escribir como un conjunto de orbitales de un electrón de Kohn-Sham, dados por la ecuación (2.23). La importancia de los orbitales de Kohn-Sham es que permiten calcular la densidad electrónica a partir de la siguiente ecuación, de forma autoconsistente [48]:

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^n |\Psi_i|^2 \quad (2.23)$$

Los orbitales de Kohn-Sham se pueden obtener al resolver las ecuaciones de Kohn-Sham. Estas se pueden derivar aplicando el principio variacional para la energía electrónica $E[\rho]$, donde la densidad de carga está dada por [48]:

$$\hat{h}_i \Psi_i(r_i) = \epsilon_i \Psi_i(r_i) \quad (2.24)$$

donde \hat{h}_i es el Hamiltoniano de Kohn-Sham y ϵ_i representa la energía del orbital de Kohn-Sham asociado. El Hamiltoniano se escribe como sigue [48]:

$$\hat{h}_i = \frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{X=1}^N \frac{Z_X}{r_{Xi}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{12}} dr_2 + V^{XC}(r_1) \quad (2.25)$$

En esta ecuación $V^{XC}(r_1)$ es el funcional derivado de la energía de intercambio y correlación que se expresa como sigue [48, 49]:

$$V^{XC}(\rho) = \frac{\delta E^{XC}(\rho)}{\delta \rho} \quad (2.26)$$

Si conocemos E^{XC} , se puede obtener V^{XC} . La energía de intercambio y correlación E^{XC} , se divide en dos términos: Un término de intercambio E^X y un término de correlación E^C . El término de intercambio se asocia a las interacciones entre los electrones del mismo espín, mientras que el término de correlación representa las interacciones entre los electrones con espín opuesto [48].

$$E^{XC}(\rho) = E^X(\rho) + E^C(\rho) \quad (2.27)$$

Los dos términos $E^X(\rho)$ y $E^C(\rho)$ son funcionales de la densidad electrónica, conocidos como el potencial de intercambio y correlación. Estos componentes pueden ser de dos tipos:

funciones locales que dependen solo de la densidad electrónica y las que son corregidas por el gradiente que dependen de ρ y de $\Delta\rho$ [48].

En este sentido, la aproximación de densidad local (LDA) constituye la aproximación más simple para representar el funcional de intercambio y correlación. En esta aproximación se asume que la energía de intercambio y correlación en un punto en el espacio, es una función de la densidad electrónica en ese punto en el espacio y puede ser dada por la densidad electrónica de un gas de electrones homogéneo de la misma densidad [48]. Slater propuso una nueva aproximación llamada la aproximación local de densidad de espín (LSDA), donde introdujo la dependencia del espín en los funcionales para resolver problemas de incoherencia [48]. Debido a que los sistemas moleculares típicos son generalmente diferentes a un gas de electrones homogéneo, donde su densidad $\rho(r)$ es variable, se desarrolló un nuevo método de aproximación de gradiente generalizado, teniendo en cuenta este efecto. En los métodos de aproximación de gradiente generalizado (GGA) las energías de intercambio y correlación además de depender de la densidad electrónica también dependen del gradiente de la densidad electrónica $\Delta\rho(r)$ [48]. Además de este tipo de aproximación, es posible mezclar combinar el intercambio-correlación de estas aproximaciones de la densidad electrónica con un porcentaje de intercambio exacto de Hartree-Fock, a este tipo de métodos se les conoce como híbridos y un ejemplo muy conocido es el funcional de densidad híbrido B3LYP [48]. Después de lograr obtener los valores de energía del sistema es posible realizar una serie de definiciones para aplicarlos a nuestros sistemas y obtener información.

2.2.4.1 Parámetros de reactividad

Existen una serie de parámetros derivados de la DFT que describen la reactividad de las moléculas, ver Figura 2.1. En el apartado A de la Figura 2.1, se reportan los descriptores de reactividad global [50–52], el potencial químico electrónico junto con su valor negativo que es definido como la electronegatividad de Mulliken, la dureza y finalmente, el índice electrofilicidad [53]. Por otro lado, en el apartado B de la misma Figura 2.1, se presentan los descriptores de reactividad local. En el caso de la aproximación de núcleo congelado (FC) [50], donde $\rho_H(r)$ es la densidad electrónica del orbital HOMO, y $\rho_L(r)$ es la densidad electrónica del orbital LUMO. En el caso de la aproximación de diferencias finitas (FD) [50], existen dos posibilidades, por un lado hacer el cálculo empleando la densidad electrónica de

las especies aniónica $\rho_{N-1}(r)$, catiónica $\rho_{N+1}(r)$ y neutra $\rho_N(r)$. y por otro lado empleando las cargas atómicas [51], donde q_j es la carga atómica en el sitio j ésimo anionico ($N + 1$), catiónico ($N - 1$) y neutra (N), de las especies químicas. Finalmente en la última sección se muestra el índice de interacciones no covalentes (NCI) [52], mediante esta expresión es posible visualizar las zonas de interacción máxima dentro de los átomos de la molécula a partir del gradiente de densidad reducido. Una vez que se realiza la descripción de la reactividad de las moléculas mediante la DFT, se pueden realizar también otros estudios que permitan conocer sus propiedades bioactivas.

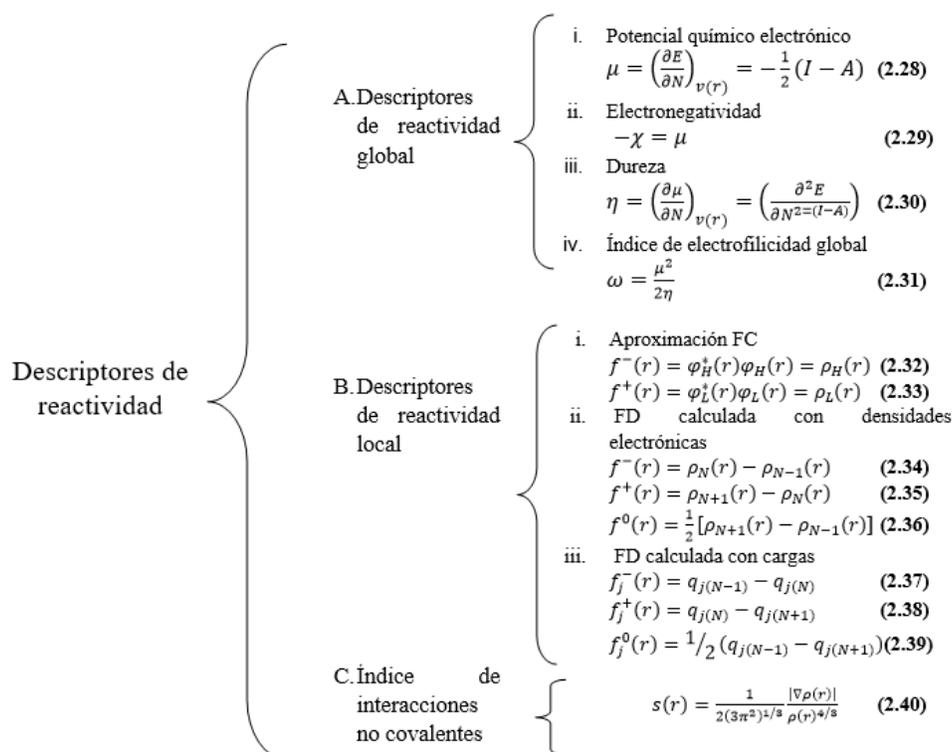


Figura 2.1 Mapa conceptual de los descriptores de reactividad derivados de la DFT, elaboración propia.

2.3 Diseño de fármacos asistido por ordenador

El diseño racional de fármacos ha avanzado mucho gracias a que cada vez mejora la eficiencia de cómputo de los modelos matemáticos. En este sentido, existe una amplia gama de algoritmos, cuyo objetivo principal es analizar las características farmacológicas de las moléculas. En la figura 2.2 se muestra un diagrama de flujo de los principales caminos seguidos en la búsqueda de potenciales compuestos guía [30]. Este diagrama incluye el

diseño de fármacos basado en la estructura y por otro lado, el diseño de fármacos basado en el ligante [30]. Un paso esencial en todos los casos es el estudio de acoplamiento molecular y finalmente, la validación se realiza mediante el cálculo de la dinámica molecular [30]. Cabe mencionar que debido a que los receptores poseen los sitios de unión de un fármaco es primordial conocer la estructura del objetivo o target [13].

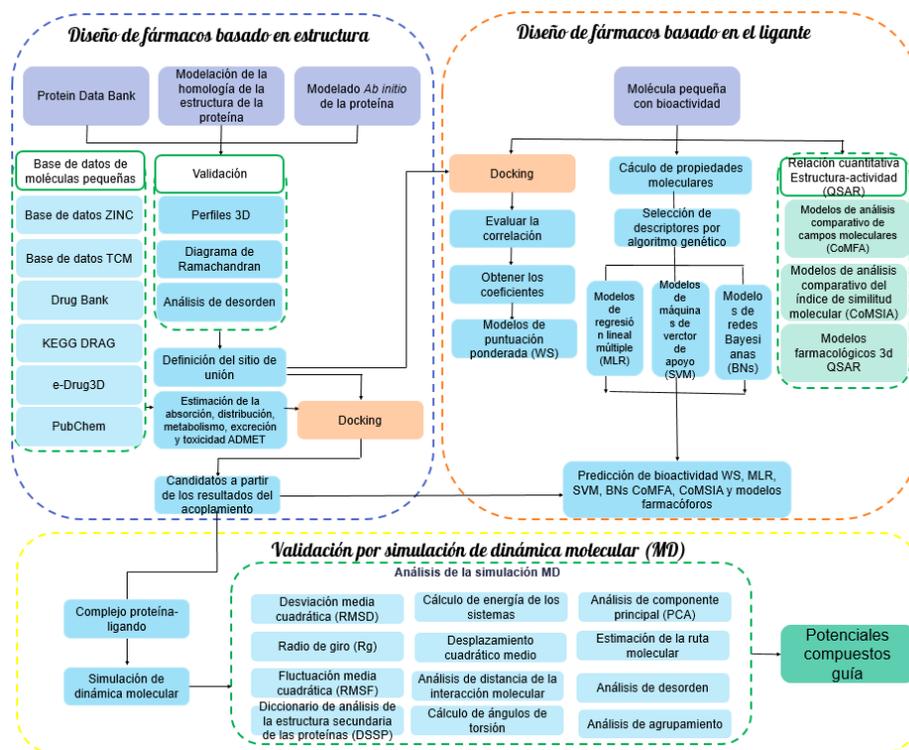


Figura 2.2 Diagrama de flujo que resume los pasos empleados durante el diseño de fármacos asistido por ordenador, basada en Figura 9 de [30].

2.3.1 Estudio de acoplamiento molecular

La teoría del acoplamiento molecular (docking) proviene del concepto de “llave-cerradura” propuesta por Fischer [54]. Los primeros métodos de docking reportados se basan en este principio, en donde se consideraban al ligando y al receptor como cuerpos rígidos [54]. Posteriormente Koshland planteó que el sitio activo de una proteína cambia su conformación dependiendo de las interacciones con el ligando [54], procedimiento de rutina en la exploración virtual y optimización para el diseño de fármacos [30]. Se puede decir que los objetivos principales del estudio de acoplamiento molecular son: predecir la conformación o pose de unión de un ligando en un complejo ligando-receptor y evaluar la afinidad de unión

que está dada por la función de puntuación, ver figura 2.3 [54] En este sentido. Algunos de los algoritmos de acoplamiento que destacan el diseño de fármacos basado en la estructura son: Diseño de fármacos basado en fragmentos, de acoplamiento flexible o rígido y el acoplamiento en solución y pH específicos [30].

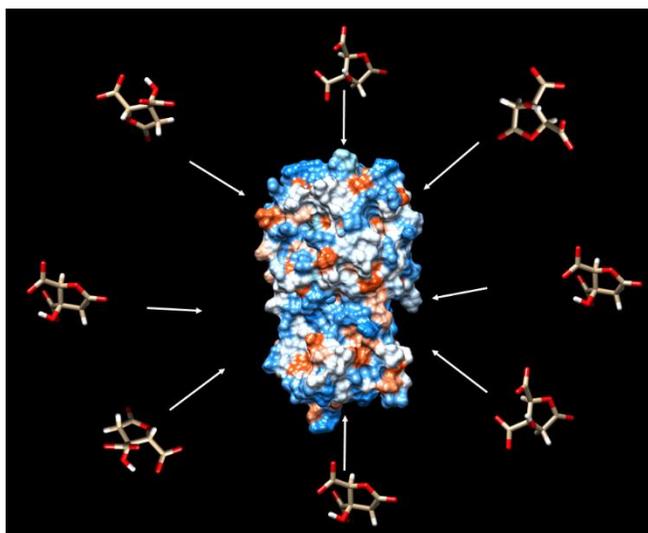


Figura 2.3 Ilustración del proceso de acoplamiento para hallar la pose de unión y su afinidad asociada, basada en Figura 1 de [55].

Como se mencionó, un punto importante en el acoplamiento es la flexibilidad del complejo. En este sentido, existen tres posibilidades: el acoplamiento rígido-rígido donde la proteína es tratada como un cuerpo rígido y solo se exploran grados de libertad traslacionales y rotacionales, mientras que el ligando es considerado un cuerpo rígido sin grados de libertad conformacional, el segundo tipo de acoplamiento es el rígido-flexible en el cual la proteína es tratada como rígida pero se exploran los grados de libertad traslacionales, rotacionales y conformacionales del ligando, el tercer tipo de acoplamiento es flexible-flexible, aquí la proteína se considera parcial o totalmente flexible y se pueden explorar los grados de libertad del ligando [54]. En la tabla 2.2 se muestran diferentes algoritmos donde se indican sus características, en este sentido es importante mencionar que los principales algoritmos en la búsqueda de las soluciones de los candidatos en el proceso del acoplamiento son: los algoritmos sistemáticos, aleatorios o estocásticos y por otro lado los métodos de simulación determinística que incluye el cálculo de minimización de la energía y de dinámica molecular [54].

Tabla 2.2 Resumen de softwares para el estudio de acoplamiento molecular y algunas de sus características más importantes, elaboración propia.

Nombre	Algoritmo de búsqueda	Función de puntuación	Características	URL
AutoDock 4	Algoritmo genético	Semiempírico	Rígido-flexible	https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/
Autodock VINA	Algoritmo genético	Semiempírico	Rígido-flexible	https://vina.scripps.edu/downloads/
Dock	Algoritmo de fragmentación	Campo de fuerza molecular	Flexible	https://dock.compbio.ucsf.edu/
Glide	Búsqueda sistemática exhaustiva	Semiempírico	Flexible	https://newsite.schrodinger.com/platform/products/glide/
rDOCK	Algoritmo genético, MC, minimización	Campo de fuerza molecular	Rígido	https://rdock.github.io/download/

2.3.2 Estudio de acoplamiento molecular

Además del docking molecular, otra técnica importante para el análisis de la interacción entre el target con un ligante es el cálculo del “movimiento” del complejo o dinámica molecular. En esta se enfatiza la forma del complejo que cambia con el tiempo, esto reduce la capacidad y aumenta el tiempo de cálculo. La dinámica molecular, es una validación esencial antes de poder sacar cualquier conclusión del estudio de acoplamiento, debido a que involucra el análisis de los principios del diseño de fármacos que se muestran a continuación [30]:

- A. Acoplamiento rápido y tiempo largo de residencia.
- B. Acoplamiento lento pero tiempo largo de residencia.
- C. Acoplamiento rápido y tiempo corto de residencia.
- D. Acoplamiento lento y tiempo corto de residencia.

Este protocolo se basa en algoritmos de cálculos teóricos y nos brinda una opción alternativa a la realización de pruebas experimentales bioquímicas al azar [30]. En este sentido, existen

investigaciones que basan su búsqueda de ligantes en fuentes naturales, con lo que se obtienen una gran diversidad de opciones de moléculas bioactivas de estudio [13].

Desde sus inicios en los años 60's, la dinámica junto con desarrollos en la fisicoquímica, bioquímica, tecnología y computación se ha convertido en una poderosa herramienta en la exploración virtual y optimización para la detección y comprensión de compuestos químicos orientados al diseño de fármacos [30]. En la ecuación (2.41) se muestra la expresión que describe la aproximación de las fuerzas atómicas que rigen el movimiento molecular. Los primeros tres términos de la ecuación son las fuerzas causadas por interacciones entre los átomos que están químicamente unidos entre sí, mientras el último término es para describir las fuerzas causadas por átomos que no están unidos [56]. Los enlaces químicos y los ángulos atómicos se modelan mediante resortes simples y ángulos diedros, es decir, rotaciones en torno a un enlace. Eso mediante una función sinusoidal que aproxima las diferencias de energía entre las conformaciones eclipsada y escalonada. Por otro lado, las fuerzas no enlazada, surgen debido a las interacciones de Van der Waals, modeladas mediante el potencial de Lennard-Jones y las interacciones electrostáticas se modelan empleando la ley de Coulomb [56]. En la Figura 2.3 se ilustran las fuerzas involucradas en la ecuación (2.41).

$$E_{total} = \sum_{enlaces} K_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{ángulos} K_\theta (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}} \right] \quad (2.39)$$

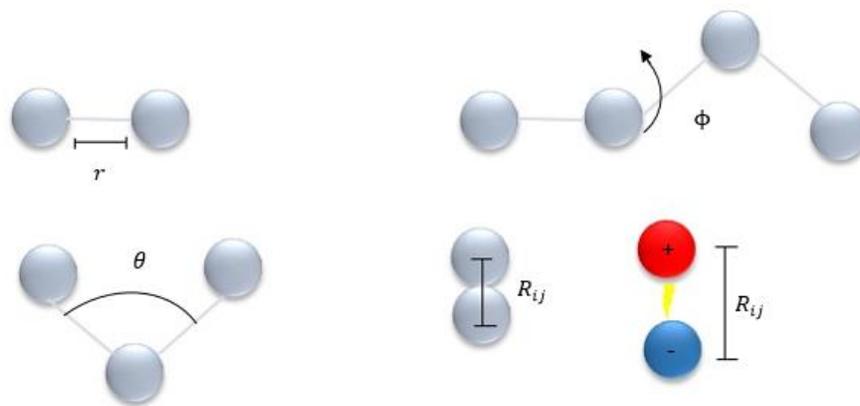


Figura 2.4 Representación de las interacciones que describen el movimiento molecular, basada en Figura 3 de [56].

Capítulo 3. Metodología

En el presente trabajo se realizó un cribado virtual de 101 fitoquímicos bioactivos (Tabla A-1) mediante un primer estudio de acoplamiento molecular. Las estructuras de los compuestos se construyeron utilizando el código SMILES obtenido en la base de datos PubChem [57]. Las estructuras de las seis moléculas con una pose de unión adecuada: aliina, astragalina, ácido hibiscus, ácido garcinia, ácido (2S,3S)-hidroxicítrico y ácido (2S,3R)-hidroxicítrico fueron sometidas a una optimización geométrica completa en la fase acuosa empleando diferentes niveles de teoría. En los capítulos 3 y 4 para las moléculas aliina y astragalina se empleó el nivel de teoría X / DGDZVP [58] (donde X = B3LYP [59, 60], M06 [61], M06L [62], y ω B97XD [63]), en el capítulo 5 para ácido hibiscus y ácido garcinia y en el capítulo 6 para el ácido (2S,3S)-hidroxicítrico se empleó el nivel X / 6-311G (d,p) [64] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65]). Finalmente, en el capítulo 6 para el ácido (2S,3R)-hidroxicítrico se utilizó el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) [66] (donde X = B3LYP [59, 60] y B3PW91 [65]). La optimización de la fase disolvente se llevó a cabo utilizando el modelo de continuo polarizable (PCM) desarrollado por Tomasi y colaboradores [67, 68]. En todos los casos se calcularon las frecuencias de vibración para asegurarse de que los puntos estacionarios fueran mínimos en la superficie de energía potencial. Todos los cálculos cuánticos aquí reportados fueron realizados con el paquete Gaussian 09 [69], y visualizados con los paquetes GaussView [70], Arguslab [71], Gabedit [72] y Multwfn [73]. El estudio de acoplamiento para las moléculas aliina, astragalina, ácido hibiscus, ácido garcinia y ácido (2S,3S)-hidroxicítrico El estudio de acoplamiento se realizó a través del servidor web SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38] y en el caso del diastereoisómero (2S,3R) del ácido hidroxicítrico se utilizó el software AutoDock Tools [74]. El complejo ligando-receptor se realizó mediante los programas Chimera [39] y Discovery Studio Visualizer 2019 [40], mientras que el cálculo y la visualización de la dinámica molecular se realizaron mediante los programas GROMACS [41] y VMD [42], respectivamente. Se generó una caja de simulación y el complejo proteína-ligando se colocó en el centro de la caja. Se mantuvo al menos 1.0 nm desde el borde del ligando proteico hasta el límite de la caja cúbica. Posteriormente, se agregaron a la caja de simulación las moléculas de solvente (agua) y iones Na⁺ para para solvatar y equilibrar las cargas en el sistema. Antes

de la simulación MD, se realizó un proceso de minimización de energía para garantizar una estructura inicial razonable en términos de geometría y orientación del solvente. Después, el equilibrio se llevó a cabo en dos fases. La primera fase se llevó a cabo bajo un conjunto NVT (número constante de partículas, volumen y temperatura) hasta que la temperatura del sistema alcanzó una meseta en el valor deseado. En el siguiente paso, para estabilizar la presión y alcanzar la densidad adecuada, el equilibrio de presión se realizó bajo un conjunto NPT (conjunto isotérmico-isobárico) durante 1 ns. Luego se realizó una MD durante 100 ns para analizar la estabilidad del complejo proteína-ligando. Este procedimiento se resume en la siguiente tabla:

Tabla. 3.1. Resumen de las moléculas estudiadas y la información de cálculo.

Molécula	Capítulo	Nivel de teoría	Características del estudio de acoplamiento	Características de la simulación MD
Alíina	3	X / DGDZVP [58] (donde X = B3LYP [59, 60], M06 [61], M06L [62], y ω B97XD [63])	SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38]	Moléculas de agua=19212 t_{MD} (ns) =20
Astragalína	4	X / DGDZVP [58] (donde X = B3LYP [59, 60], M06 [61], M06L [62], y ω B97XD [63])	SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38]	Moléculas de agua=19209 t_{MD} (ns) =50
Ácido hibiscus	5	X / 6-311G (d,p) [64] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65])	SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38]	Moléculas de agua=19209 t_{MD} (ns) =100
Ácido garcinia	5	X / 6-311G (d,p) [64] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65])	SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38]	Moléculas de agua=19208 t_{MD} (ns) =100
Ácido (2S,3S)-hidroxicítrico	6	X / 6-311G (d,p) [64] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65])	SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38]	Moléculas de agua=19210 t_{MD} (ns) =100
Ácido (2S,3R)-hidroxicítrico	6	X / 6-311++G (d,p) [66] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65])	AutoDock Tools [74]	NA

Capítulo 4. Reactividad química de aliina y sus interacciones moleculares con la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2

La aliina (ácido (2*R*)-2-amino-3-[(*S*)-prop-2-enilsufanil]propanoico) es el compuesto azufrado más importante presente en el ajo *Allium sativum* [75]. Es bien sabido que aliina es un compuesto bioactivo con actividad medicinal, y sus compuestos organosulfurados sirven como importantes péptidos de almacenamiento e intermedios sintéticos [76]. La aliina ha mostrado actividad anticancerígena [77] y antibiótica [78]. Además, la aliina presenta acciones cardio y neuro protectoras y es capaz de suprimir las respuestas inflamatorias [76]. Asimismo, se ha estudiado su actividad antiviral contra el herpes simple tipo 1 y 2, gripe tipo 3, virus vaccinia, estomatitis vesicular y rinovirus humano. Sin embargo, a las concentraciones de trabajo ha presentado citotoxicidad por lo que es necesario ampliar el estudio [79]. Además, la aliina y sus sulfóxidos derivados han mostrado un mecanismo de acción que previene la formación de radicales libres por captura de electrones, lo que da lugar a su actividad antioxidante [80]. También se ha evaluado como inhibidor de la M^{pro} del SARS-CoV-2 mediante el estudio de acoplamiento molecular y dinámica molecular [81]. Se descubrió que la formación de enlaces de hidrógeno entre esta proteasa de tipo serina y la aliina en las regiones del sitio activo inhibe el brote de COVID-19 [81]. Este último resultado sugiere que la aliina puede utilizarse aislada o en combinación con el principal fármaco terapéutico para tener una terapia eficaz para erradicar el SARS-CoV-2 con los menores efectos secundarios y toxicidad [82]. Sin embargo, no se ha desarrollado ningún fármaco basado en el potencial de esta molécula bioactiva. En este sentido, la determinación de sus propiedades electrónicas podría permitir comprender el efecto terapéutico hacia diferentes enfermedades. Hasta donde sabemos, solo se han estudiado diferentes derivados azufrados de aliina desde el punto de vista teórico empleando métodos semiempíricos [83] y métodos ab initio para investigar sus propiedades estructurales, modos vibracionales y estructura electrónica [84]. Por lo tanto, en el presente trabajo, determinamos los parámetros de reactividad global y local de aliina y analizamos sus interacciones moleculares en el sitio de unión para evaluar la capacidad de este compuesto para inhibir la M^{pro}.

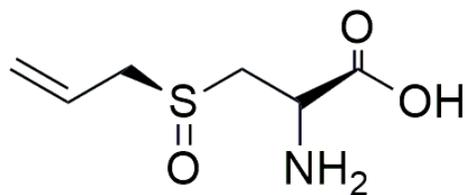


Figura 4.1. Estructura química de aliina (ácido (2*R*)-2-amino-3-[(*S*)-prop-2-enilsulfanil]propanoico).

4.1 Metodología

La estructura de aliina se sometió a una optimización geométrica completa en la fase acuosa empleando el nivel teórico X/DGDZVP [58] (donde X = B3LYP,[19] M06,[20] M06L,[21] y ω B97XD[22]). La optimización de la fase disolvente se llevó a cabo utilizando el modelo polarizable continuo (PCM) desarrollado por Tomasi et al [67]. En todos los casos, se calcularon las frecuencias vibratorias para garantizar que los puntos estacionarios fueran mínimos en la superficie de energía potencial. Todos los cálculos cuánticos aquí reportados se realizaron con el programa Gaussian 09 [69] y se visualizaron con los paquetes GaussView [70], Gabedit [85] y Multwfn [73]. El estudio de acoplamiento se realizó a través del servidor web SwissDock, implementado por el Instituto Suizo de Bioinformática [38]. El complejo ligando-receptor se realizó mediante los programas Chimera [39] y Discovery Studio Visualizer 2019 [40], mientras que el cálculo y la visualización de la dinámica molecular se realizaron mediante los programas GROMACS [41] y VMD [42], respectivamente. Se generó una caja de simulación y el complejo proteína-ligando se colocó en el centro de la caja. Se mantuvo al menos 1.0 nm desde el borde del ligando proteico hasta el límite de la caja cúbica. Posteriormente, se agregaron a la caja de simulación 19,208 moléculas de solvente (agua) y 4 iones Na^+ para ambas moléculas para solvatar y equilibrar las cargas en el sistema. Antes de la simulación MD, se realizó un proceso de minimización de energía para garantizar una estructura inicial razonable en términos de geometría y orientación del solvente. Después, el equilibrio se llevó a cabo en dos fases: la primera fase se llevó a cabo bajo un conjunto NVT (número constante de partículas, volumen y temperatura) hasta que la temperatura del sistema alcanzó una meseta en el valor deseado. En el siguiente paso, para estabilizar la presión y alcanzar la densidad adecuada, el equilibrio de presión se realizó bajo

un conjunto NPT (conjunto isotérmico-isobárico) durante 1 ns. Luego se realizó una MD durante 100 ns para analizar la estabilidad del complejo proteína-ligando.

4.2 Resultados y discusión

Los resultados presentados aquí, se obtuvieron después de seleccionar las moléculas en el primer estudio de acoplamiento. Se continuó con la evaluación de las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas.

4.2.1 Regla de cinco de Lipinski y predicción ADMET

La regla de cinco de Lipinski y los parámetros ADMET de aliina se calcularon usando el servidor ADMETlab 2.0 [86]. Aliina obedece a la regla de cinco de Lipinski que incluye las siguientes propiedades (valores óptimos entre paréntesis [87]): logP de -2.91 (<5), número de aceptores de enlaces de hidrógeno AHB de 4 (<10), número de donadores de enlaces de hidrógeno DHB igual a 3 (<5), número de enlaces rotativos igual a 5 (<10) y peso molecular de 177.05 g / mol (<500). La Tabla 4.1 muestra los resultados de la predicción de las propiedades ADMET, aquí, aliina mostró un valor de permeabilidad Caco-2 que excedió al mínimo, sin embargo, su absorción intestinal es alta. Además, presenta valores aceptables de distribución en el organismo. En cuanto al metabolismo, se predijo que aliina es sustrato para los subtipos A2, 2C19 y 2CD6, además no es metabolizada por CYP3A4 y podría inhibir a CYP2C9. La liquidación total de aliina es baja, mientras que su tiempo de vida media es corto. Finalmente se utilizaron pruebas para conocer su toxicidad, lo que reveló que la molécula no muestra hepatotoxicidad, presenta mutagenicidad media según la prueba AMES y baja toxicidad oral en ratas y carcinogenicidad.

Tabla 4.1. Predicción *in silico* de las propiedades ADMET de la molécula aliina. Los datos que se reportan se obtuvieron con el software MGA y RDKit, implementado en el servidor ADMETlab 2.0 [86].

Propiedad	Nombre del modelo	Valor óptimo	Valor de aliina
Absorción	Permeabilidad Caco-2	>-5.15 (log Papp en 10 ⁻⁶ cm/s)	-5.65
	Absorción intestinal (humana)	Categorico: Alta, media, baja	Alta
Distribución	Unión a las proteínas del plasma	<90 %	28.10 %
	Distribución de volumen	0.04-20 L / Kg	0.35
Metabolismo	Inhibidor CYP2A2	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP2A2	Categorico (Sí/No)	Sí
	Inhibidor CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP2C19	Categorico (Sí/No)	Sí
	Inhibidor CYP2C9	Categorico (Sí/No)	Sí
	Sustrato CYP2C9	Categorico (Sí/No)	No
	Inhibidor CYP2CD6	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP2CD6	Categorico (Sí/No)	Sí
	Inhibidor CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No
Excreción	Liquidación total	Alta >15 Moderada 5-15 Baja <5 (log ml/min/kg)	4.60
	Tiempo de vida media	Vida media larga > 3h Vida media corta < 3h	0.81
Toxicidad	Hepatotoxicidad humana	Categorico (Sí/No)	No
	Toxicidad AMES	Categorico: Alta, media, baja	Media
	Toxicidad oral aguda en ratas	Baja 0 Alta 1 (log mg/kg_bw/día)	0.238
	Carcinogenicidad	Probabilidad	0.3

4.2.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de aliina con DFT

La estructura de aliina se optimizó sin restricciones en el nivel teórico X/DGDZVP en fase acuosa [58] (donde X = B3LYP[59], M06 [61], M06L [62] y ω B97XD [63]), y la estructura optimizada se esquematiza en la Figura 4.2. Aquí es importante mencionar que no se obtuvieron diferencias significativas, ni en distancias ni en ángulos, cuando se consideró el efecto del solvente en los diferentes niveles de teoría empleados en este trabajo. Todos los valores de frecuencia calculados en el nivel teórico X / DGDZVP [58] en ambas fases fueron positivos y concuerdan con los valores reportados en la literatura, lo que sugiere que el nivel de teoría empleado es capaz de predecir las propiedades electrónicas de la aliina.

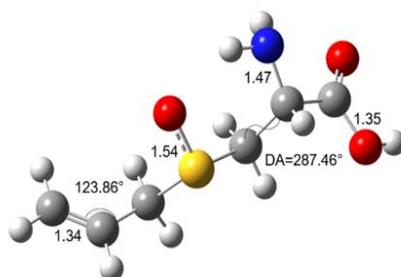


Figura 4.2. Estructura de la aliina optimizada al nivel teórico B3LYP/DGDZVP en la fase acuosa utilizando el modelo de solución PCM. Las distancias de enlace se dan en Angstroms, DA=Ángulo diedro.

En la Figura 4.3 se muestra un resumen de las bandas principales para la fase acuosa presente en el espectro de aliina, que están a 270 cm^{-1} para un doblamiento NH fuera del plano, 580 cm^{-1} para un doblamiento OH fuera del plano, 970 cm^{-1} estiramiento S=O, 1160 cm^{-1} , estiramiento N-C, 1780 cm^{-1} estiramiento C=O, 3060 cm^{-1} estiramiento C-H, 3500 cm^{-1} estiramiento N-H y 3690 cm^{-1} estiramiento O-H.

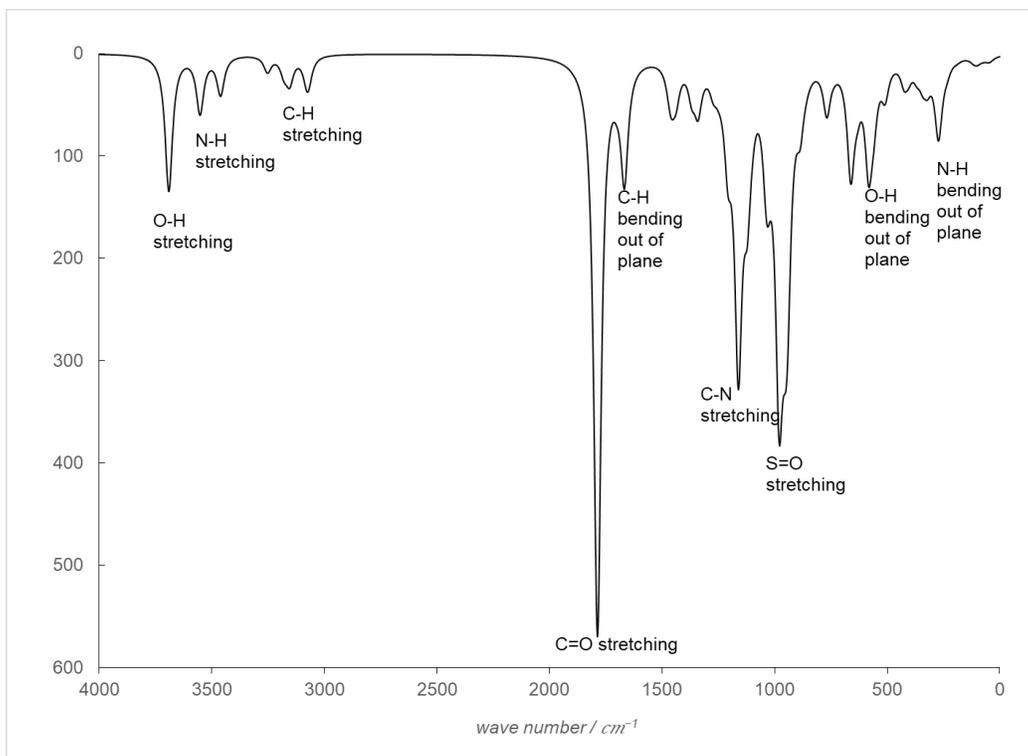


Figura 4.3. Espectro IR teórico de aliina en la fase acuosa obtenido al nivel de teoría B3LYP/DGDZVP.

4.2.3 Descriptores de reactividad global

Los descriptores de reactividad global para la aliina se evaluaron utilizando las ecuaciones (2.28) a (2.31) y se reportan en la Tabla 4.2. Los valores de energía de ionización indican que es costoso, desde el punto de vista energético, el donar electrones, mientras que la afinidad electrónica indica que es favorable aceptar electrones, por lo que aliina actúa como oxidante y esto se puede comparar con el óxido de nitrógeno, para el cual se han reportado valores similares al nivel de teoría M062x / 6-311+G(2d,2p) [88]. Al comparar los diferentes niveles de teoría empleados para el cálculo, se observa que para los descriptores I , μ y η los valores del funcional M06L varían en comparación con los demás, lo que estaría relacionado con contribuciones de tipo organometálicas no covalentes [61, 89], posiblemente debido a la estructura de organoazufre.

Tabla 4.2 Parámetros de reactividad global calculados para aliina, evaluados en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD) en fases acuosa y gaseosa, usando las ecuaciones (2.28) a (2.31). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans [90].

	I / eV	A / eV	μ / eV	η / eV	μ^-	μ^+	χ / eV	ω / eV	ω^+ / eV	ω^- / eV
B3LYP	6.76	0.94	-3.85	5.81	-6.76	-0.94	3.85	1.27	0.08	3.93
	(-0.83)	(-6.76)	(3.80)	(5.92)	(0.83)	(6.76)	(-3.80)	(1.22)	(3.85)	(0.06)
M06	6.89	0.82	-3.86	6.07	-6.89	-0.82	3.86	1.22	0.06	3.91
	(-0.51)	(-7.07)	(3.79)	(6.56)	(0.51)	(7.07)	(-3.79)	(1.09)	(3.81)	(0.02)
M06L	8.64	0.96	-4.80	7.68	-8.64	-0.96	4.80	1.50	0.06	4.86
	(0.96)	(-5.89)	(2.46)	(6.85)	(-0.96)	(5.89)	(-2.46)	(0.44)	(2.53)	(0.07)
WB97XD	6.92	0.33	-3.63	6.59	-6.92	-0.33	3.63	1.00	0.01	3.63
	(1.28)	(-8.90)	(3.81)	(10.18)	(-1.28)	(8.90)	(-3.81)	(0.71)	(3.89)	(0.08)

4.2.4 Descriptores de reactividad local

La reactividad local de un sistema molecular se puede evaluar mediante la Función Fukui, utilizando las aproximaciones FC y FD. La Figura 4.4 muestra la distribución de los sitios electrófilos en aliina, utilizando la aproximación FC en la fase acuosa. Tenga en cuenta que para aliina la distribución HOMO se localiza sobre el sulfóxido y el alqueno, mientras que la distribución LUMO se localiza sobre toda la molécula exceptuando a los hidrógenos unidos por nitrógeno.

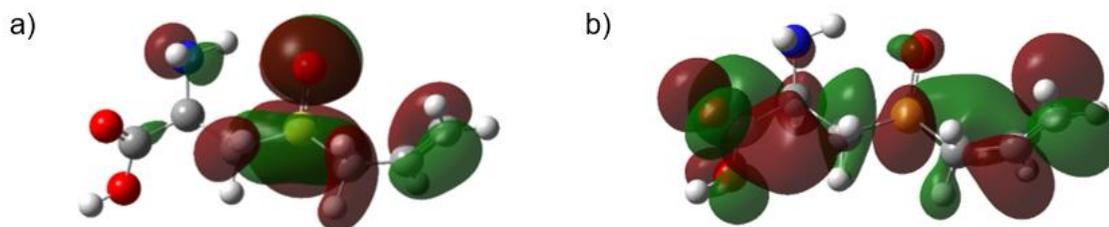


Figura 4.4. Distribuciones HOMO y LUMO de aliina obtenidas en el nivel teórico B3LYP/DGDZVP en la fase acuosa utilizando el modelo de solución PCM. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.08 e.u.a.³.

La evaluación de la Función Fukui utilizando la aproximación FD (ecuaciones (2.34)-(2.36)) en la fase acuosa se muestra en la Figura 4.5 para la aliina. Los sitios más activos hacia los ataques nucleofílicos se encuentran en los carbonos del alqueno (Figura 4.5a). Para los ataques electrofílicos, los sitios más reactivos se encuentran en la región del sulfóxido (Figura 4.5b), mientras que para los ataques de radicales libres los sitios más reactivos coinciden con los sitios en donde se llevan a cabo los ataques nucleofílicos y electrofílicos (Figura 4.5c).

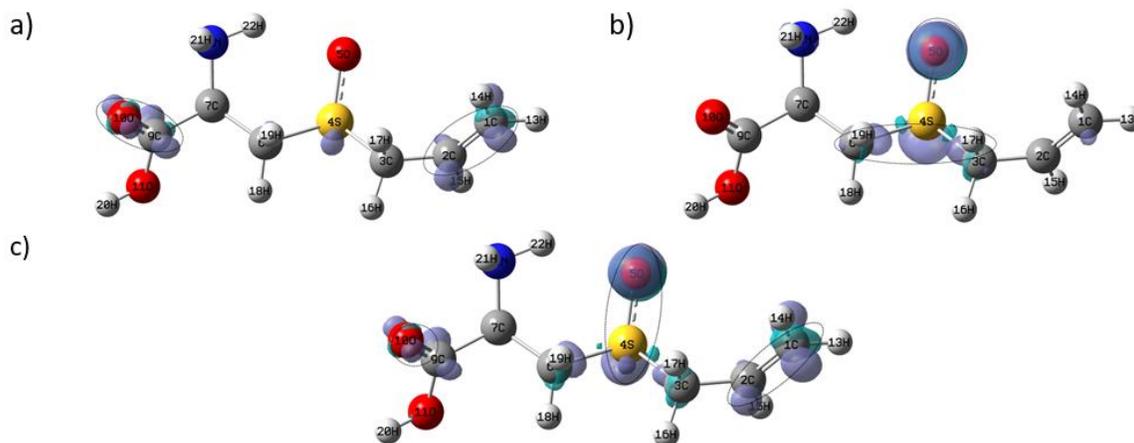


Figura 4.5. Isosuperficies de las funciones de Fukui para la aliina según las ecuaciones (2.34)-(2.36)) en el nivel teórico B3LYP/DGDZVP utilizando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a $0,008 \text{ e/a.u.}^3$. Los círculos punteados muestran las zonas más reactivas de cada molécula.

Además, es posible condensar la función de Fukui a través de las ecuaciones (2.37)-(2.39) para identificar la distribución puntual de los sitios activos porque los valores más altos de CFF corresponden a los átomos más reactivos en la molécula [50]. En el caso de ecuaciones (2.37)-(2.39), utilizamos el análisis poblacional de Hirshfeld para evaluar los valores de CFF porque los valores obtenidos no son negativos [91, 92]. Los valores de CFF para ataques nucleofílicos en los diferentes niveles de la teoría, para aliina calculados en fase acuosa, se muestran en la Figura 4.6. Tenga en cuenta que la aliina exhibe los sitios más susceptibles a los ataques nucleofílicos sobre el alqueno; en el caso del ataque electrofílico, los sitios más reactivos están en la zona del sulfóxido (Figura 4.7); mientras que los sitios más reactivos ante el ataque de los radicales libres son 1C, 9C, 4S y 5O (Figura 4.8).

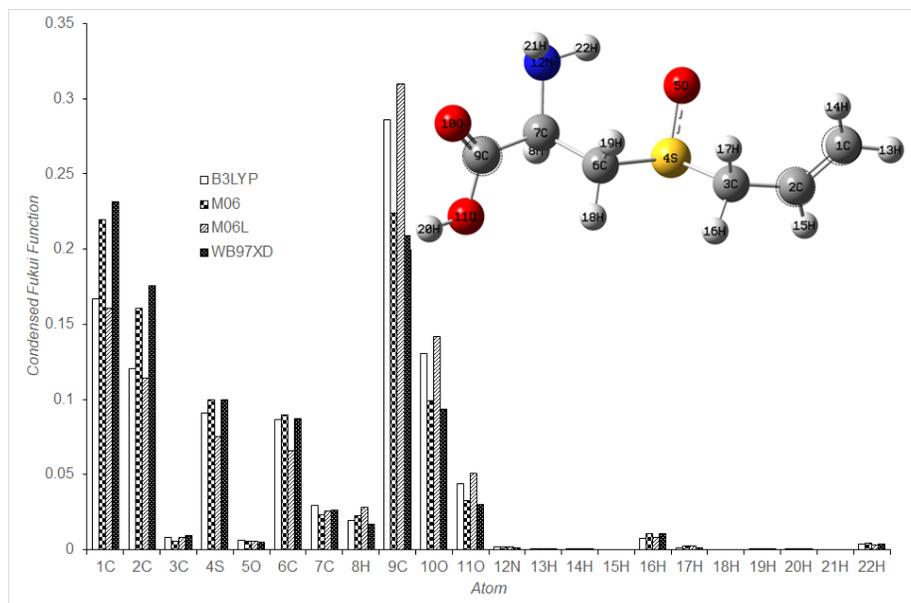


Figura 4.6. Valores condensados de la función de Fukui para ataques nucleofílicos a aliina en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en fase acuosa usando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos de puntos muestran las zonas más reactivas de cada molécula.

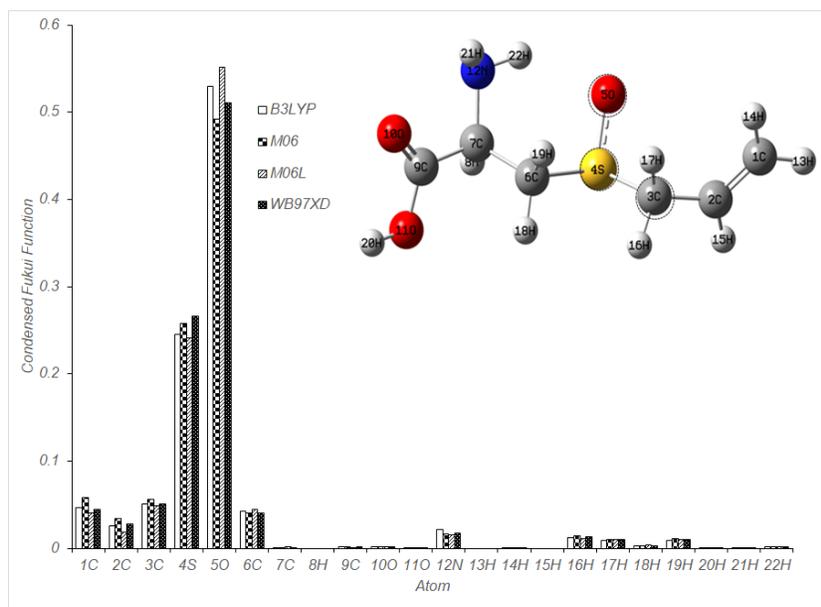


Figura 4.7. Valores condensados de la función de Fukui para ataques electrófilos a aliina en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), la línea discontinua Los círculos muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

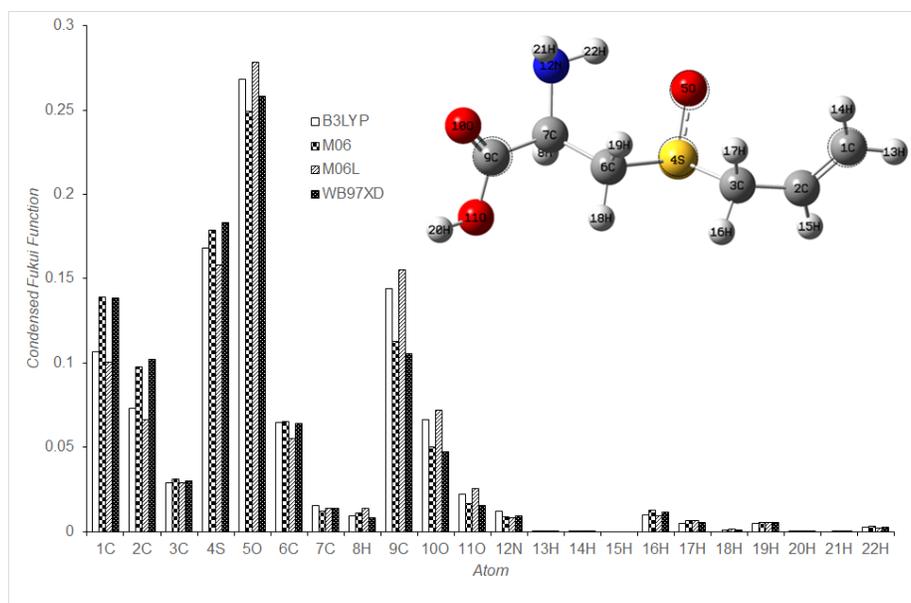


Figura 4.8. Valores condensados de la función de Fukui para ataques de radicales libres a la aliina en el nivel teórico X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39). Los círculos discontinuos muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

Además de los descriptores de reactividad global y local, es posible analizar la reactividad química a través de mapas de potencial electrostático molecular (MEP) [31]. La Figura 4.9 muestra los MEP de la molécula de aliina, en esta imagen las áreas de potencial negativo (color rojo) se caracterizan por una abundancia de electrones, mientras que las áreas de potencial positivo (color azul) se caracterizan por una relativa falta de electrones. La aliina exhibe los valores más altos de potencial en los átomos de hidrógeno y sobre la amina en comparación con los otros átomos, por lo tanto, tienen una menor densidad de electrones a su alrededor y muestran que el carboxilo y el sulfóxido son los sitios con menor potencial y, en consecuencia, son los sitios activos más electrófilos.

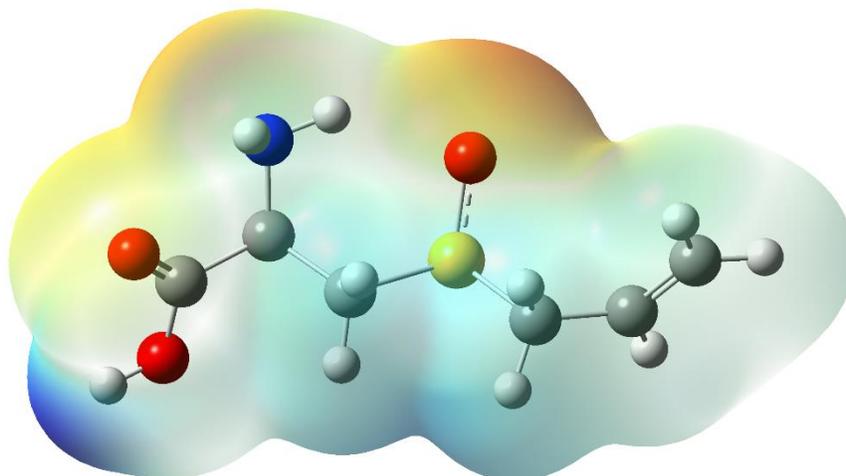


Figura 4.9. Mapeo de los potenciales electrostáticos evaluados en el nivel teórico B3LYP/DGDZVP utilizando el modelo de solvatación PCM, en una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u.³) para aliina.

El índice NCI describe que en regiones alejadas de la molécula, la densidad disminuye a cero exponencialmente y, en consecuencia, el gradiente reducido tendrá grandes valores positivos; mientras que en regiones de enlace covalente e interacciones no covalentes, el gradiente reducido tendrá valores cercanos a cero [52]. La Figura 4.10 muestra este gráfico para aliina; tenga en cuenta que, en la región de gradiente reducido bajo, se observan varias interacciones. Los cuatro picos localizados en valores negativos, se relacionan con interacciones estabilizantes, el pico a -0.020 es debido a la estabilización entre el oxígeno del sulfóxido, el nitrógeno de la amina y el hidrógeno del carbono intermedio, el pico a -0.015 es debido a la interacción entre el nitrógeno de la amina y el oxígeno del carbonilo del carboxilo, a -0.010 ocurre la interacción entre el oxígeno del hidroxilo del carboxilo y los hidrógenos de los dos carbonos laterales y el pico a -0.005 se debe a las interacciones entre el alqueno y el hidrógeno del carbono lateral. Por otro lado, los picos ubicados en valores positivos son debido a interacciones repulsivas y desestabilizantes, en 0.005 debido a interacciones entre los carbonos del carboxilo, de la amina y el carbono lateral, a 0.010 debido a las interacciones entre el nitrógeno y el carbono del carboxilo y en 0.015 ocurre la interacción entre el enlace π del sulfóxido y la amina. Para verificar este resultado, se trazó la isosuperficie $s(r)$ de la estructura de aliina, (Figura 4.11).

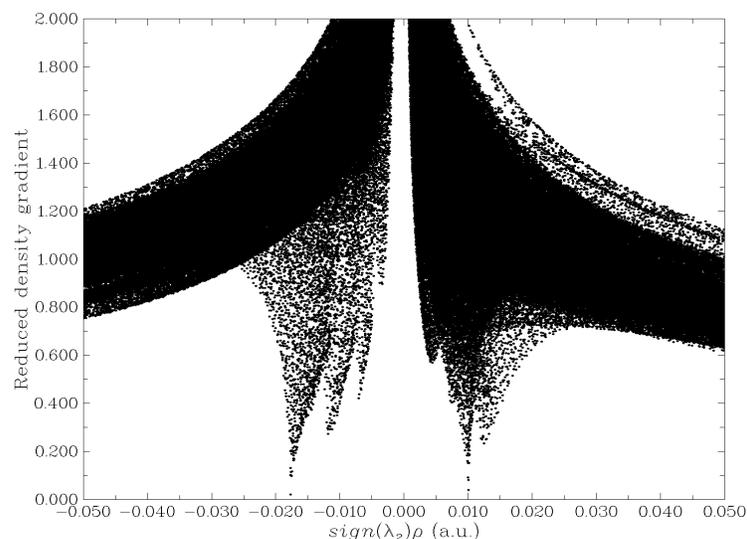


Figura 4.10. Gráfico del gradiente de densidad reducido frente al signo (λ_2) ρ para la aliina en la fase acuosa.

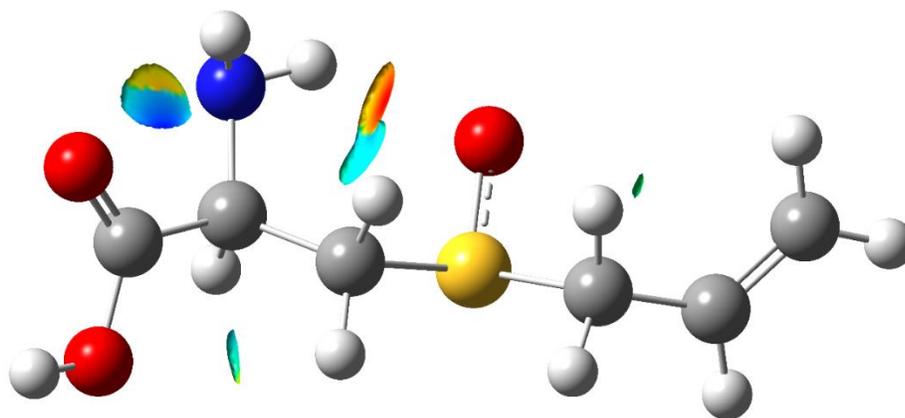


Figura 4.11. Área de isosuperficie de NCI para aliina en fase acuosa.

4.2.5 Estudio de acoplamiento molecular

Para analizar la posible influencia de la estructura de la aliina en su papel como inhibidor de la replicación del virus SARS-CoV-2 y el tratamiento de la enfermedad COVID-19, se analizó la configuración óptima del ligando/proteína y la afinidad de unión de la aliina a Mpro. La Figura 4.12 muestra la configuración aliina/M^{pro}, donde la energía de unión es -7.12 kcal mol⁻¹, que es una afinidad más negativa que el ΔG de -5.23 Kcal mol⁻¹ reportado en la literatura [93], lo que mejora su afinidad por la proteasa principal. Además, se ha reportado un acoplamiento molecular de aliina con la proteasa M^{pro} con una energía de unión

igual a $-9.6962 \text{ kcal mol}^{-1}$. Sin embargo, el acoplamiento se produjo en presencia del inhibidor N3, esto disminuye el número de interacciones con los residuos del sitio activo [81]. Para identificar las interacciones alrededor de 3 \AA , las interacciones se trazaron en un mapa 2D como se muestra en la Figura 4.13, por lo que se observa que la aliina tiene interacciones de van der Waals en el sitio catalítico del M^{pro} reportado [3]. La interacción de la aliina con el sitio catalítico de M^{pro} se da en los residuos CYS145 y HSD164, que se considera la díada catalítica, además de ASN142, MET165, HSD163, GLU166, HSD41, interacción de tipo alquilo con MET49 y por puente de hidrógeno con PHE140.

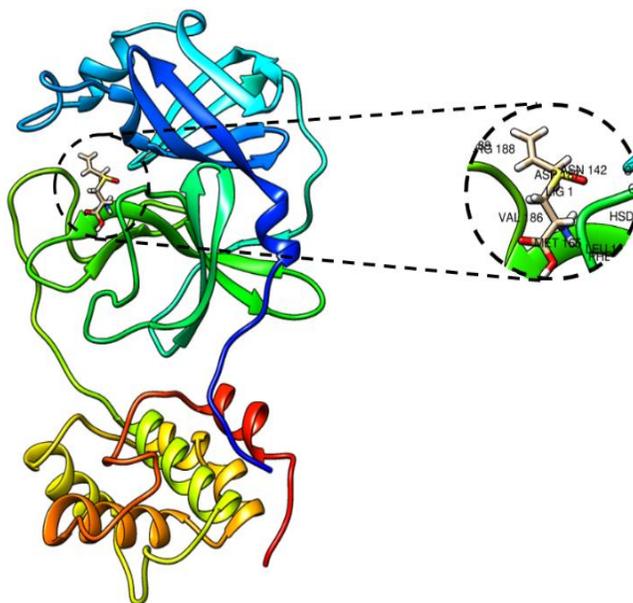


Figura 4.12. Sitio de unión de aliina en la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2.

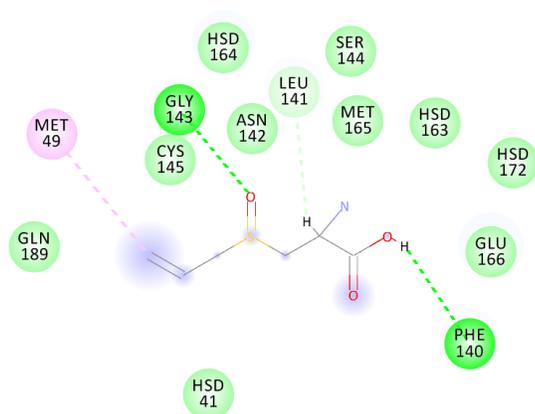


Figura 4.13. Mapeo 2D de interacciones ligando/proteína para aliina.

4.2.5.1 Simulación de dinámica molecular

La simulación de dinámica molecular nos permite validar el estudio de acoplamiento evaluando la estabilidad de los compuestos acoplados a una proteína, a partir de la descripción de las fuerzas. Aquí es importante mencionar que recientemente se reportó en la literatura un estudio de dinámica molecular de aliina- M^{pro} pero con un RMSD mayor a 2 Å, (ver Figura 2 en la referencia 12), [81] el cual es mayor que los valores promedio de un RMSD confiable. En este trabajo, se realizó la simulación de dinámica molecular durante 20 ns para el complejo aliina- M^{pro} como se muestra en la Figura 3.14. El sistema alcanzó el equilibrio después de 10 ns y fluctuó alrededor del valor medio de 0.8 Å hasta el final de la simulación, lo que sugiere que la formación de un complejo proteína-ligando es estable y puede ser una forma inactiva del receptor M^{pro} [81, 94].

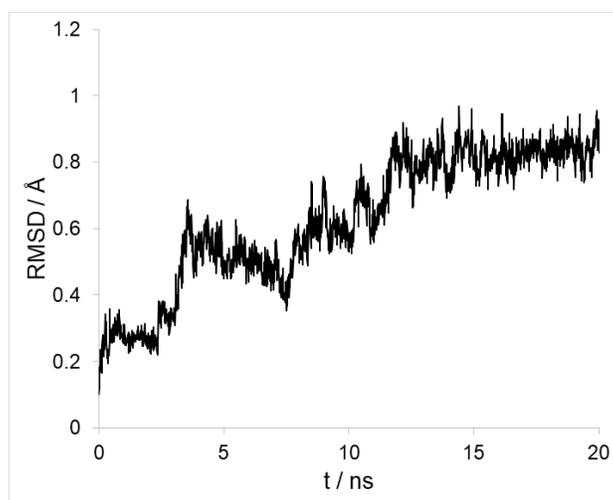


Figura 4.14. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo.aliina/ M^{pro} a lo largo de 20 ns.

4.3 Conclusiones

En el presente capítulo se realizó el estudio de similaridad de fármacos, los resultados sugieren que aliina presenta buena biodisponibilidad oral debido a que no presenta ninguna violación a la regla de cinco de Lipinski, mientras que la predicción in silico de las propiedades ADMET de aliina indica que la molécula tiene un perfil farmacocinético adecuado para considerarlo en el estudio. Posteriormente, se realizó el cálculo de la reactividad química molecular de la estructura de aliina en fase acuosa. Mediante la función

Fukui se identificó que los sitios más activos hacia los nucleófilos se ubican en 1C, 2C y 9C para ataques electrofílicos 3C, 4S y 5O y para ataques de radicales libres los sitios más reactivos son los mismos sitios que para ataques nucleofílicos y electrofílicos y no hubo cambios significativos en las dos fases. También se calculó que la energía de unión para la configuración aliina/M^{pro} era igual a $-7.12 \text{ kcal mol}^{-1}$. Aliina mostró interacciones con residuos importantes del sitio activo del receptor M^{pro}, además de permanecer en el sitio activo durante 20 ns con un valor de RMSD de alrededor de 8 Å, estos resultados sugieren que aliina podría ser un buen candidato de estudio para el tratamiento del SARS-CoV-2.

Capítulo 5. Estudio computacional de la reactividad química de la astragalina y análisis de su capacidad inhibitoria hacia la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2 mediante docking y dinámica molecular

Los flavonoides son el mayor grupo de compuestos fitoquímicos de las plantas superiores y también pertenecen a los metabolitos secundarios que se encuentran en frutas, verduras, semillas, raíces y otros productos vegetales como té y vino [95]. Se ha asociado a muchos de estos compuestos con múltiples efectos beneficiosos para salud debido a sus propiedades antiinflamatorias, antimutagénicas y anticancerígenas [95]. En las plantas llevan a cabo un papel importante como componentes de las células para defenderse de patógenos, insectos y otros entornos estresantes [95]. Los flavonoides son moléculas fenólicas hidroxiladas derivadas del 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona), que consta de dos anillos de benceno unido por un anillo heterocíclico de pireno [95]. En este sentido, el flavonoide astragalina (5,7-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-3-[(2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxicromen-4-ona) (Figura 5.1) que se encuentra presente en las flores de *Delonix regia* [96, 97] y *Gossypium malvaceae* (flor de algodón) [98], se ha seleccionado para su estudio debido a que ha mostrado tener aplicaciones farmacológicas debido a su efecto analgésico, antiinflamatorio [96] y antiviral [96, 99]. Con respecto al virus SARS-CoV-2, se han realizado ensayos *in vitro* para astragalina que demuestran que tiene una acción eficaz como inhibidor de la proteasa M^{pro} [98, 100]. Adicionalmente, se han realizado estudios *in silico* sobre el acoplamiento molecular con la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2 donde se obtuvieron afinidades de unión de $-7.87 \text{ kcal mol}^{-1}$ [101] y $-7.90 \text{ kcal mol}^{-1}$ [102]. Además, se ha calculado la simulación de dinámica molecular de M^{pro} complejada con un inhibidor y el compuesto bioactivo astragalina donde se obtuvo un valor de alrededor de 2 Å [101]. Sin embargo, aún no se ha realizado este estudio sin la presencia de un inhibidor y tampoco se ha estudiado a astragalina usando la Teoría de los Funcionales de la Densidad. Por lo anterior, es necesario realizar un estudio computacional de la reactividad y química y el acoplamiento molecular con la proteasa asociada al COVID-19 lo que podría contribuir a la comprensión de la inhibición enzimática de la proteasa con el objetivo de determinar si

estas moléculas podrían tener efecto antiviral para prevenir la infección provocada por el SARS-CoV-2 en humanos.

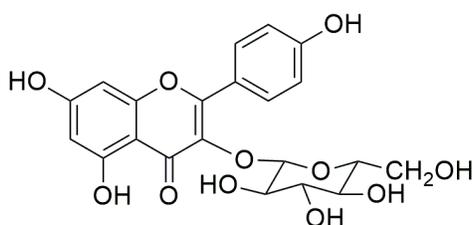


Figura 5.1. Estructuras de astragalina (5,7-dihidroxi-2-(4-hidroxifenil)-3-[(2*S*,3*R*,4*S*,5*S*,6*R*)-3,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]oxicromen-4-ona).

5.1 Metodología

En el presente capítulo se realizó la optimización de la geometría de la molécula astragalina utilizando el nivel de teórico X / DGDZVP [58]. (donde X = B3LYP,[19] M06,[20] M06L,[21] y ω B97XD[22]), en la fase acuosa empleando el modelo polarizable continuo (PCM) desarrollado por Tomasi et al [67]. Los cálculos que se reportan a continuación se realizaron empleando el programa Gaussian 09 [69], mientras que la visualización de los resultados se realizó con los paquetes GaussView [70], Gabedit [85] y Multwfn [73]. Posteriormente, se realizó el estudio de acoplamiento molecular empleando el sitio web SwissDock [38] y las interacciones del complejo se analizaron utilizando los programas Chimera [39] y Discovery Studio Visualizer 2019 [40]. Finalmente, el cálculo y la visualización de la dinámica molecular se realizaron mediante los programas GROMACS [41] y VMD [42], respectivamente. La simulación de dinámica molecular se llevó a cabo en una caja cúbica con el complejo centrado. A continuación, se agregaron 19,209 moléculas de agua a la caja de simulación y 4 iones Na^+ para solvatar y equilibrar las cargas en el sistema. El primer paso fue realizar la minimización de energía del sistema. Posteriormente, se llevó a cabo el equilibrio en dos fases, primero bajo un conjunto NVT y después bajo un conjunto NPT durante 1 ns. Después se procedió a realizar la simulación de dinámica molecular durante 50 ns con la finalidad de conocer la estabilidad del complejo y el tiempo de residencia.

5.2 Resultados y discusión

5.2.1 Regla de cinco de Lipinski y propiedades ADMET

La regla de cinco de Lipinski y los parámetros ADMET de astragalina se calcularon usando el servidor ADMETlab 2.0 [86]. Los valores de la regla de cinco de Lipinski obtenidos para astragalina incluye las siguientes propiedades (valores óptimos entre paréntesis [87]): logP de 0.02 (<5), número de aceptores de enlaces de hidrógeno AHB de 11 (<10), número de donadores de enlaces de hidrógeno DHB igual a 7 (<5), número de enlaces rotativos igual a 4 (<10) y peso molecular de 448.10 g / mol (<500). Note que astragalina viola la regla una de las Reglas de Lipinski en cuanto a la formación de enlaces de hidrógeno, lo que esta permitido, sin embargo, se debe tomar en consideración. La Tabla 5.1 muestra los valores obtenidos en la predicción de parámetros ADMET para astragalina. Se obtuvo un valor de permeabilidad Caco-2 que excedió al mínimo. En cuanto al metabolismo, se predijo que astragalina es sustrato para el subtipo 2C9. La aclaración total de astragalina es baja, mientras que su tiempo de vida media es medio. Finalmente se utilizaron pruebas para conocer su toxicidad, lo que reveló que la molécula no muestra hepatotoxicidad, presenta mutagenicidad alta según la prueba AMES y baja toxicidad oral en ratas y carcinogenicidad. De acuerdo a estos resultados es importante poner atención en la reactividad química de astragalina para determinar si se recomienda como candidato terapéutico.

Tabla 5.1. Predicción *in silico* de las propiedades ADMET de astragalina. Los datos que se reportan se obtuvieron con el software MGA y RDKit, implementado en el servidor ADMETlab 2.0 [86].

Propiedad	Nombre del modelo	Valor óptimo	Valor de astragalina
Absorción	Permeabilidad Caco-2	>-5.15 (log Papp en 10 ⁻⁶ cm/s)	-6.105
	Absorción intestinal (humana)	Categorico: Alta, media, baja	Media
Distribución	Unión a las proteínas del plasma	<90 %	87.82 %
	Distribución de volumen	0.04-20 L / Kg	0.350
Metabolismo	Inhibidor CYP2C9	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP2C9	Categorico (Sí/No)	No
	Inhibidor CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No
	Inhibidor CYP2C8	Categorico (Sí/No)	Sí
	Sustrato CYP2C8	Categorico (Sí/No)	No
	Inhibidor CYP2C6	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP2C6	Categorico (Sí/No)	No
	Inhibidor CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No
	Sustrato CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No
Excreción	Aclaración total	Alta >15 Moderada 5-15 Baja <5 (log ml/min/kg)	3.55
	Tiempo de vida media	Vida media larga > 3h Vida media corta < 3h	0.72
Toxicidad	Hepatotoxicidad humana	Categorico (Sí/No)	Nula
	Toxicidad AMES	Categorico: Alta, media, baja	Alta
	Toxicidad oral aguda en ratas	Baja 0 Alta 1 (log mg/kg_bw/día)	0.010
	Carcinogenicidad	Probabilidad	0.095

5.2.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de astragalina con DFT

Las estructura de astragalina fue optimizada sin restricciones en el nivel X / DGDZVP [58] (donde X = B3LYP [59, 60], M06 [61], M06L [62], y ω B97XD [63]) en fase acuosa (Figura 5.2). Todos los valores de frecuencia calculados al nivel teórico X / DGDZVP [58], en ambas fases fueron positivos y están en buena concordancia con los valores reportados en la literatura, lo que sugiere que el nivel de teoría empleado es capaz de predecir las propiedades electrónicas de astragalina.

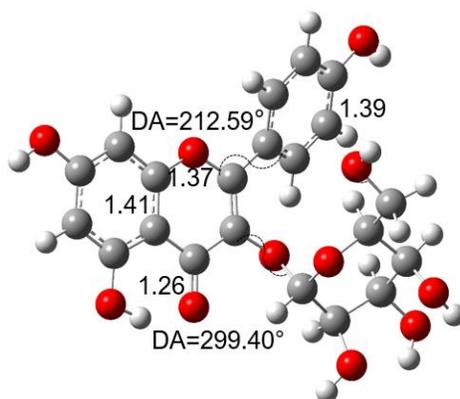


Figura 5.2. Estructura de astragalina optimizados al nivel de la teoría B3LYP/DGDZVP en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. Las distancias de unión se indican en Angstroms, DA=Ángulo diedro.

En la Figura 5.3 se muestra un resumen de las bandas principales para la fase acuosa, presentes en el espectro de astragalina, en frecuencias cercanas a 500 cm^{-1} para un estiramiento O-H, en 1300 cm^{-1} para un doblamiento C-C dentro del plano y 3600 cm^{-1} para un doblamiento C-C fuera del plano.

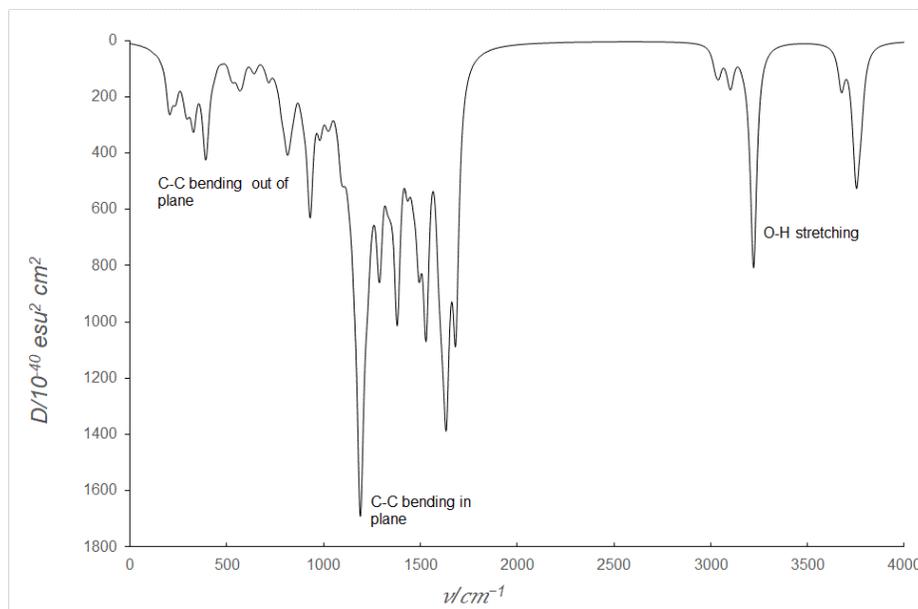


Figura 5.3 Espectro IR teórico de astragalina en la fase acuosa obtenidos al nivel de teoría B3LYP/DGDZVP.

5.2.3. Descriptores de reactividad global

Los descriptores de reactividad global para la astragalina fueron evaluados utilizando las ecuaciones (2.28) a (2.31), los valores obtenidos se encuentran en la Tabla 5.2. Los valores del potencial químico electrónico indican que la astragalina es un buen nucleófilo. Los valores obtenidos en los diferentes niveles de teoría son similares, a excepción de los descriptores I y η donde los valores del funcional ω B97XD, esto indica que para la energía de ionización y la dureza se tiene una ligera contribución de tipo no covalente [103].

Tabla 5.2 Parámetros de reactividad global calculados para astragalina, evaluados en el nivel teórico X / DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD) en fases acuosa y gaseosa, usando las ecuaciones (2.28) a (2.31). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans [90].

	I / eV	A / eV	μ / eV	η / eV	μ^-	μ^+	χ / eV	ω / eV	ω^+ / eV	ω^- / eV
B3LYP	6.14	2.34	-4.24	3.80	-6.14	-2.34	4.24	2.36	0.72	4.96
	(-1.95)	(-6.51)	(4.23)	(4.56)	(1.95)	(6.51)	(-4.23)	(1.96)	(4.65)	(0.42)
M06	6.23	2.26	-4.25	3.97	-6.23	-2.26	4.25	2.27	0.65	4.89
	(-1.95)	(-6.51)	(4.23)	(4.56)	(1.95)	(6.51)	(-4.23)	(1.96)	(4.65)	(0.42)
M06L	5.85	2.24	-4.04	3.61	-5.85	-2.24	4.04	2.27	0.70	4.74
	(-2.60)	(-5.53)	(4.07)	(2.93)	(2.60)	(5.53)	(-4.07)	(2.82)	(5.22)	(1.15)
ωB97XD	6.56	2.19	-4.37	4.37	-6.56	-2.19	4.37	2.19	0.55	4.92
	(-0.41)	(-8.17)	(4.29)	(7.76)	(0.41)	(8.17)	(-4.29)	(1.19)	(4.30)	(0.01)

5.2.4 Descriptores de reactividad local

En la Figura 5.4 se aprecia la distribución de los sitios nucleofílicos y electrofílicos en astragalina, empleando la aproximación de FC en la fase acuosa. Note que para astragalina la distribución de los orbitales frontera HOMO y LUMO está localizada sobre la molécula sin considerar el glicósido, debido a que las moléculas aromáticas presentan una mayor reactividad.

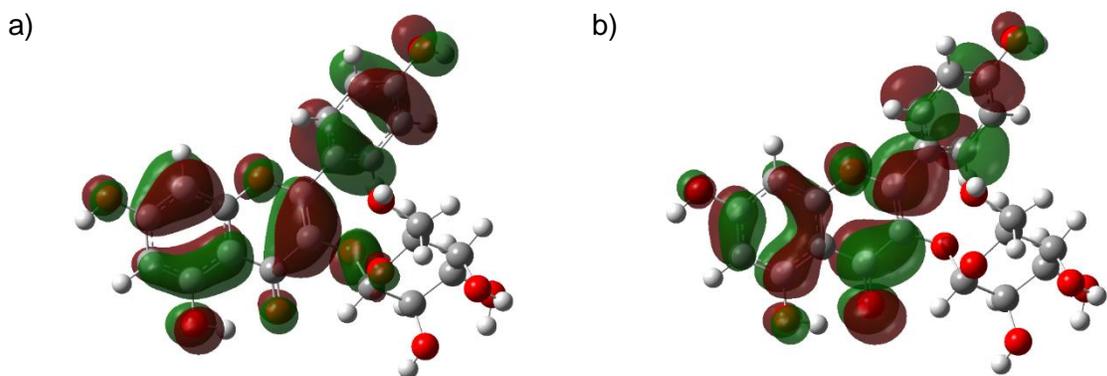


Figura 5.4. Distribuciones de HOMO y LUMO sobre astragalina obtenidas al nivel de la teoría B3LYP/DGDZVP en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.08 e/u.a.^3 .

La Figura 5.5 muestra la evaluación de la Función de Fukui utilizando la aproximación FD (ecuaciones (2.34)-(2.36)) en la fase acuosa para astragalina. Los sitios activos hacia ataques nucleófilos se encuentran sobre, el grupo carbonilo y el carbono β (Figura 5.5a), mientras que los sitios activos para ataques electrofílicos están sobre los carbonos α y β del alqueno y sobre el hidroxilo del sustituyente fenilo y finalmente sobre el carbono del benceno que se encuentra entre los carbonos unidos al hidroxilo y al pireno (Figura 5.5b). Los sitios más reactivos a los ataques de radicales libres se encuentran sobre el carbonilo y el carbono del alqueno que está conectado al oxígeno del pireno, el carbono del alqueno que está conectado al carbonilo del pireno y sobre el hidroxilo del sustituyente fenilo y sobre el carbono del benceno que se encuentra entre los carbonos unidos al grupo carboxílico y los carbonos α y β (Figura 5.5c).

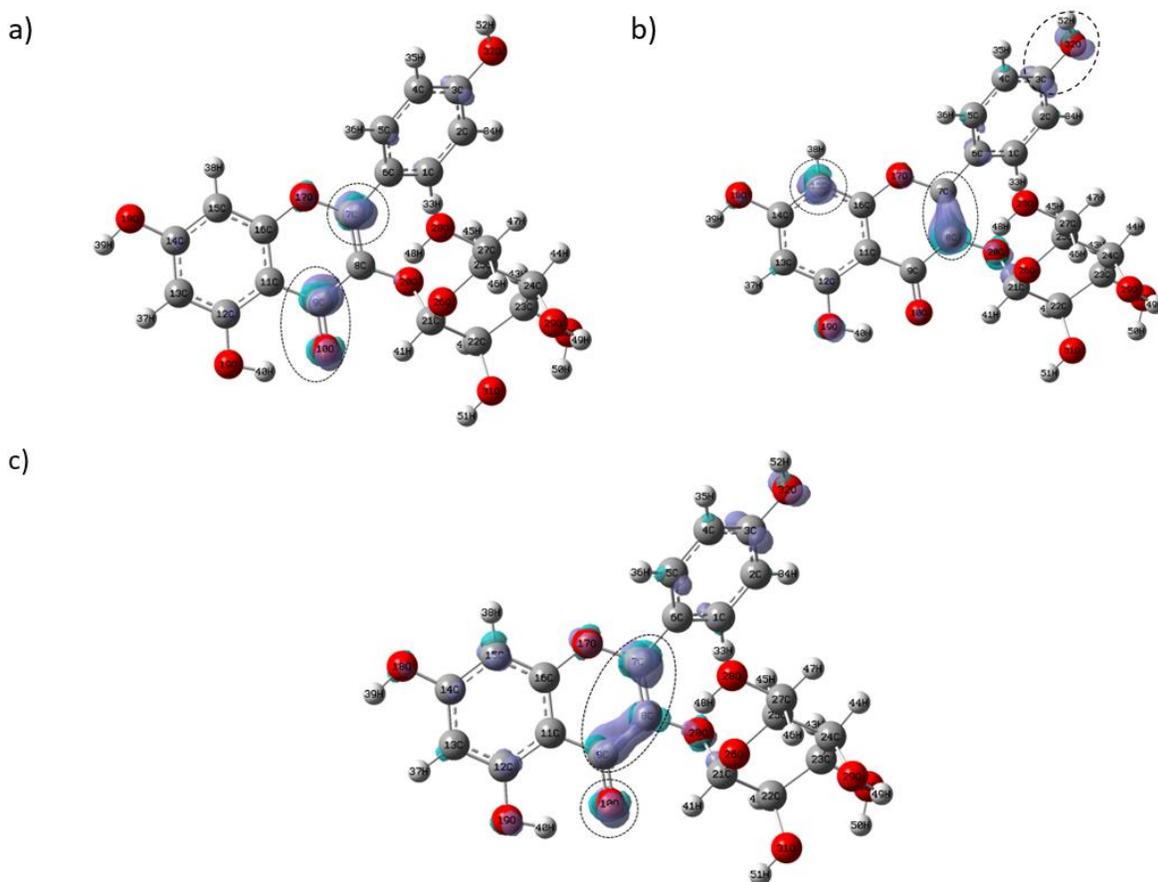


Figura 5.5. Isosuperficies de las Funciones Fukui para astragalina según las ecuaciones (2.34)-(2.36) en el nivel de teoría B3LYP/DGDZVP empleando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) de radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.008 e/u.a.^3 , los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

Adicionalmente, es posible condensar la función Fukui para identificar la distribución puntual de los sitios activos hacia ataques nucleofílicos, electrofílicos y por radicales libres; se calcularon empleando las ecuaciones (2.37)-(2.39) como se muestra en las Figuras 5.6, 5.7 y 5.8 para astragalina en los diferentes niveles de la teoría, calculados en fase acuosa. Astragalina exhibe los sitios más susceptibles hacia ataques nucleofílicos en el carbonilo y el carbono del alqueno que está conectado al oxígeno del pireno. En el caso de un ataque electrofílico, los sitios más reactivos se dan en el carbono del alqueno (Figura 5.7). Mientras que, los sitios más reactivos hacia un ataque por radicales libres son el carbonilo y el carbono del alqueno que está conectado al oxígeno del pireno y el carbono del alqueno (Figura 5.8).

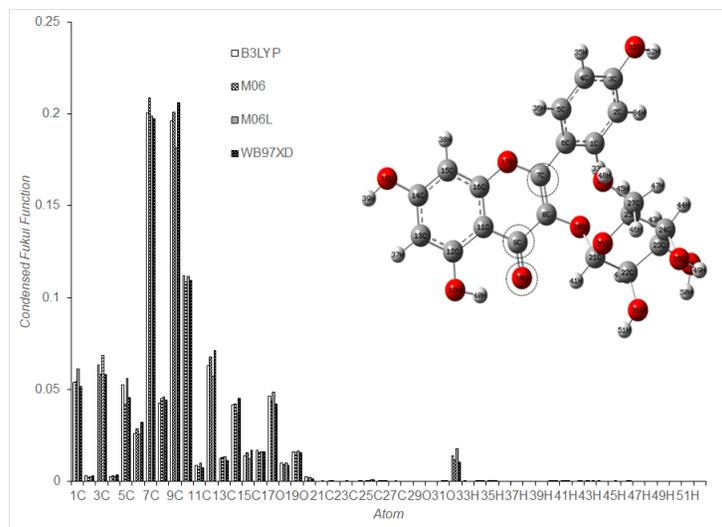


Figura 5.6. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre astragalina al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

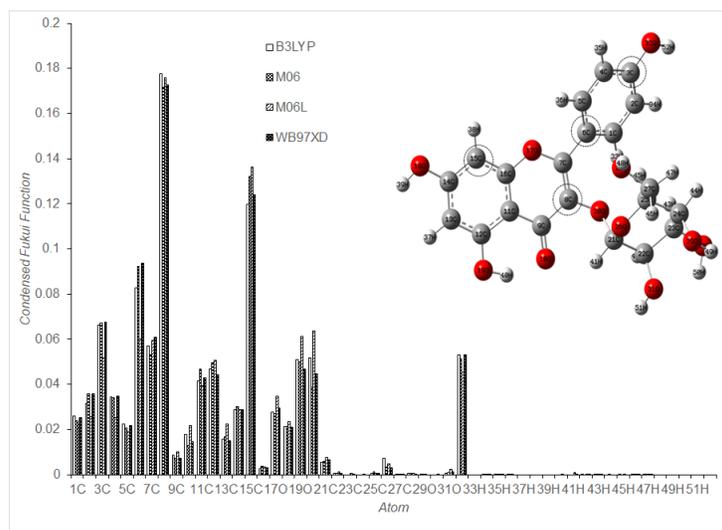


Figura 5.7. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre astragalina al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

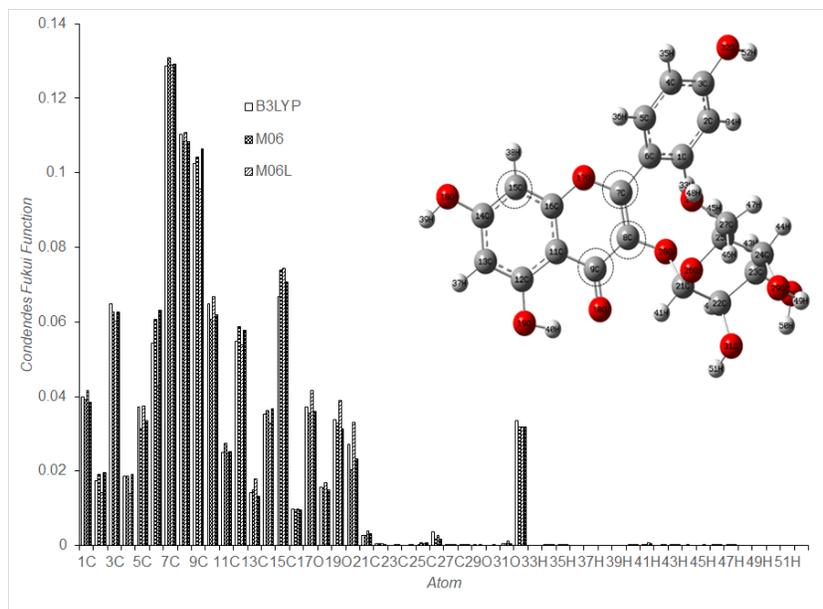


Figura 5.8. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre astragalina al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

Adicionalmente, se realizó el análisis de la reactividad química de astragalina a través de mapas del potencial electrostático molecular (MEP) [104] (Figura 5.9). Aquí, las áreas de potencial negativo en color rojo, representan la abundancia de electrones, por otro lado, las áreas de potencial positivo en color azul, representan una relativa falta de electrones. La molécula de astragalina exhibe los valores más altos de potencial en los átomos de hidrógeno en comparación con los otros átomos; por lo tanto tienen una menor densidad electrónica a su alrededor, mientras que los átomos de oxígeno son los lugares con el menor potencial y por lo tanto son los sitios más electrofílicos activos.

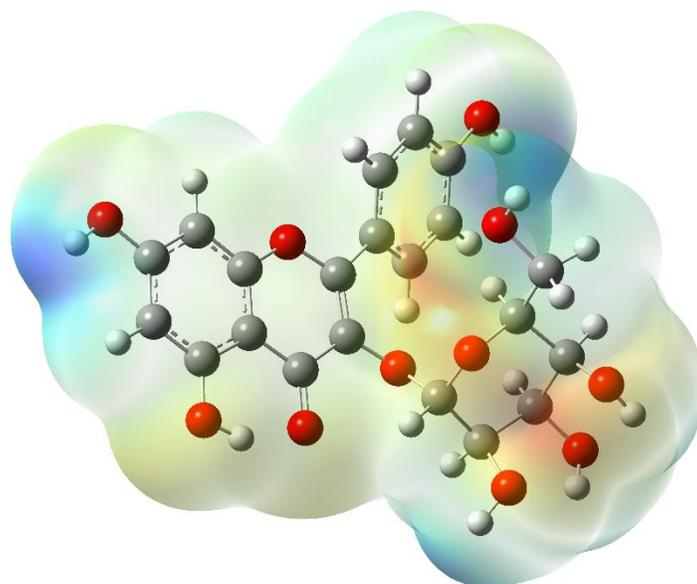


Figura 5.9. Mapeo de los potenciales electrostáticos evaluados en el nivel de teoría B3LYP/DGDZVP empleando el modelo de solvatación PCM, sobre una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u.³) para astragalina.

La Figura 5.10 muestra el gráfico de gradiente reducido para astragalina, note que, en la región de bajo gradiente reducido se observan varias interacciones. En valores negativos se encuentran los picos relacionados con interacciones estabilizantes, mientras que en los valores positivos se encuentran los picos relacionados con interacciones desestabilizantes. En -0.047 se encuentra la interacción entre el oxígeno del carbonilo del pireno, a -0.005 y -0.002 se encuentran las interacciones entre los grupos hidroxilo de la molécula de azúcar glicosilada y en los picos a -0.022, -0.015 y -0.012 se encuentran las interacciones estabilizantes entre la molécula de azúcar glicosilada y el sustituyente fenilo. Mientras que los picos en 0.002 se encuentran las interacciones entre los oxígenos de los hidróxilos de la molécula de azúcar, en el pico en 0.005 se encuentra la interacción repulsiva entre los oxígenos del carbonilo de pireno y el hidroxilo lateral, finalmente a 0.007, 0.011, 0.020 y 0.035 están los picos relacionados con las interacciones centrales entre los átomos de los cuatro anillos. Para verificar este resultado, se graficaron las isosuperficies $s(r)$ de la estructura de astragalina (Figura 5.11).

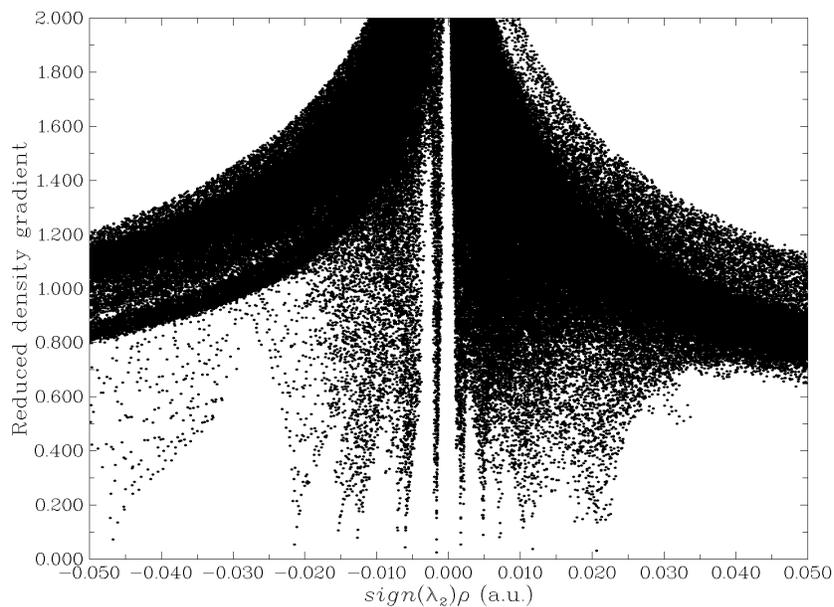


Figura 5.10. Gráfico del gradiente de densidad reducida vs $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para astragalina en la fase acuosa.

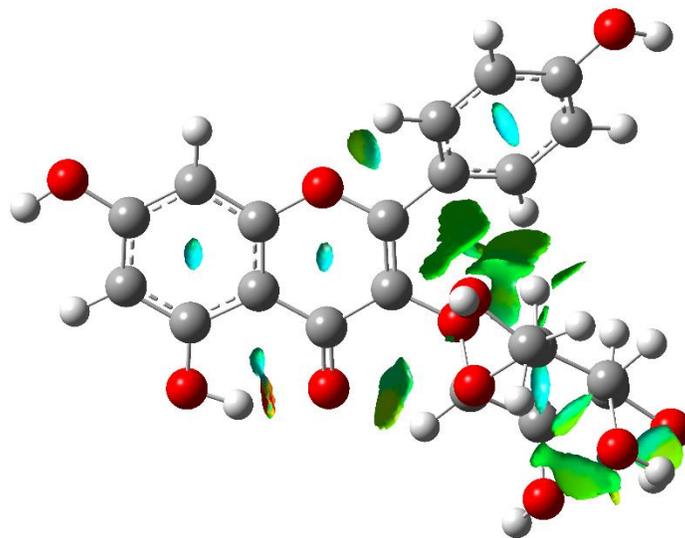


Figura 5.11. Isosuperficie del $\text{NCI} = 0.2$ para astragalina en fase acuosa.

5.2.5 Estudio de acoplamiento molecular

Para conocer la posible actividad inhibidora de la estructura de astragalina hacia la replicación de virus SARS-CoV-2 se estudió la configuración óptima de ligando/proteína. La Figura 5.12 muestra la configuración astragalina/ M^{pro} , donde la energía de unión es de -8.2

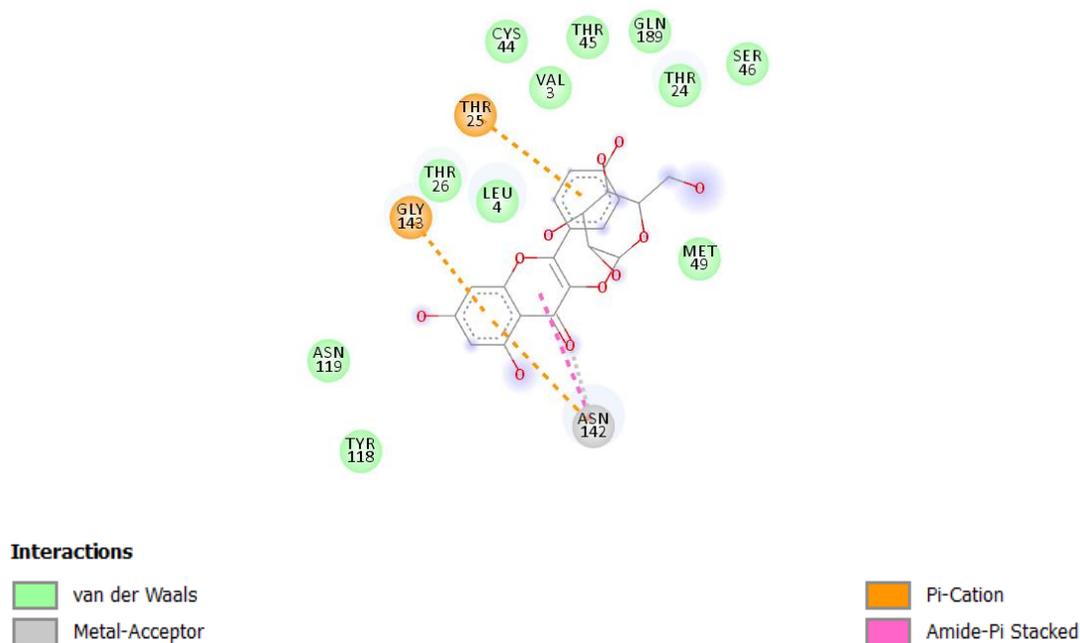


Figura 5.13. Mapeo 2D de las interacciones ligando/proteína para astragalina.

5.2.5.1 Simulación de dinámica molecular

La simulación de dinámica molecular es un procedimiento de validación para los resultados del estudio de acoplamiento, ya que aporta información sobre la estabilidad del complejo. En el presente trabajo, se realizó la simulación de dinámica molecular durante 50 ns para el complejo astragalina/M^{Pr^o} como se muestra en la Figura 4.14. El sistema alcanzó el equilibrio después de 10 ns y fluctuó alrededor del valor medio de 0.3 Å hasta el final de la simulación, lo que sugiere que la formación de un complejo proteína-ligando es estable y puede inactivar al receptor M^{Pr^o} [81, 94].

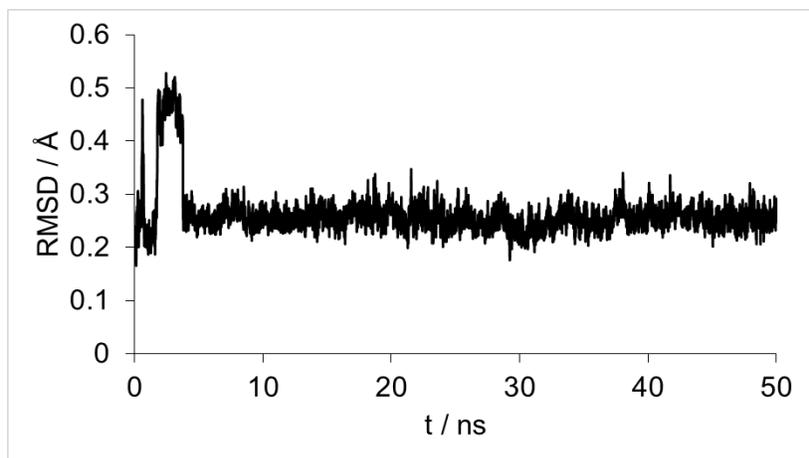


Figura 5.14. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo astragalina-M^{pro} a lo largo de 50 ns.

5.3. Conclusiones

En el presente capítulo se realizó la predicción *in silico* de los parámetros fisicoquímicos y propiedades ADMET de astragalina. Los resultados sugieren que esta molécula mostró ser aceptable de acuerdo a la regla de cinco de Lipinski y presentó toxicidad AMES por lo que a pesar de tener un perfil general aceptable, vale la pena poner atención en ese sentido. También se analizó la reactividad molecular de astragalina en el nivel de teoría X/DGDZVP (donde X = B3LYP, M06, M06L, y ω B97XD) en fase gaseosa y acuosa. Por medio de la función Fukui, se identificó que los sitios activos hacia ataques nucleofílicos son en el grupo carbonilo y el carbono β , mientras que el sitio susceptible hacia ataques electrofílicos es entre los carbonos α y β y para ataques de radicales libres se encuentran sobre el grupo carboxilo y sobre los carbonos α y β . También fue posible conocer la afinidad de unión de astragalina con la M^{pro} con una energía de unión de $-8.2 \text{ kcal mol}^{-1}$ e interacciones con Asn142. Estos resultados sugieren que astragalina podrían actuar como inhibidor de la replicación viral del SARS-CoV-2 ya que su unión ocurre en el bolsillo catalítico reportado.

Capítulo 6. Estudio computacional de la bioactividad inhibitoria del ácido hibiscus y el ácido garcinia contra el SARS-CoV-2

Se ha reportado en la literatura que los extractos de *Garcinia kola*, *Garcinia cambogia*, *Garcinia mangostana*, *Hibiscus sabdariffa* e *Hibiscus schizopetalus* son capaces de reducir las tormentas de citocinas durante la fase tardía de las infecciones por SARS-CoV-2 al disminuir la secreción de S1-glicoproteína [105, 106]. Además, se ha propuesto el uso terapéutico de *Hibiscus sabdariffa* en el control de la respuesta inflamatoria contra el COVID-19 mediante el bloqueo del receptor ACE-2, ya que contiene una serie de compuestos estructuralmente similares a la hidroxiclороquina y la manosa [106–108] que podrían actuar como agonistas de los receptores ACE2 y MLB [108]. Asimismo, estudios in silico han permitido analizar las interacciones de compuestos bioactivos como la manggiferina presente en *Garcinia mangostana* con los receptores pico RDM, helicasa, Mpro y RdRp del SARS-CoV-2 [109]. Aquí, es importante mencionar que el ácido hibiscus (HA) (ácido (2*S*,3*R*)-3-hidroxi-5-oxotetrahidrofuran-2,3-dicarboxílico) (Figura 6.1), que se encuentra en *Hibiscus sabdariffa* [110] e *Hibiscus schizopetalus* [111], y su distaeroisómero el ácido garcinia (GA) (ácido (2*S*, 3*S*)-3-hidroxi-5-oxotetrahidrofuran-2,3-dicarboxílico)), véase la Figura 6.1 (presente en la *Garcinia cambogia*) [110, 112], han demostrado tener un efecto vasorrelajante además de inhibir la neuraminidasa de la gripe [113, 114]. Asimismo, recientemente se ha informado de que sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes son capaces de tratar los síntomas de la COVID-19 [106, 115, 116]. Además, el HA aislado ha demostrado no ser clastogénico ni citotóxico [110], mientras que el extracto de *Garcinia kola* ha mostrado actividad antígeno tóxica y la capacidad de reparar el daño causado por agentes mutagénicos [105]. Sin embargo, basándonos en la investigación bibliográfica, no se ha realizado un análisis utilizando las teorías aceptadas de la química cuántica para analizar la capacidad inhibitoria de estos compuestos sobre el receptor ACE2 en SARS-CoV-2. Así, en el presente trabajo, analizamos el comportamiento químico de HA y GA empleando descriptores de reactividad global y local derivados de la DFT. La unión de HA y GA a la M^{pro} del SARS-CoV-2 se estudia mediante docking molecular para identificar si HA y GA representan buenos candidatos para un medicamento antiviral contra el SARS-CoV-2, y la

6.2 Resultados y discusión

6.2.1. Regla de cinco de Lipinski y propiedades ADMET

Mediante la predicción de las propiedades fisicoquímicas y farmacológicas de los compuestos, es posible evaluar la capacidad de las moléculas como fármacos potenciales utilizando parámetros relacionados con su biodisponibilidad oral y su administración en el organismo. La regla de los cinco de Lipinski y los parámetros ADMET de HA y GA se evaluaron utilizando ADMETlab 2.0 [86], véase la Tabla 6.1. Es claro que todas las estructuras obedecen a la regla de Lipinski de cinco, que incluye las siguientes propiedades (valores óptimos entre paréntesis) [44]): logP de -0.40 y -0.33 (<5), el número de aceptores de enlace de hidrógeno AHB de 7 (<10), el número de donantes de enlace de hidrógeno DHB igual a 3 y 3 (<5), el número de enlaces rotacionales igual a 2 (<10), y el peso molecular de 190 g / mol (<500). Por otra parte, los dos ácidos mostraron valores de permeabilidad Caco-2 y aclaramiento total inferiores al límite, esto significa que al fármaco le costará un poco más atravesar la barrera intestinal y que la sangre depurará el fármaco de forma menor a la óptima. Sin embargo, no muestran hepatotoxicidad, mutagenicidad, toxicidad oral en ratas ni carcinogenicidad. Además, tienen una buena semivida. Por último, en cuanto a su metabolismo, se predijo que los ácidos actuarían como sustratos del subtipo C9 del citocromo P450.

Tabla 6.1. Predicción *in silico* de las propiedades ADMET de ácido hibiscus y ácido garcinia. Los datos que se reportan se obtuvieron con el software MGA y RDKit, implementado en el servidor ADMETlab 2.0 [86].

Propiedad	Nombre del modelo	Valor óptimo	Ácido hibiscus	Ácido garcinia
Absorción	Permeabilidad Caco-2	>-5.15 (log Papp en 10 ⁻⁶ cm/s)	-6.105	-6.139
	Absorción intestinal (humana)	Categorico: Alta, media, baja	Baja	Baja
Distribución	Unión a las proteínas del plasma	<90 %	13.24	15.37
	Distribución de volumen	0.04-20 L / Kg	0.218	0.281
Metabolismo	Inhibidor CYP2C9	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2C9	Categorico (Sí/No)	No	No
	Inhibidor CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No	No
	Inhibidor CYP2C8	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2C8	Categorico (Sí/No)	Sí	Sí s
	Inhibidor CYP2C6	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2C6	Categorico (Sí/No)	No	No
	Inhibidor CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No	No
Excreción	Aclaración total	Alta >15 Moderada 5-15 Baja <5 (log ml/min/kg)	1.894	2.176
	T _{1/2}	Vida media larga > 3h Vida media corta < 3h	0.825	0.727
Toxicidad	Hepatotoxicidad humana	Categorico (Sí/No)	No	No
	Toxicidad AMES	Categorico: Alta, media, baja	No	No
	Toxicidad oral aguda en ratas	Baja 0 Alta 1 (log mg/kg_bw/día)	0.01	0.011
	Carcinogenicidad	Probabilidad	0.009	0.014

6.1.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de astragalina con DFT

Las estructuras moleculares de HA y GA se optimizaron, sin restricciones, al nivel teórico X / 6-311G (d,p) [64] (donde X = B3LYP [59, 60] y B3PW91 [65]), y las estructuras optimizadas se representan en la Figura 5.2. En el caso de HA, las distancias C-C, C=O y O-H, así como los ángulos y los ángulos diedros son muy próximos a los obtenidos a partir de la cristalografía de rayos X [121]. Además, los valores de frecuencia para las estructuras optimizadas de HA y GA se calcularon al nivel teórico X / 6-311G (d,p) [64], y fueron positivos, lo que indica que el punto estacionario es un mínimo en la superficie de energía potencial. Las frecuencias vibracionales evaluadas en el nivel teórico B3LYP/6-311G (d,p) se ajustaron uniformemente por un factor de 0.9888 [122]. HA y GA mostraron fuertes bandas IR en 3706, 1816, 1354 y 1148 cm^{-1} (ver Figura 5.3), que corresponden a estiramiento O-H, estiramiento C=O, estiramiento C-C y flexión C-C en el plano, respectivamente. Estos valores son cercanos a los reportados en la literatura para HA [121] y GA [123]. El nivel de teoría arriba mencionado utilizado en el presente trabajo es adecuado para evaluar la reactividad química de HA y GA.

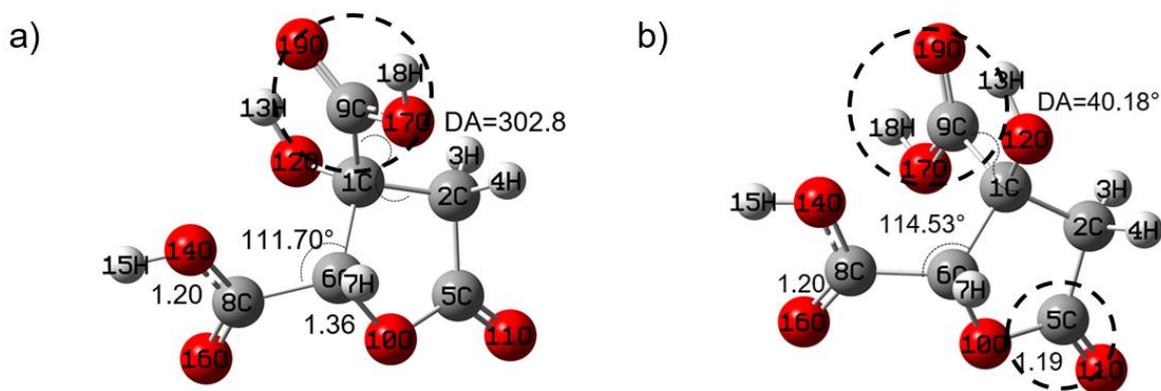


Figura 6.2. Estructuras optimizadas de a) HA, y b) GA en el nivel teórico B3LYP/6-311G (d,p) en fase acuosa empleando el modelo de solvatación PCM. Las distancias de enlace se expresan en Angstroms, DA=Ángulo diedro.

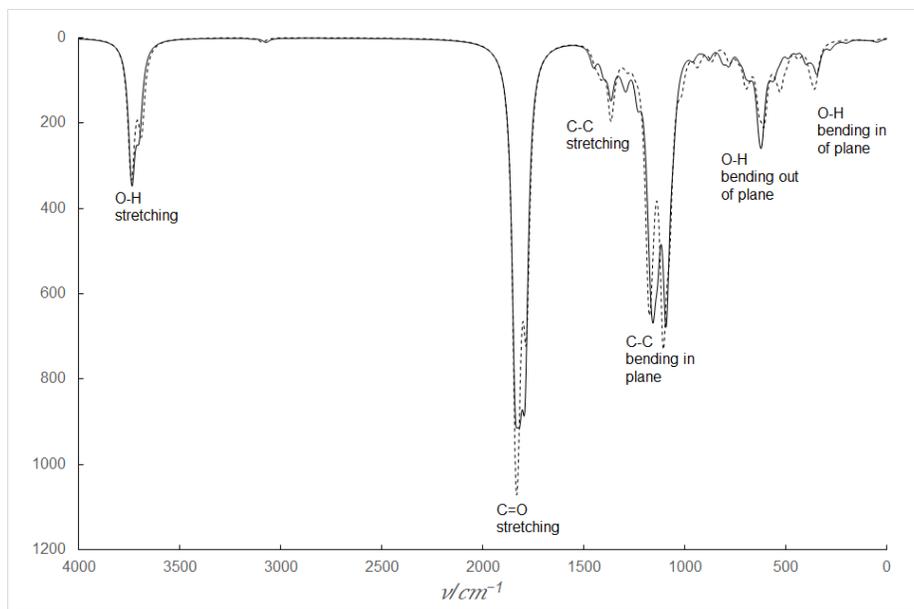


Figura 6.3. Espectros IR teóricos de HA (línea discontinua) y GA (línea negra) en fase acuosa obtenidos en el nivel teórico B3LYP / 6-311G (d,p).

6.2.3. Descriptores de reactividad global

Las reactividades químicas de HA y GA se analizaron mediante los descriptores de reactividad global dados por las ecuaciones (2.28) a (2.31) y se recogen en la Tabla 6.2. Note que los valores de dureza son muy similares para ambos diastereoisómeros, lo que indica que la orientación del sustituyente carboxilo no tiene un efecto significativo sobre la estabilidad química global. Se observaron tendencias similares con los valores de μ , χ , ω para ambos diastereoisómeros, lo que sugiere el mismo comportamiento químico para estos compuestos.

Tabla 6.2. Descriptores de reactividad global calculados para HA y HA, evaluados en X / 6-311G (d,p) [27] (donde X = B3LYP[28, 29] y B3PW91 [30]) y en fase acuosa, utilizando las ecuaciones (2.28) a (2.31). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans [90].

	μ / eV	η / eV	μ^-	μ^+	χ / eV	ω / eV	ω^+ / eV	ω^- / eV
Ácido hibiscus								
B3LYP	4.48	7.01	7.99	0.97	-4.48	2.86	2.77	0.53
	(4.51)	(7.13)	(-8.07)	(-0.95)	(4.51)	(2.85)	(2.78)	(0.52)
B3PW91	4.49	7.02	8.00	0.97	-4.49	2.87	2.77	0.53
	(4.52)	(7.12)	(-8.08)	(-0.96)	(4.52)	(2.87)	(2.79)	(0.53)
Ácido garcinia								
B3LYP	4.37	6.99	7.86	0.87	-4.37	2.73	2.67	0.49
	(-4.39)	(7.09)	(-7.94)	(-0.85)	(4.39)	(2.72)	(2.68)	(0.48)
B3PW91	4.49	7.02	8.00	0.97	-4.49	2.87	2.77	0.53
	(-4.40)	(7.07)	(-7.94)	(-0.87)	(4.40)	(2.74)	(2.69)	(0.49)

6.2.4 Descriptores de reactividad local

La distribución de los sitios más reactivos en un sistema molecular puede evaluarse mediante la Función Fukui (FF) utilizando la aproximación FC, donde los sitios más reactivos a los ataques electrofílicos vienen dados por los sitios con una mayor contribución del orbital HOMO (Fig. 6.4a y 6.4b), mientras que los sitios nucleofílicos vienen dados por los sitios con una mayor contribución del orbital LUMO (Figuras 6.4c y 6.4d). Obsérvese que la distribución de los orbitales frontera varía en función de la orientación del sustituyente quiral carboxilo. Las distribuciones de los orbitales HOMO y LUMO para HA y GA se representan en la Figura 6.4. Asimismo, obsérvese que la mayor contribución del orbital HOMO en la molécula de HA (Figura 6.4a) se encuentra en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo furano, seguido del átomo de oxígeno del grupo hidroxilo situado en C-3, y en los átomos de carbono de C-3 y C-4. En el caso del GA (Figura 6.4b), las mayores contribuciones del orbital HOMO se observan en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo furano y en el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo situado en C-3, seguidos de los átomos de carbono en C-3, C-4 y C-5. También es posible observar que el HOMO del GA se encuentra en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo furano y en el átomo de oxígeno del grupo hidroxilo situado en C-3. También se

puede observar que los átomos de carbono y oxígeno del grupo carbonilo en C-2 muestran la menor contribución HOMO en GA. Si se analiza la distribución del LUMO en HA y GA, es posible identificar los sitios más reactivos para los ataques nucleofílicos. Para la molécula de HA (Figura 6.4c), la mayor contribución LUMO se encuentra en el átomo de carbono del grupo carbonilo en C-3, seguido por los átomos de oxígeno en el grupo carbonilo en C-3, y en el átomo de carbono C-2. La contribución más baja se encuentra en los átomos de oxígeno del grupo carboxilo en C-2. En el caso del GA (Figura 6.4d), la mayor contribución de orbitales LUMO se localiza en el átomo de carbono del grupo carbonilo en C-2, mientras que se observó una menor distribución en los átomos de oxígeno del grupo carbonilo en C-3, y en los átomos de carbono y oxígeno del carbonilo furano. En resumen, los resultados sugieren que la orientación del grupo carbonilo en HA y GA hace que los sitios más reactivos para los ataques electrofílicos estén en el carbonilo en C-3 en HA, mientras que, para GA, está en el grupo carbonilo en C-2. Para los ataques nucleofílicos, se observó una menor distribución en los átomos de oxígeno en el grupo carbonilo en C-3, y en los átomos de carbono y oxígeno en el carbonilo furano. Para los ataques nucleofílicos, el sitio más reactivo se encuentra en el grupo carbonilo en C-2 en HA y en el grupo carbonilo furano para GA.

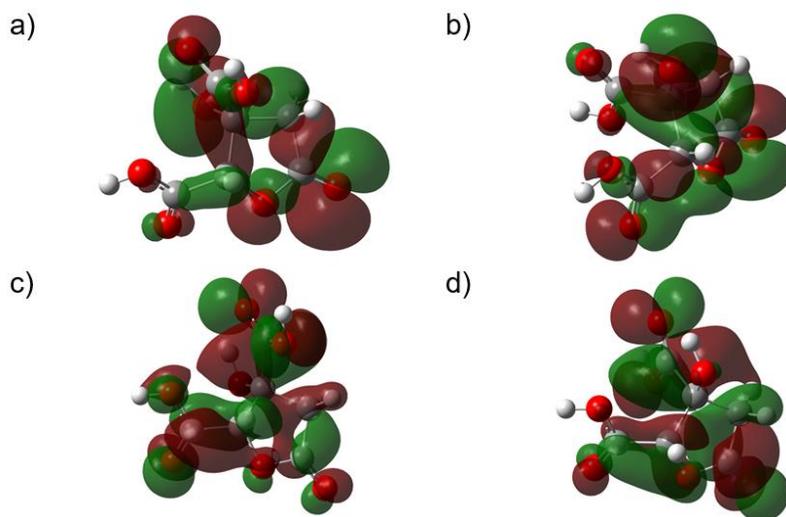


Figura 6.4. Las distribuciones HOMO para a) ácido de hibisco y b) ácido garcinia y las distribuciones LUMO para c) ácido de hibisco y d) ácido garcinia se obtuvieron en el nivel teórico B3LYP / 6-311G (d,p) en fase acuosa utilizando el modelo de solución PCM. En todos los casos, las isosuperficies se obtuvieron a 0.02 e/u.a.³.

La evaluación de la Función de Fukui utilizando la aproximación FD, (ecuaciones (2.34)-(2.36)), se reporta para HA (Figura 6.5) y GA (Figura 6.6). Los sitios más susceptibles a ataques nucleofílicos en HA se localizaron en el carboxilo en C-3, debido a la polaridad

positiva en el átomo de carbono (Figura 6.5a). Para los ataques electrofílicos, los sitios más activos fueron el átomo de oxígeno del grupo carbonilo en el carboxilo del C-3 en el átomo de oxígeno en el carbonilo del furano y el grupo hidroxilo en el C-3, debido a su abundancia electrónica (Figura 6.5b). Mientras que para los ataques de radicales libres, los sitios más reactivos se encuentran en los grupos carboxilo y en el oxígeno del furano (Figura 6.5c). Para las moléculas GA, los sitios más susceptibles al ataque nucleofílico se encuentran en el grupo carboxilo en C-3, y en el átomo de oxígeno en el grupo furano (Figura 6.6a). En el caso de los ataques electrófilos, las posiciones más reactivas se encuentran en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo en el carboxilo en C-2, en el átomo de oxígeno en el grupo furano, y en el grupo hidroxilo en C-3 (Figura 6.6b). Finalmente, en el caso de ataques de radicales libres, las zonas más reactivas de la molécula se localizan en el carboxilo en C-2 y C-3, y en el átomo de oxígeno en el furano (Fig 6.6c). Lo anterior indica que cuando el sustituyente hidroxilo apunta hacia atrás en la estructura del furano en el caso del GA, el sustituyente carboxilo en C-3 atrae densidad electrónica, y por lo tanto el carbonilo del furano se vuelve susceptible a un ataque nucleofílico, en comparación con HA, donde el único sitio susceptible de ataque nucleofílico es el carboxilo en C-3.

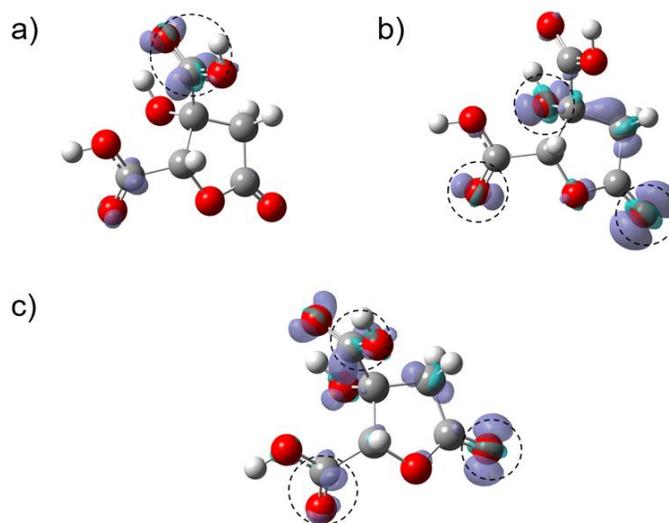


Figura 6.5. Isosuperficies de las Funciones de Fukui para HA según las ecuaciones (2.34)-(2.36) en el nivel teórico B3LYP/ 6-311G (d,p) empleando el modelo de solvatación PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) radicales libres. En todos los casos, las isosuperficies de densidad se obtuvieron a 0.01 e/u.a.³, los círculos discontinuos muestran las zonas más reactivas de cada molécula.

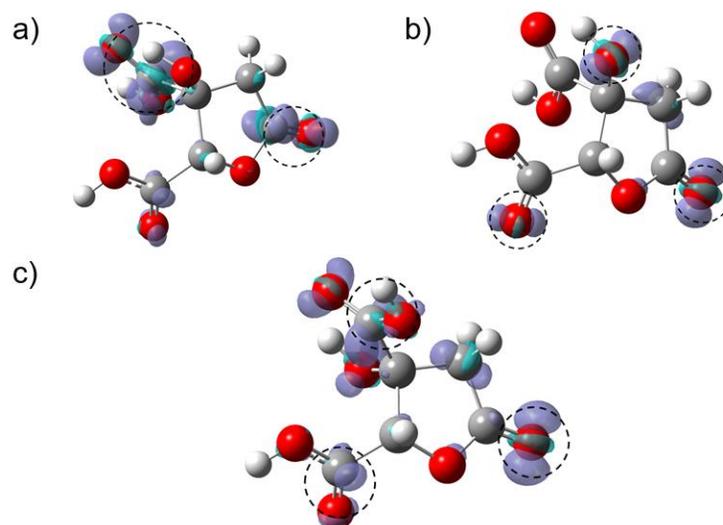


Figura 6.6. Isosuperficies de las funciones de Fukui para GA según las ecuaciones (2.34)-(2.36) en el nivel teórico B3LYP / 6-311G (d,p) empleando el modelo de solvatación PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) radicales libres. En todos los casos, las isosuperficies se obtuvieron a 0.01 e/u.a.^3 , los círculos discontinuos muestran las zonas más reactivas de cada molécula.

Además, es posible condensar la función de Fukui a través de las ecuaciones (2.37)-(2.39) para identificar la distribución puntual de los sitios activos porque los valores más altos de CFF corresponden a los átomos más reactivos de la molécula de referencia [124]. Obsérvese que HA presenta el sitio más susceptible a ataques nucleofílicos en el carboxilo en C-3 (Figura. 6.7) y los sitios más susceptibles a ataques electrofílicos, están en el átomo de oxígeno del grupo carbonilo del carboxilo en C-2 y el oxígeno en el carbonilo furano (Figura 6.8). En el caso de los ataques de radicales libres (Figura 6.9), los sitios más reactivos se encuentran en el oxígeno del furano y en el grupo carbonilo en C-3, mientras que para el GA (Figura 6.10), la zona más reactiva hacia el ataque nucleofílico es el carboxilo situado en C-3 y también sobre el oxígeno en el furano. Por otro lado, en el caso de los sitios más reactivos para ataques electrofílicos y de radicales libres, GA tuvo el mismo comportamiento que HA, como se muestra en el material suplementario (Figuras 6.11 y 6.12).

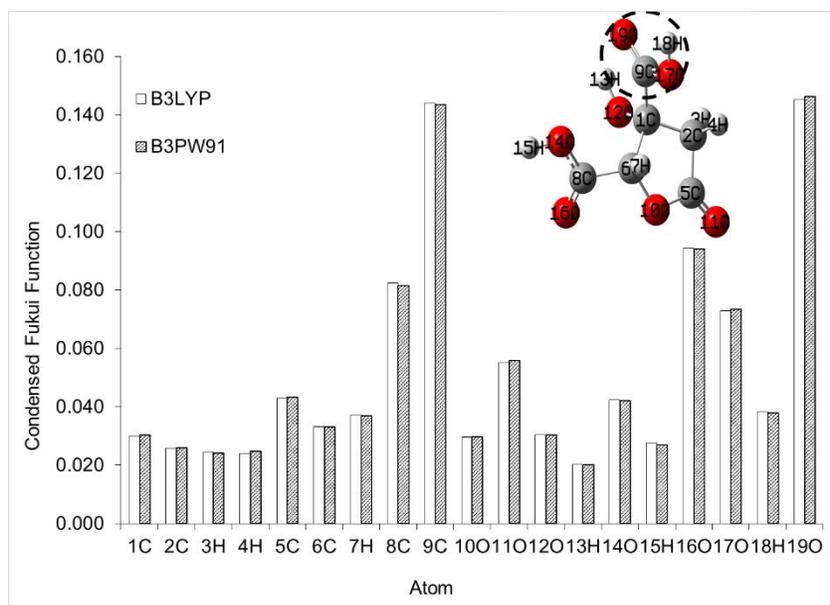


Figura 6.7. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre HA en el nivel teórico X / 6-311G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

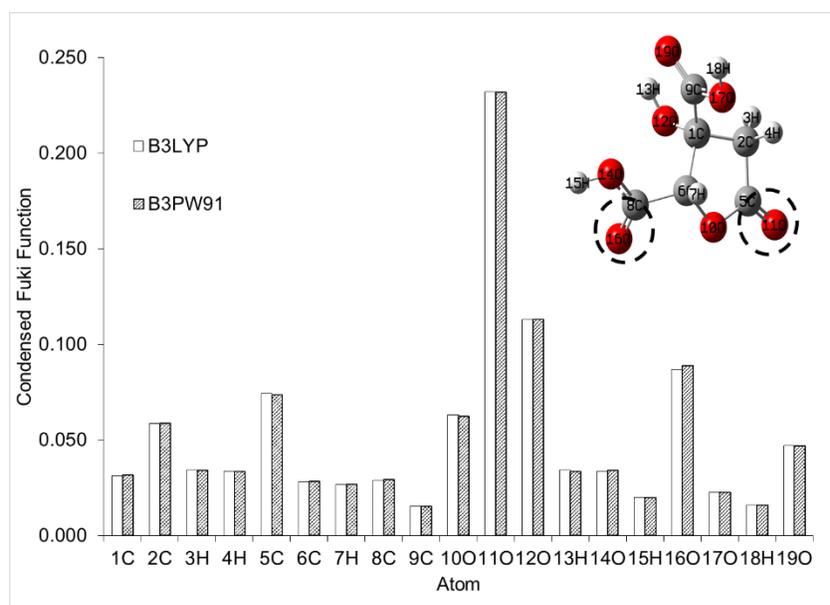


Figura 6.8. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre HA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ωB97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

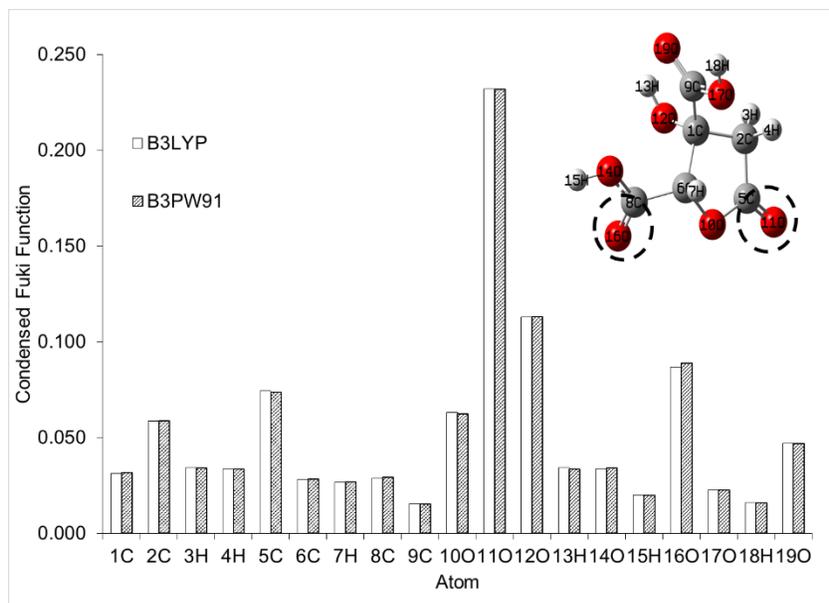


Figura 6.9. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre HA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

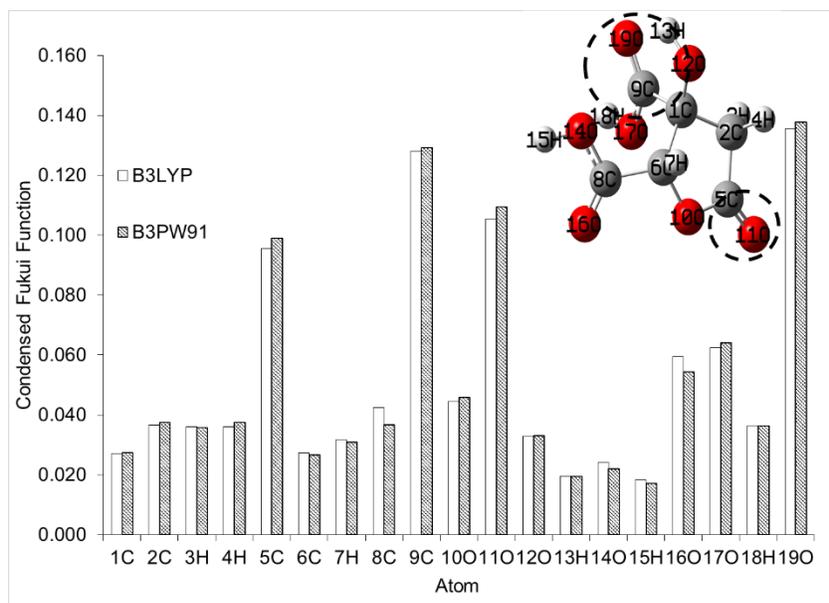


Figura 6.10. Valores de la función de Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre GA en el nivel teórico X / 6-311G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

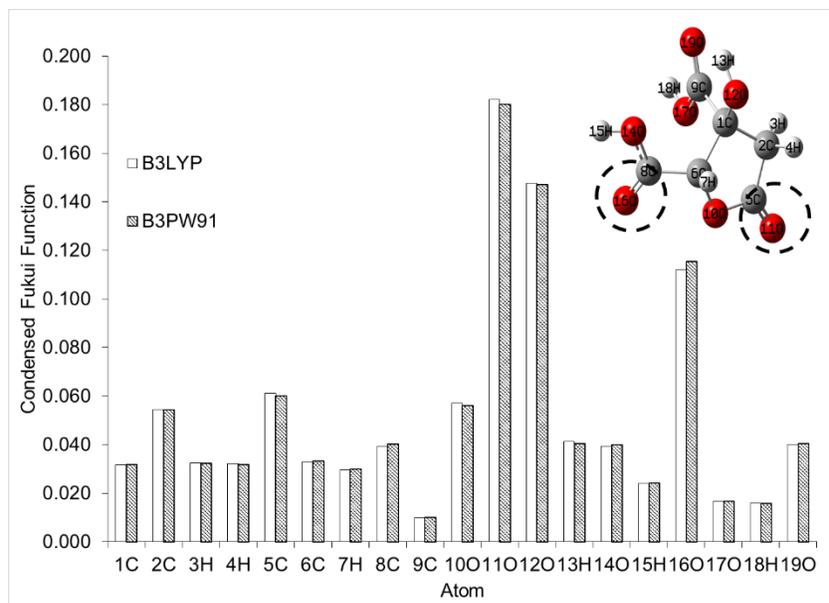


Figura 6.11. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre GA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

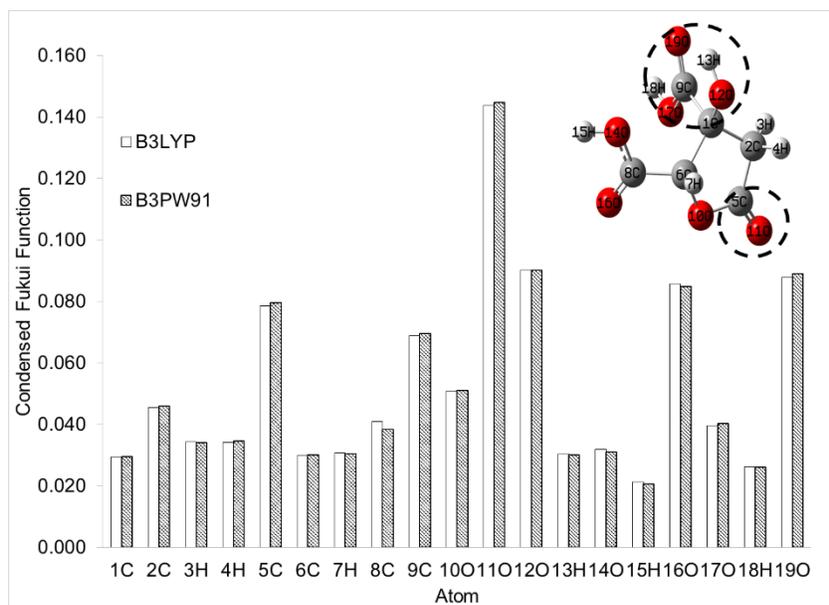


Figura 6.12. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre HA al nivel de teoría X/DGDZVP (donde X=B3LYP, M06, M06L y ω B97XD), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

Además de la función Fukui condensada, existe otro método para conocer la reactividad local de las moléculas, esto es mediante el mapa del potencial electrostático de las moléculas (MEP) [31]. En la Figura 6.13 se muestra el MEP de las moléculas ácido de hibiscus y ácido garcinia, donde los sitios con mayor abundancia de electrones y de potencial negativo están en color rojo, y las áreas con menor abundancia de electrones y de potencial positivo están en color azul. Los resultados indican que los grupos carboxilo e hidroxilo en C-2 y C-3 del AG presentan valores de potencial negativos, mientras que los grupos carboxilo e hidroxilo en C-2 y C-3 de HA presentan valores de potencial negativos, lo que indica que los sustituyentes de la conformación (2*S*,3*S*) son más electrófilos en comparación con los sustituyentes de la conformación (2*S*,3*R*).

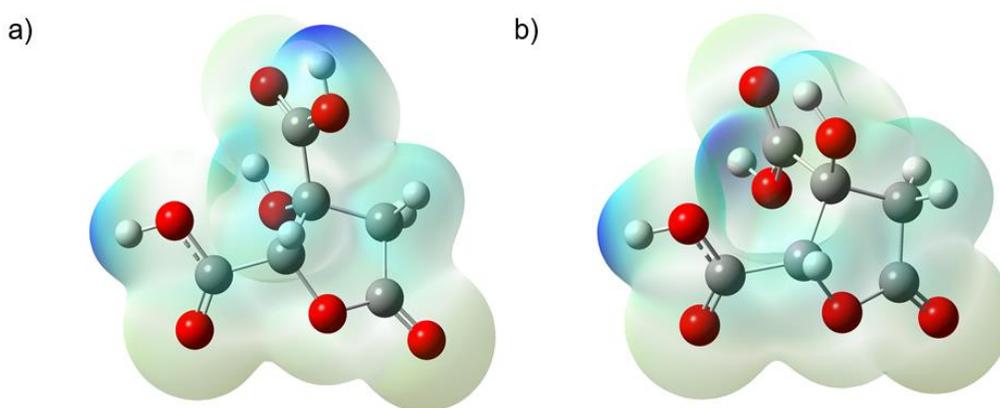


Figura 6.13. Mapeo de los potenciales electrostáticos para a) ácido hibiscus, b) ácido garcinia, obtenidos al nivel de la teoría X / 6-311G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91) en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM, sobre una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u.³).

Si se representa gráficamente el gradiente de densidad reducido frente al signo (λ_2), los picos con signos negativos indican interacciones de unión, mientras que los picos con valores positivos indican interacciones de no unión [55]. A continuación se muestran las interacciones intermoleculares de HA (Figura 6.14a) y GA (Figura 6.14b): la Figura 6.14a revela que el pico a -0.025 corresponde a una interacción estabilizadora asociada a la presencia de enlaces de hidrógeno intramoleculares entre los grupos carboxilo e hidroxilo en C-3; Los picos a -0.015 y -0.010 están relacionados con enlaces de hidrógeno intermoleculares entre el carboxilo en C-3 y los átomos de hidrógeno en la estructura furano,

a -0.005 corresponde a interacciones estabilizadoras entre los dos sustituyentes carboxilo en C-2 y C-3. En el caso de las interacciones intermoleculares repulsivas, el pico a 0.005 corresponde a las interacciones repulsivas oxígeno-oxígeno, y el pico a 0.010 está relacionado con las interacciones repulsivas entre los átomos de hidrógeno de la estructura del furano y el grupo carboxilo en C-2, mientras que, los picos a 0.005 corresponden a las interacciones estabilizadoras entre los dos sustituyentes carboxilo en C-2 y C-3. Por último, los picos a 0.025 y 0.045 están relacionados con la interacción entre el carboxilo en C-2 y el grupo hidroxilo en C-3 y la repulsión dentro del furano. Por otro lado, la Figura 6.14b muestra un pico a -0.025 que corresponde al enlace de hidrógeno intramolecular entre los grupos carboxilo e hidroxilo en C-2. Los picos -0.015 y -0.010 se asocian a interacciones atractivas entre el carboxilo en C-3 y el oxolano entre el carboxilo en C-2 y el hidroxilo en C-3. Para las interacciones repulsivas, los picos de 0.005, 0.010 y 0.015 se asociaron con la repulsión entre los dos grupos carboxilo de la molécula en C-2 y C-3, la repulsión oxígeno-oxígeno entre el carbonilo de la lactona y el grupo carboxilo en C-2 y entre el carboxilo en C-3 y el centro de la lactona, respectivamente. Por último, los picos 0.025 y 0.045 corresponden a la interacción repulsiva entre el carboxilo de C-2 y el hidroxilo de C-3.

Según estos resultados, la quiralidad del diastereoisómero (2*S*,3*R*) está estabilizada por una interacción identificada a -0.005, mientras que la quiralidad del diastereoisómero (2*S*,3*S*) está estabilizada por la interacción registrada a 0.015, lo que sugiere que HA es más estable que GA. Estos resultados se verificaron con las isosuperficies moleculares, $s(r)$, trazadas para HA (Figura 6.15a) y para GA (Figura 6.15b), donde el código de colores coincide en los picos del diagrama y en el trazado de la isosuperficie. Las isosuperficies rojas indican una interacción no favorable, y las isosuperficies verdes y azules indican interacciones intermoleculares favorables.

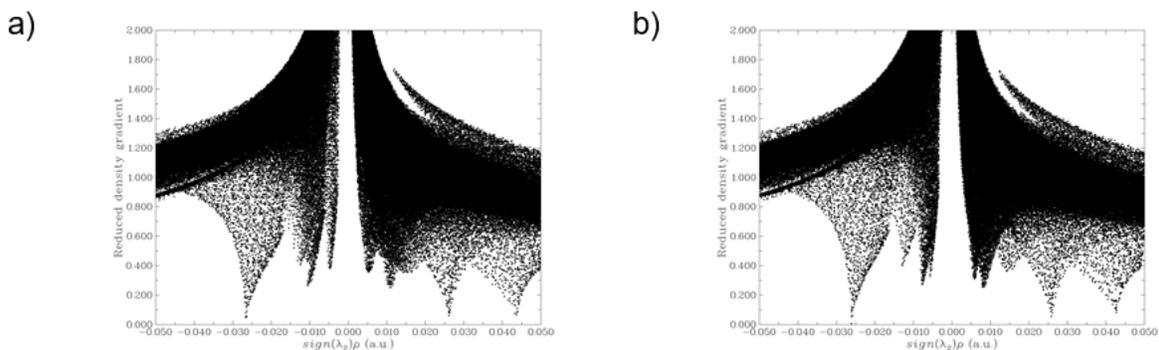


Figura 6.14. Gráfico del gradiente de densidad reducida frente a $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para a) ácido de hibisco y b) ácido garcinia en la fase acuosa.

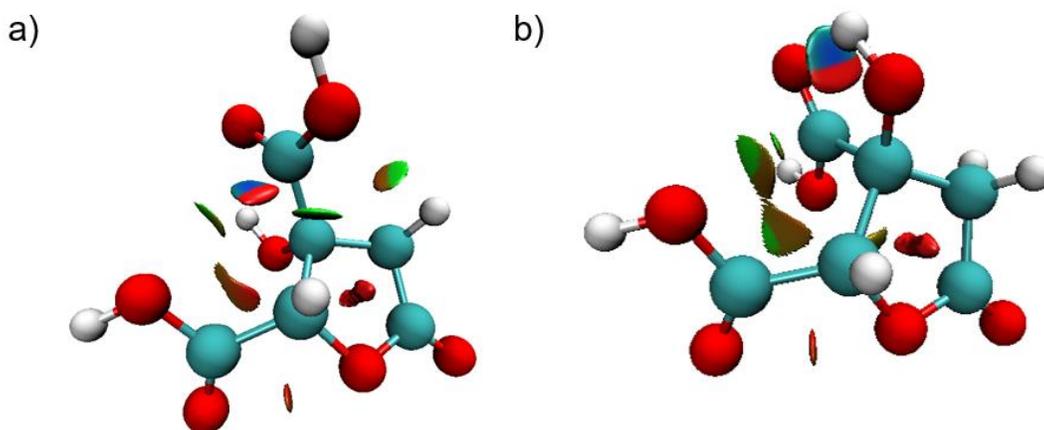


Figura. 6.15. Isosuperficie NCI para a) HA y b) GA en fase acuosa.

6.2.5 Estudio de acoplamiento molecular

Con el fin de analizar la capacidad de HA y GA para inhibir la replicación del SARS-CoV-2, se realizó un acoplamiento molecular para estudiar la unión de HA y GA a la M^{pro} de este virus. Dado que la proteasa M^{pro} ha sido identificada como diana para la inhibición de la replicación viral, la Figura 6.16 muestra la configuración HA- M^{pro} , donde la energía de unión fue de $-6.76 \text{ kcal mol}^{-1}$ y la Figura 6.17 muestra la configuración GA- M^{pro} . El GA interactúa con M^{pro} con una energía de unión de $-6.93 \text{ kcal mol}^{-1}$. La energía delta de unión puede estar asociada al cambio de orientación del sustituyente carbonilo en estos diastereoisómeros. En este sentido, la energía Gibbs de unión entre un antígeno y su receptor es de gran relevancia para la interacción y entrada de un virus en su huésped en la superficie celular. Para poder infectar una célula huésped, el virus debe tener un antígeno con una energía de Gibbs de unión negativa al receptor de la célula huésped, por ejemplo, la glicoproteína del receptor del

SARS-CoV-2 [125]. Así, HA y GA muestran una energía de Gibbs negativa de unión, lo que sugiere que estos diastereoisómeros pueden acoplarse al M^{pro} para inhibir el virus. Además, se identificaron las interacciones alrededor de 3 Å, y se realizó un gráfico 2D como se muestra en la Figura 6.18 y 6.19 así, se observa que el ácido de hibisco y el ácido garcinia tienen interacciones van der Waals con residuos del sitio catalítico de M^{pro} reportados [3].

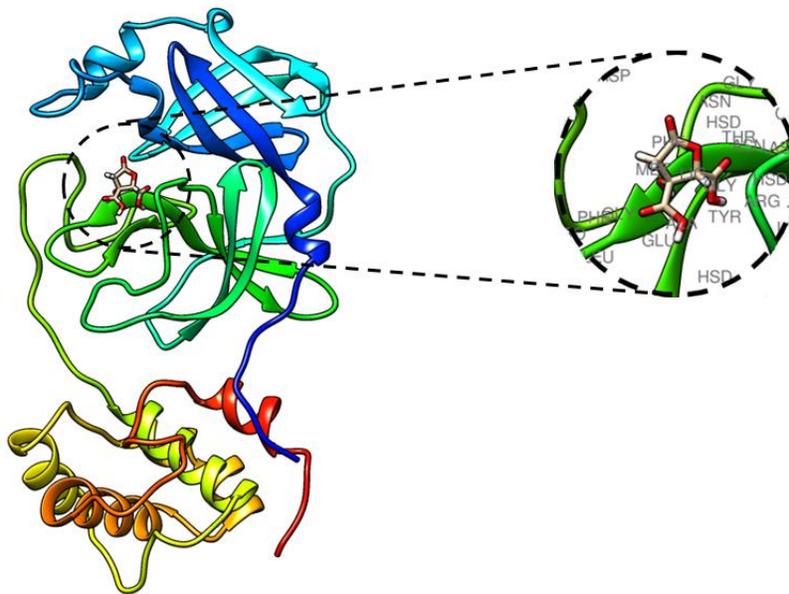


Figura 6.16. Sitio de unión de HA en la M^{pro} del SARS-CoV-2.

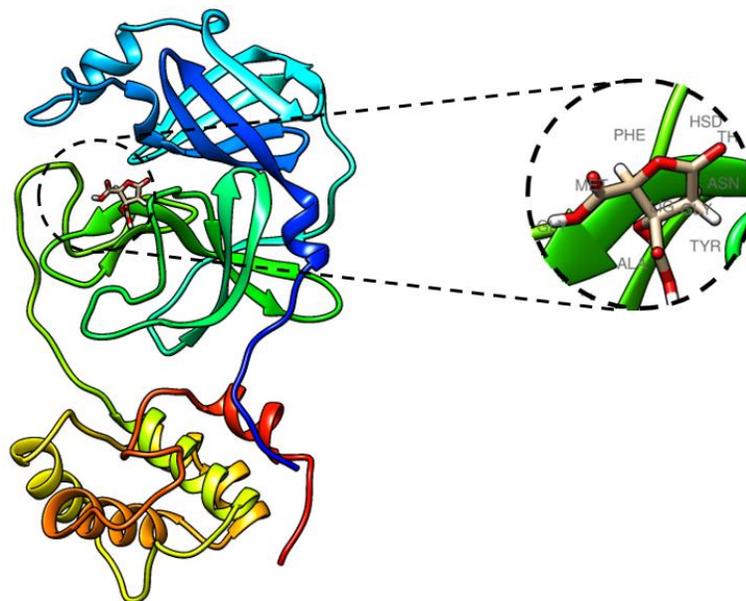


Figura 6.17. Sitio de unión de GA en la M^{pro} del SARS-CoV-2.

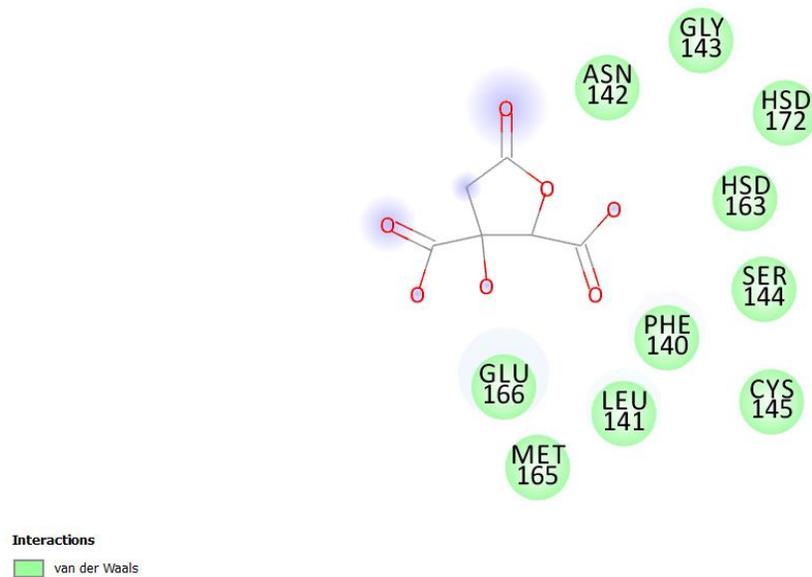


Figura 6.18. Mapa 2D de las interacciones ligando / M^{pro} para HA.

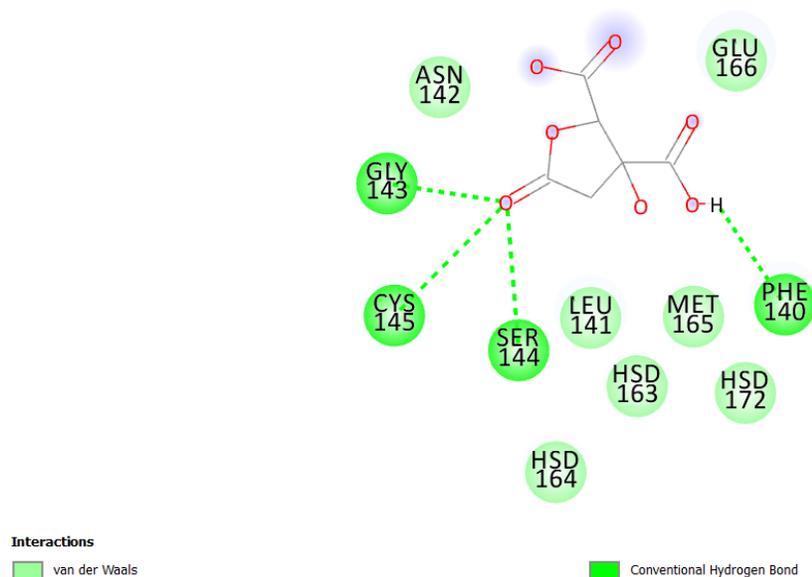


Figura 6.19. Mapa 2D de las interacciones ligando / M^{pro} para GA.

6.2.5.1 Simulación de dinámica molecular

Para analizar si los complejos HA-M^{pro} y GA-M^{pro} derivados del estudio de acoplamiento son estables, realizamos un estudio de dinámica molecular a 100 ns. En el caso del complejo hibiscus-M^{pro}, en la Figura 15.20, se muestra el gráfico RMSD inferior a 1 Å, lo que es indicativo de que la molécula HA permanece en el sitio del bolsillo durante los 100 ns, lo

que sugiere que el complejo formado es estable. Por otro lado, note que el GA no es estable en el sitio inicial del bolsillo ya que al final de los 100 ns se acopló en un nuevo sitio. Esto puede verse en el gráfico RMSD (Figura 5.21), donde aproximadamente a los 16 ns el RMSD aumenta significativamente, más de 3 Å, lo que sugiere la movilización del ácido garcinia lejos de otro sitio activo. Los últimos resultados sugieren que la formación del complejo HA-M^{pro} es estable por lo que podría ser un candidato para prevenir la replicación del virus del SARS-CoV-2.

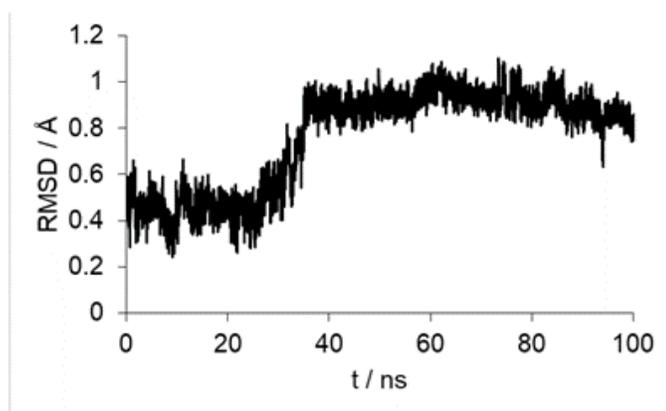


Figura 6.20. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo HA-M^{pro} a lo largo de 100 ns.

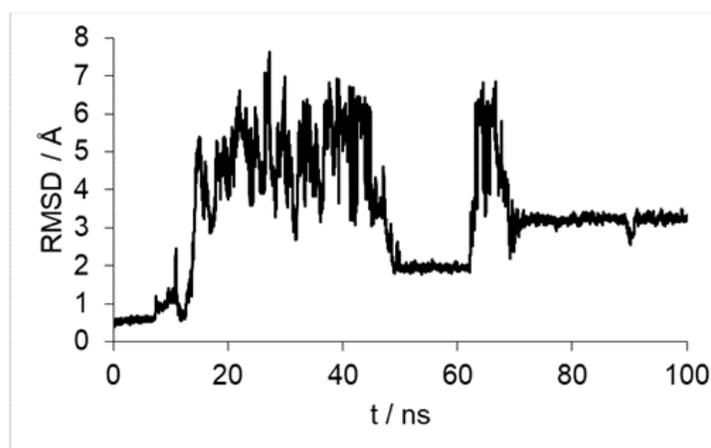


Figura 6.21. Resultados de la simulación de dinámica molecular para el complejo GA-M^{pro} a lo largo de 100 ns.

6.3. Conclusiones

En este capítulo se realizó la predicción *in silico* de las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de HA y GA para conocer que tan aptas son como fármacos de acuerdo a su biodisponibilidad oral y su paso por el organismo. Las moléculas HA y GA no violan ninguna de las reglas de cinco de Lipinski, lo que sugiere que podrían tener buena biodisponibilidad oral. Por otro lado, se observó que ambas moléculas actúan como sustrato del subtipo C9 del CYP450 lo que indica que podría transformado para su excreción en el organismo. Estos resultados dieron pauta a continuar con el estudio de la reactividad química molecular de las estructuras de HA y GA en fase acuosa, que se realizó mediante el cálculo de los parámetros de reactividad local, se observó que ambos diastereoisómeros presentan la misma reactividad global. Además, los resultados de la evaluación de la Función de Fukui mediante el enfoque FD sugieren que la distribución de los sitios activos para HA, en el caso de ataques nucleofílicos, se localiza en el carboxilo en C-3; para los ataques electrofílicos, los sitios más activos eran el átomo de oxígeno del grupo carbonilo del carboxilo en C-2, el átomo de oxígeno en el furano, y el grupo hidroxilo en C-3; y para los ataques de radicales libres, las posiciones más reactivas están en los grupos carboxilo en C-2 y C-3, y el átomo de oxígeno en el furano. Para el GA, los sitios más susceptibles al ataque nucleofílico son el grupo carboxilo en C-3, además del oxígeno en el furano. Cuando se producen ataques electrofílicos, son los átomos de oxígeno del grupo carbonilo en el grupo carboxilo en C-2, el oxígeno en el furano, y el grupo hidroxilo en C-3. Para los ataques de radicales libres, sobre los grupos carboxilo en C-2 y C-3 y sobre el oxígeno en furano. También se analizaron la pose de enlace y la energía de enlace para las configuraciones HA-M^{pro} y GA-M^{pro}, donde se confirmó la formación del complejo en la posición del sitio activo, con energías de enlace iguales a $-6.76 \text{ kcal mol}^{-1}$ y $-6.93 \text{ kcal mol}^{-1}$, respectivamente. El análisis de las interacciones entre HA y GA con M^{pro} reveló que HA muestra interacciones de tipo Van der Waals con ASN142, HSD163, MET165 y GLU166, y en el caso de GA, las interacciones fueron con los residuos PHE140 [O-H.N] y CYS145 [O-H.N.]. Finalmente, mediante simulación de dinámica molecular, se pudo comprobar la permanencia del ácido hibiscus en el sitio activo de M^{pro}, mientras que el ácido garcinia no permaneció en el sitio activo de la proteasa. Lo que es indicativo de que el ácido hibiscus podría tener actividad inhibitoria en la etapa de la replicación viral del SARS-CoV-2.

Capítulo 7. Estudio computacional de ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico como posibles compuestos bioactivos contra el SARS-CoV-2

El ácido 1,2-dihidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico (ácido hidroxicítrico) es un ácido orgánico derivado del ácido cítrico, que contiene dos centros quirales y por lo tanto cuatro diastereoisómeros. Dos de estos conformeros de configuración absoluta ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico (AHC) (ver Figura 6.1) se encuentran presentes en las especies de *Hibiscus* y *Garcinia*. El ácido hidroxicítrico es parte de los compuestos bioactivos de *Hibiscus sabdariffa* L. [110], *Hibiscus schizopetalus* [111], *Garcinia cambogia* [110, 112], *Garcinia atroviridis* y *Garcinia indica* [112]. Estas moléculas son los componentes bioactivos que dan las propiedades medicinales conocidas para cada especie. El ácido hidroxicítrico presenta efectos antiinflamatorios e inhibe el estrés oxidativo en la colitis y la diabetes tipo II [126], también presenta un efecto antiobesidad mediante la oxidación de grasas [112], la inhibición de la ATP-citrato liasa [127] y ha mostrado tener efecto vasorrelajante. Además, ha mostrado la capacidad de inhibir la neuraminidasa del virus de la influenza tipo A [113, 114, 128], y hay estudios que demuestran que los extractos de *Garcinia kola*, *Garcinia cambogia*, *Garcinia mangostana*, *Hibiscus sabdariffa* e *Hibiscus schizopetalus* tienen un efecto inhibitorio de la secreción de S1-glicoproteína [105, 106]. Por otro lado, se han realizado estudios in silico para analizar las interacciones de compuestos bioactivos como la manggiferina presente en *Garcinia mangostana* con los receptores involucrados en la replicación viral del SARS-CoV-2 [109]. La toxicidad de los extractos de *Hibiscus sabdariffa* y *Garcinia atroviridis* ha sido evaluada y las pruebas indican que son seguros y no presentan toxicidad [110, 129]. De forma semejante, el ácido hidroxicítrico aislado no presenta efectos secundarios ni acontecimientos adversos en seres humanos [130]. Por último, se encontró un estudio sobre la obtención de la distribución de tamaño de diferentes complejos de paladio con el ácido hidroxicítrico mediante la teoría de los funcionales de la densidad (DFT) [131]. Debido a que aún no se ha estudiado al ácido hidroxicítrico empleando la DFT y aún falta información sobre su interacción de estos diastereoisómeros con la proteasa principal del SARS-CoV-2, en el presente trabajo se realizó un análisis de la reactividad química mediante el uso de la DFT, además de un estudio de

acoplamiento molecular entre el ácido hidroxicítrico con la proteasa principal del SARS-CoV-2 para conocer la afinidad de unión del complejo, el tipo de interacción y finalmente realizar una comprobación del tiempo de unión mediante un cálculo de dinámica molecular.

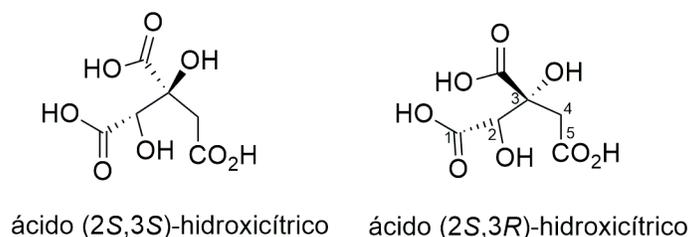


Figura 7.1. Estructuras del (2*S*, 3*S*)-1,2-dihidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico y el (2*S*,3*R*)-1,2-dihidroxiopropano-1,2,3-tricarboxílico.

7.1 Metodología

Se realizó la optimización geométrica de las estructuras de ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico empleando el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) [64] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65]) y X / 6-311++G (d,p) [66] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65]), respectivamente, en la fase acuosa empleando el modelo polarizable continuo (PCM) [67, 68]. Las frecuencias vibracionales fueron calculadas con la finalidad de asegurar que los puntos estacionarios eran mínimos en la superficie de energía potencial. Los cálculos de mecánica cuántica que se presentan se realizaron con el programa Gaussian 09 [69], y su visualización se realizó con GaussView [70], Arguslab [71], Gabedit [85] y Multwfn [73]. Para el estudio de acoplamiento molecular se empleó servidor web SwissDock [117] y la visualización de las interacciones del complejo ligando-receptor se realizaron utilizando de los programas Chimera [118] y Discovery Studio Visualizer 2019 [119]. Posteriormente, se realizó la simulación de dinámica molecular para el complejo empleando el programa GROMACS [41] y su visualización se realizó con VMD [120]. La simulación de dinámica molecular se realizó únicamente para el diastereoisómero ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico, se generó una caja de simulación y se añadieron 19210 moléculas de disolvente (agua) y 4 iones Na⁺, para disolver y equilibrar las cargas del sistema. Primero se llevó a cabo el proceso de minimización de energía, después, se realizó el equilibrio en dos fases, primero se llevó a cabo bajo un conjunto NVT y posteriormente el equilibrio de presión se llevó a cabo bajo un

conjunto NPT, para finalmente realizar una MD durante 100 ns para analizar la estabilidad del complejo proteína-ligando.

7.2 Resultados y discusión

7.2.1. Regla de cinco de Lipinski y propiedades ADMET

Mediante la predicción de las propiedades fisicoquímicas y farmacológicas de los compuestos, es posible evaluar la capacidad de las moléculas como potenciales fármacos, mediante parámetros relacionados con su biodisponibilidad oral y su administración en el organismo. La regla de cinco de Lipinski y los parámetros ADMET de (2*S*,3*S*)-ácido hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico se calcularon usando el servidor ADMETlab 2.0 [86]. Las estructuras de (2*S*,3*S*)-ácido hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico obedecen a la regla de cinco de Lipinski que incluye las siguientes propiedades (valores óptimos entre paréntesis [87]): logP de -1.60 y -1.41, respectivamente (<5), número de aceptores de enlaces de hidrógeno AHB de 8 (<10), número de donadores de enlaces de hidrógeno DHB igual a 5 (<5), esto tiene sentido debido a que las moléculas contienen varios grupos hidroxilo y es posible formar enlaces de hidrógeno en el organismo, número de enlaces rotativos igual a 5 (<10) y peso molecular de 208 g / mol (<500), note que los conformeros (2*S*,3*R*) y (2*S*,3*S*) del ácido hidroxicítrico violan una de las reglas de Lipinski, lo que es aceptable para continuar con su estudio. Por otro lado, en la Tabla 7.1 se muestran los valores obtenidos para la predicción de las propiedades ADMET, donde (2*S*,3*S*)-ácido hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico mostraron valores de permeabilidad Caco-2 y de aclaración total menores que el límite. Sin embargo, no muestran hepatotoxicidad, mutagenicidad media según la prueba AMES, toxicidad oral en ratas ni carcinogenicidad, además tienen un buen tiempo medio de vida. Finalmente, para su metabolismo, se predijo que los dos ácidos actúan como sustratos para el subtipo C9 del sistema citocromo P450.

Tabla 7.1. Predicción *in silico* de las propiedades ADMET de (2*S*,3*S*)-ácido hidroxicitrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicitrico. Los datos que se reportan se obtuvieron con el software MGA y RDKit, implementado en el servidor ADMETlab 2.0 [86].

Propiedad	Nombre del modelo	Valor óptimo	(2 <i>S</i> ,3 <i>S</i>)-ácido hidroxicitrico	(2 <i>S</i> ,3 <i>R</i>)-ácido hidroxicitrico
Absorción	Permeabilidad Caco-2	>-5.15 (log Papp en 10 ⁻⁶ cm/s)	-6.228	-6.348
	Absorción intestinal (humana)	% Absorbido	0.076	0.282
Distribución	Unión a las proteínas del plasma	<90 %	16.52	17.66
	Distribución de volumen	0.04-20 L / Kg	0.324	0.25
Metabolismo	Inhibidor CYP2A2	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2A2	Categorico (Sí/No)	No	No
	Inhibidor CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2C19	Categorico (Sí/No)	No	No
	Inhibidor CYP2C9	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2C9	Categorico (Sí/No)	Sí	Sí
	Inhibidor CYP2CD6	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP2CD6	Categorico (Sí/No)	No	No
	Inhibidor CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No	No
	Sustrato CYP3A4	Categorico (Sí/No)	No	No
Excreción	Aclaración total	Alta >15 Moderada 5-15 Baja <5 (log ml/min/kg)	1.587	1.51
	Tiempo medio de vida	Vida media larga > 3h Vida media corta < 3h	0.811	0.842
Toxicidad	Hepatotoxicidad humana	Categorico Alta, media, nula	Nula	Nula
	Toxicidad AMES	Categorico Alta, media, nula	Nula	Nula
	Toxicidad oral aguda en ratas	Baja 0 Alta 1 (log mg/kg_bw/día)	0.012	0.005
	Carcinogenicidad	Probabilidad	0.031	0.001

7.1.2 Optimización de geometría en fase acuosa de la estructura de astragalina con DFT

Las estructuras de (2*S*,3*S*)-ácido hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico (Figura 7.2) fueron optimizadas sin restricciones en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) [66] (donde X = B3LYP[59, 60] y B3PW91 [65]). Note el cambio de orientación en el grupo carboxilo en los diastereoisómeros del ácido hidroxicítrico, de una diferencia de alrededor de 230.0° en las dos fases. Es importante mencionar que no se obtuvieron diferencias significativas, ni en distancias ni en ángulos, cuando se consideró el efecto solvente en los diferentes niveles de teoría empleados en este trabajo. Todos los valores de frecuencia calculados al nivel teórico X / DGDZVP [58], en ambas fases fueron positivos lo que sugiere que el nivel de teoría empleado es capaz de predecir las propiedades electrónicas de (2*S*,3*S*)-ácido hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico. No se han reportado espectros de infrarrojo experimentales de estas moléculas por lo que en el presente trabajo se analizaron las señales y en la Figura 7.3 se muestra un resumen de las bandas principales para la fase acuosa, presentes en el espectro de (2*S*,3*S*)- ácido hidroxicítrico y (2*S*,3*R*)- ácido hidroxicítrico en 350, 600, 1350, 1800 y 3700 cm⁻¹. Cabe mencionar que se observó una señal que no coincidió en las dos moléculas alrededor de 1100 cm⁻¹ relacionada a la orientación del carboxilo, debido a que en el diastereoisómero (2*S*,3*R*) existe una vibración de estiramiento C-O entre el carbono de la cadena principal y el grupo hidroxilo en C-2, sin embargo, cuando el carboxilo en C-3 está por detrás en la molécula no permite este estiramiento por impedimento estérico.

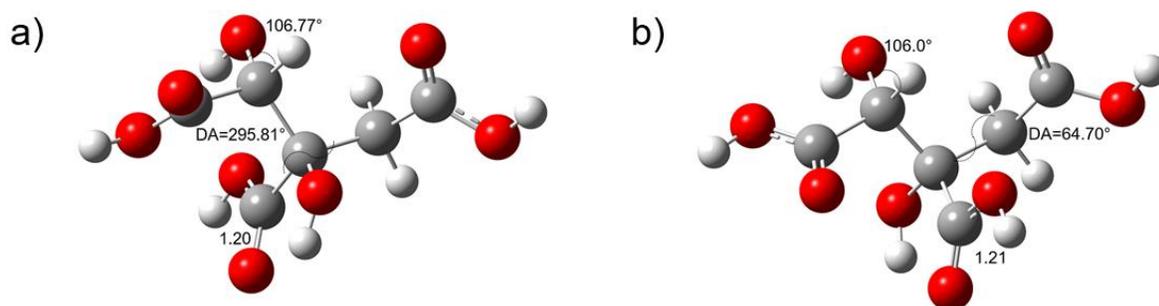


Figura 7.2. Estructuras a) (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicítrico, b) ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico, optimizados al nivel de la teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. Las distancias de unión se indican en Angstroms, DA=Ángulo diedro.

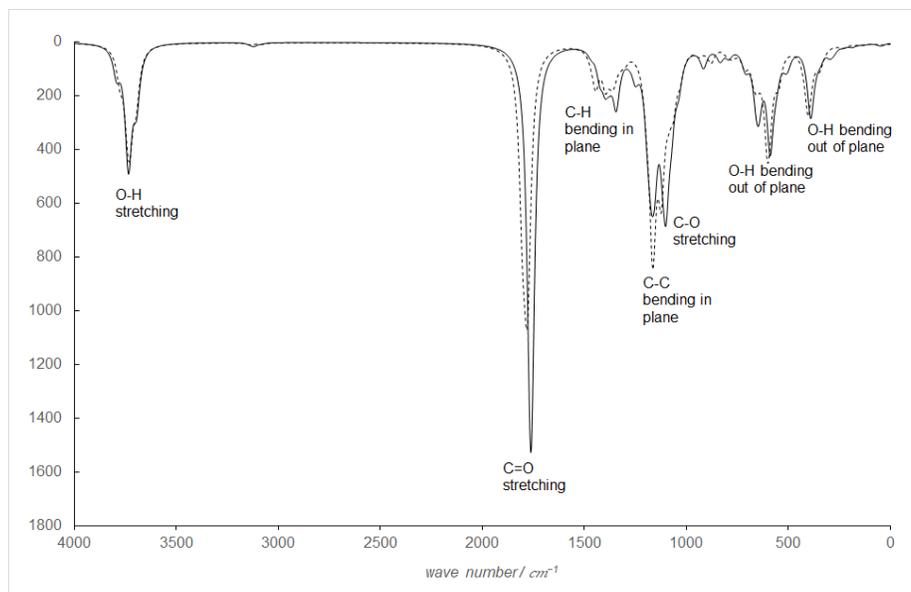


Figura 7.3. Espectros IR teóricos de (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicitrico (línea discontinua) y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicitrico (línea negra) en fase acuosa obtenidos en el nivel teórico B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente.

7.2.3. Descriptores de reactividad global

Los descriptores de reactividad global para (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicitrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicitrico fueron evaluados empleando las ecuaciones (2.28)-(2.31) y se reportan en la Tabla 7.2. Observe que, los valores de potencial químico electrónico son similares en las dos moléculas por lo que su tendencia de escape electrónico μ no varía.

Tabla 7.2. Parámetros de reactividad global calculados para (2*S*, 3*S*)- ácido hidróxicítrico y (2*S*,3*R*)- ácido hidróxicítrico, evaluados al nivel de teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente en la fase acuosa, empleando ecuaciones (2.28)-(2.31). Los valores entre paréntesis corresponden a los valores calculados utilizando el teorema de Koopmans [90].

	I / eV	A / eV	μ / eV	η / eV	μ^-	μ^+	χ / eV	ω / eV	ω^+ / eV	ω^- / eV
Ácido (2<i>S</i>, 3<i>S</i>)-hidroxycítrico										
B3LYP	6.14	2.34	-4.24	3.80	-6.14	-2.34	4.24	4.73	3.54	1.42
	(-1.95)	(-6.51)	(4.23)	(4.56)	(1.95)	(6.51)	(-4.23)	(3.93)	(1.05)	(3.17)
B3PW91	6.23	2.26	-4.25	3.97	-6.23	-2.26	4.25	4.55	3.46	1.34
	(-1.95)	(-6.51)	(4.23)	(4.56)	(1.95)	(6.51)	(-4.23)	(3.93)	(1.05)	(3.17)
Ácido (2<i>S</i>,3<i>R</i>)-hidroxycítrico										
B3LYP	6.75	0.96	-3.86	5.79	-6.75	-0.96	3.86	2.57	2.43	0.50
	(-0.86)	(-6.76)	(3.81)	(5.90)	(0.86)	(6.76)	(-3.81)	(2.45)	(0.46)	(2.36)
B3PW91	6.90	0.83	-3.86	6.07	-6.90	-0.83	3.86	2.46	2.38	0.45
	(-0.51)	(-7.07)	(3.79)	(6.56)	(0.51)	(7.07)	(-3.79)	(2.19)	(0.35)	(2.25)

7.2.4 Descriptores de reactividad local

La reactividad local de un sistema molecular puede ser evaluada a través de la Función Fukui, empleando las aproximaciones FC y FD. La Figura 7.4 muestra la distribución de los sitios electrofílicos y nucleofílicos en las cuatro moléculas, empleando la aproximación de FC en la fase acuosa. Note que en los dos diastereoisómeros del ácido hidroxycítrico, la distribución de HOMO está localizada sobre el oxígeno del carbonilo del grupo carboxilo y sobre el hidroxilo unido al carbono que está unido al carbonilo. Mientras que la distribución de los sitios nucleofílicos está localizada principalmente sobre grupo carboxilo ubicado en el carbonilo quiral de los dos diastereoisómeros.

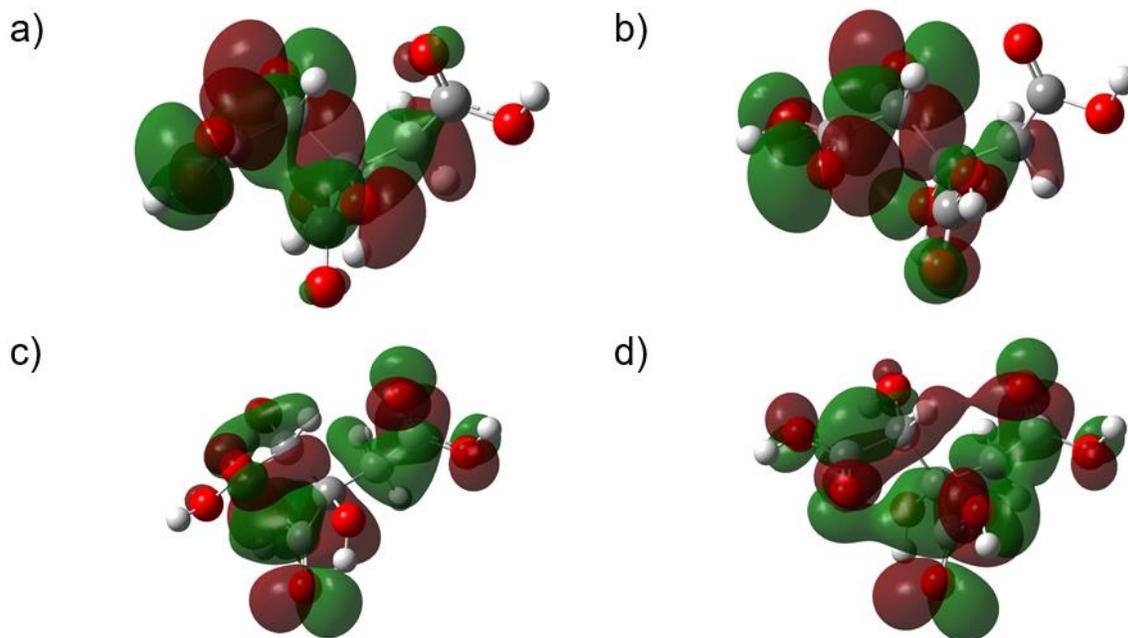


Figura 7.4. Distribuciones de HOMO sobre a) (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicítrico y b) (2*S*, 3*R*)- ácido hidroxicítrico y LUMO c) (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicítrico y d) (2*S*, 3*R*)- ácido obtenidas al nivel de la teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.08 e/u.a.³.

La evaluación de la Función Fukui empleando la aproximación FD (ecuaciones (2.34)-(2.36)) en la fase acuosa se reporta en la Figura 7.5 para (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicítrico y en la Figura 7.6 para (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxicítrico. En el caso del diastereoisómero (2*S*, 3*S*), los sitios más activos hacia ataques nucleofílicos se encuentran en el grupo carboxilo en C-3 (Figura. 7.5a). Para los ataques electrofílicos, los sitios más reactivos se encuentran sobre el grupo hidroxilo unido a C-2 (Figura 7.5b), mientras que para los ataques por radicales libres los sitios más reactivos son el grupo carboxilo en C-3 y el grupo hidroxilo en C-2 (Figura. 7.5c). Se observó el mismo comportamiento en (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxicítrico.

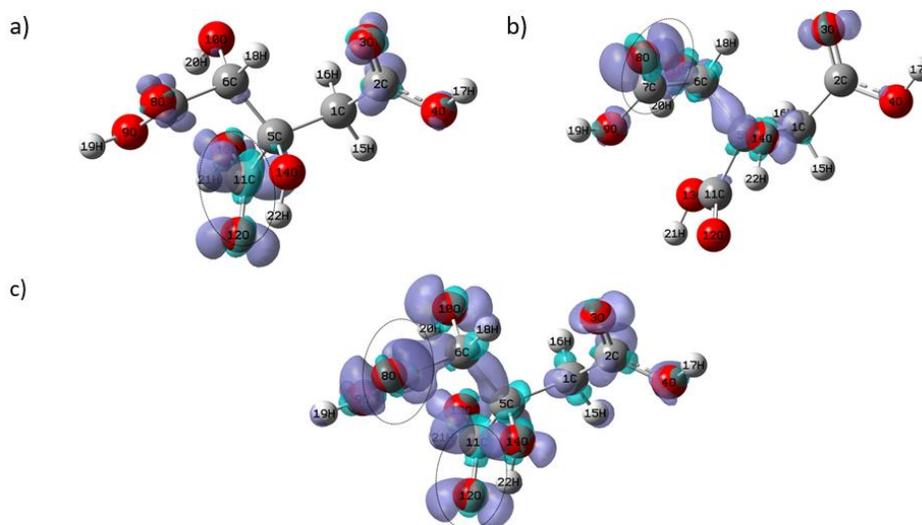


Figura 7.5. Isosuperficies de las Funciones Fukui para (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicítrico según las ecuaciones (2.34)-(2.36) en el nivel de teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente empleando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) de radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.008 e/u.a.³, los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

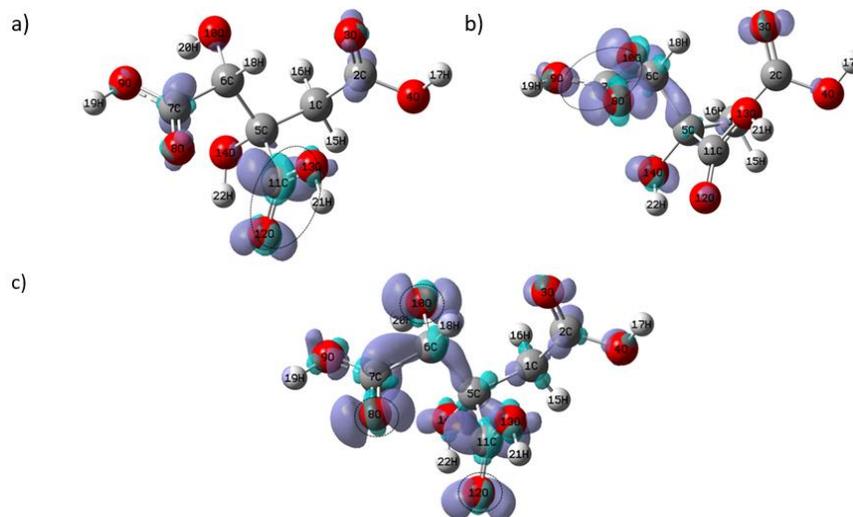


Figura 7.6. Isosuperficies de las Funciones Fukui para (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxicítrico según las ecuaciones (2.34)-(2.36) en el nivel de teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++(d,p), respectivamente empleando el modelo de solución PCM. En el caso de (a) ataques nucleofílicos, (b) electrofílicos y (c) de radicales libres. En todos los casos las isosuperficies se obtuvieron a 0.008 e/u.a.³, los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

De igual manera, es posible analizar la reactividad local de las moléculas empleando la función Fukui condensada a través de las ecuaciones (2.37)-(2.39), debido a que los valores más altos de CFF corresponden a los átomos más reactivos en la molécula [124]. Los valores de la CFF para los ataques nucleofílicos en los diferentes niveles de teoría, para el (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicítrico calculados en fase acuosa, se muestran en la Figura 7.7 y para el (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxicítrico en la Figura 7.8. Note que el (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicítrico exhibe los sitios más susceptibles hacia ataques nucleofílicos sobre el grupo carboxilo quiral. En el caso de un ataque electrofílico, los sitios más reactivos son sobre el grupo hidroxilo unido a la cadena principal (Figura 7.8), mientras que, los sitios más reactivos hacia un ataque por radicales libres se encuentran sobre el grupo carboxilo quiral y sobre el grupo hidroxilo unido a la cadena (Figura 7.9), se observó el mismo comportamiento en el caso del (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxicítrico (Figuras (6.10)-(6.12)).

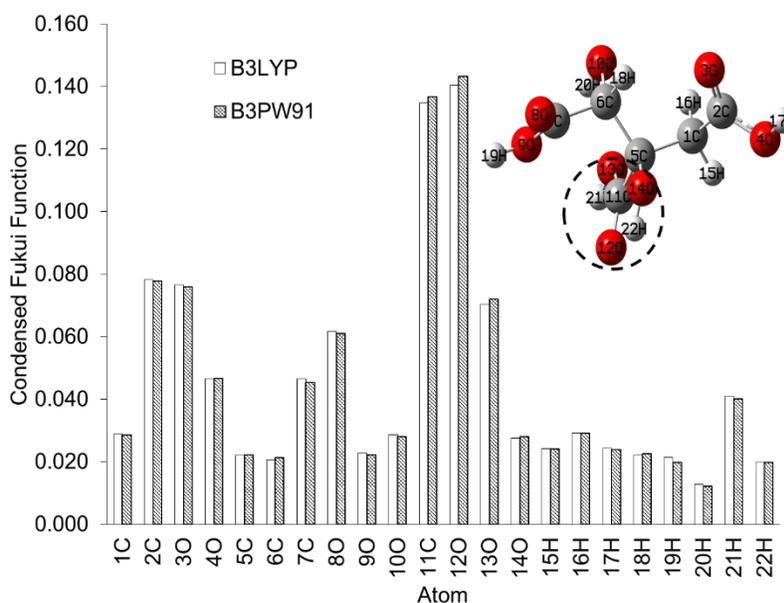


Figura 7.7. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicítrico en el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) (donde X=B3LYP, B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

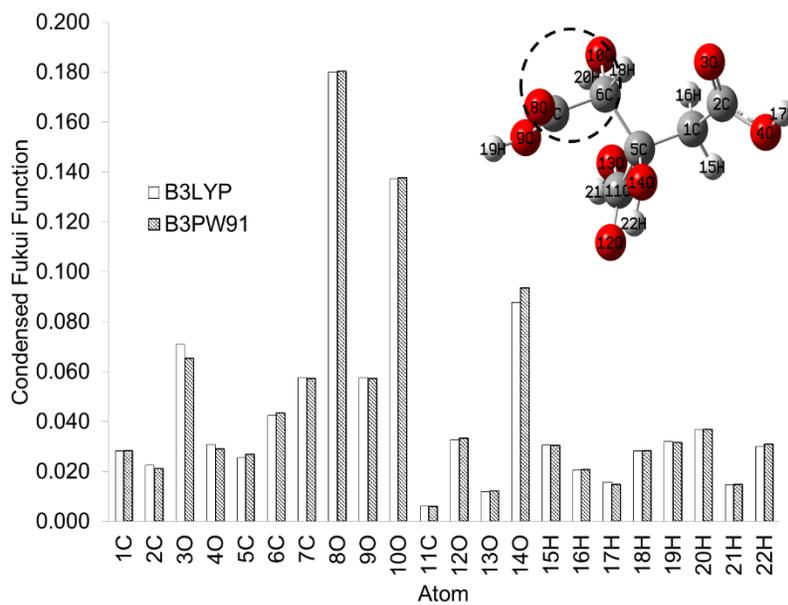


Figura 7.8. Valores de la función Fukui condensada para ataques electrofílicos sobre (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicitrico en el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) (donde X=B3LYP, B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

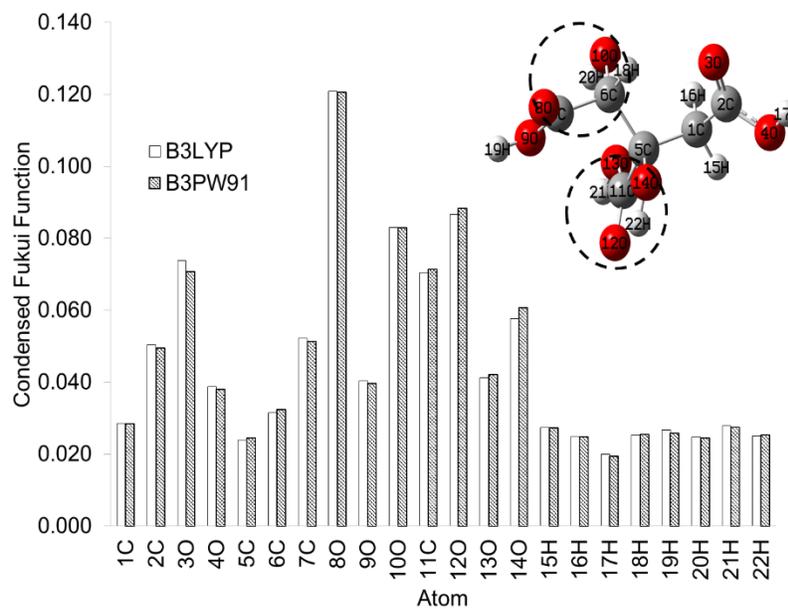


Figura 7.9. Valores de la función Fukui condensada para ataques por radicales libres sobre (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicitrico en el nivel de teoría X / 6-311G (d,p) (donde X=B3LYP, B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

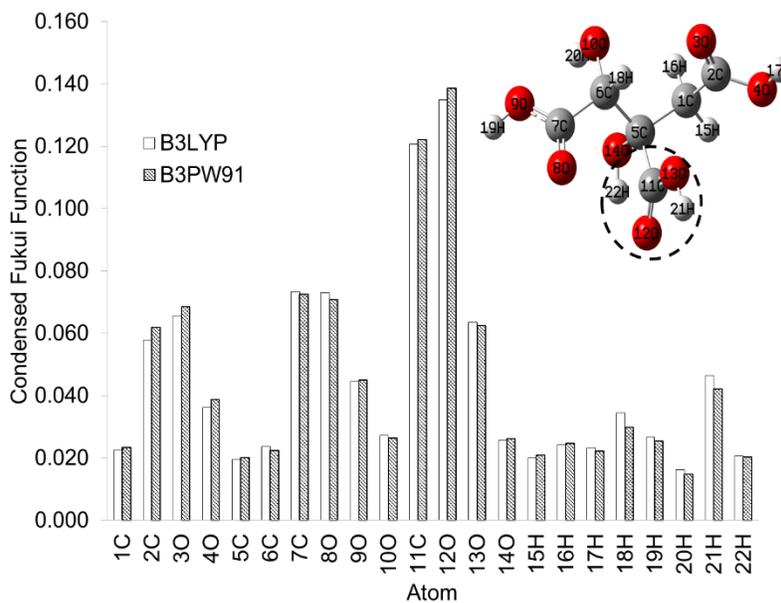


Figura 7.10. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxycítrico en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

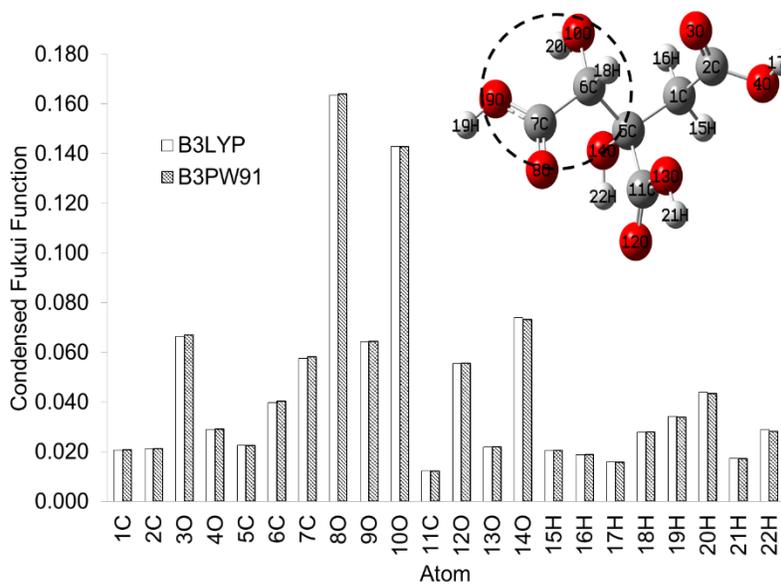


Figura 7.11. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxycítrico en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

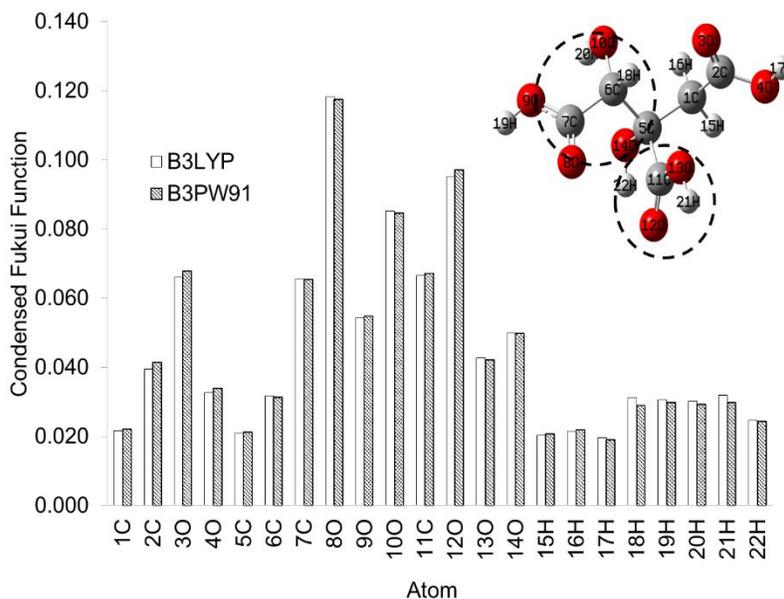


Figura 7.12. Valores de la función Fukui condensada para ataques nucleofílicos sobre (2*S*, 3*R*)-ácido hidroxycítrico en el nivel de teoría X / 6-311++G (d,p) (donde X = B3LYP y B3PW91), en la fase acuosa empleando la población de Hirshfeld y las ecuaciones (2.37)-(2.39), los círculos punteados muestran las zonas más reactivas en cada molécula.

De igual manera, se puede analizar la reactividad química de las especies mediante mapas del potencial electrostático molecular (MEP) [31]. En la Figura 7.13 se muestran los MEP de las moléculas ácido (2*S*,3*S*)-hidroxycítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxycítrico. Los dos conformeros exhiben los valores más altos de potencial en los átomos de hidrógeno y nitrógeno en comparación con los otros átomos (color azul); por lo tanto, tienen una menor densidad de electrones a su alrededor, y muestran que los átomos de oxígeno son los lugares con el menor potencial y por lo tanto son los sitios más electrofílicos activos (color rojo).

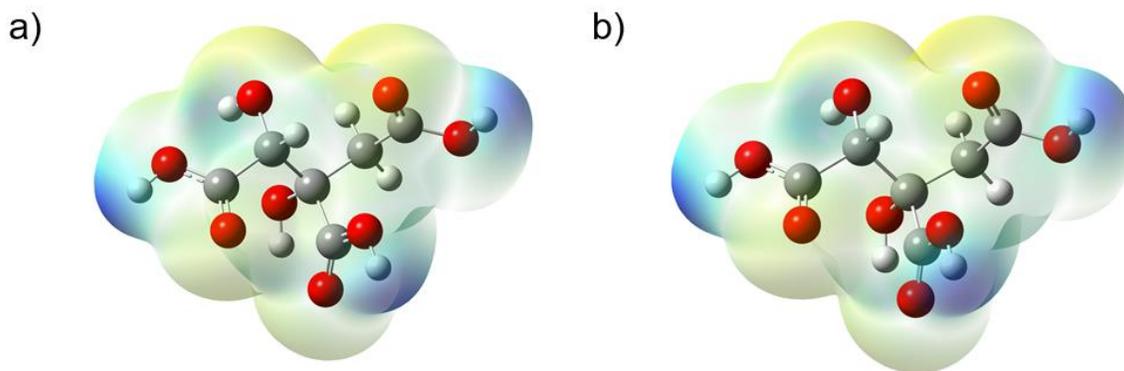


Figura 7.13. Mapeo de los potenciales electrostáticos para a) (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicítrico, b) ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico, obtenidos al nivel de la teoría B3LYP/6-311G (d,p) y B3LYP/6-311G++ (d,p) respectivamente, en la fase acuosa empleando el modelo de solución PCM, sobre una isosuperficie de densidad (valor =0.002 e/a.u.³).

Las Figura 7.14 muestra el gráfico del gradiente de densidad reducido para ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico (Figura 7.14a), se observa un pico a -0.032 debido a la interacción estabilizante entre el oxígeno del carboxilo en C-3 y el hidrógeno del hidroxilo en C-3, el pico a -0.018 de la interacción entre el hidrógeno del hidroxilo en C-2 y los oxígenos de los hidroxilos de los grupos carboxilo en C-2 y C-3, a -0.014 es representativo de la interacción estabilizante entre el oxígeno del hidroxilo en C-2 el hidrógeno en C-4, y a -0.012 y -0.010 están las interacciones estabilizantes entre en átomo de oxígeno del grupo hidroxilo en C-3 con carbonilos de los grupos hidroxilo en C-2 y C-4. Por otro lado, las interacciones desestabilizadoras se encuentran a 0.005 y 0.009 debido a las interacciones del átomo de oxígeno del hidroxilo en C-3 con los átomos de oxígeno de los hidroxilos de los grupos carboxilo en C-2 y C-4, a 0.010 se encuentran el pico relacionado con interacción repulsiva entre el átomo de oxígeno del hidroxilo en C-2 y el átomo de oxígeno del hidroxilo del carbonilo en C-2, a 0.012 se encuentran las interacciones no estabilizantes entre el átomo de oxígeno del hidroxilo en C-2 y el átomo de oxígeno del hidroxilo del grupo carbonilo en C-3, y a 0.022 es el pico relacionado con las interacciones no estabilizantes entre el átomo de oxígeno del hidroxilo en C-2 y el átomo del oxígeno del carbonilo del grupo carboxilo en C-3. Para el ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico (Figura 7.14b) se observan los mismos picos de interacciones tanto estabilizantes como no estabilizantes a excepción de la interacción en -0.08, ya que en el diastereoisómero (2*S*,3*R*) ocurre debido a la interacción entre el átomo de oxígeno del hidroxilo en C-2 y el átomo de oxígeno del carbonilo del grupo carboxilo en C-

4 y para el diastereoisómero (2*S*,3*S*) la estabilización del grupo hidroxilo en C-2 ocurre con el carbonilo en C-3. Para verificar este resultado, se graficó la isosuperficie $s(r)$ de las dos moléculas, (Figura 7.15).

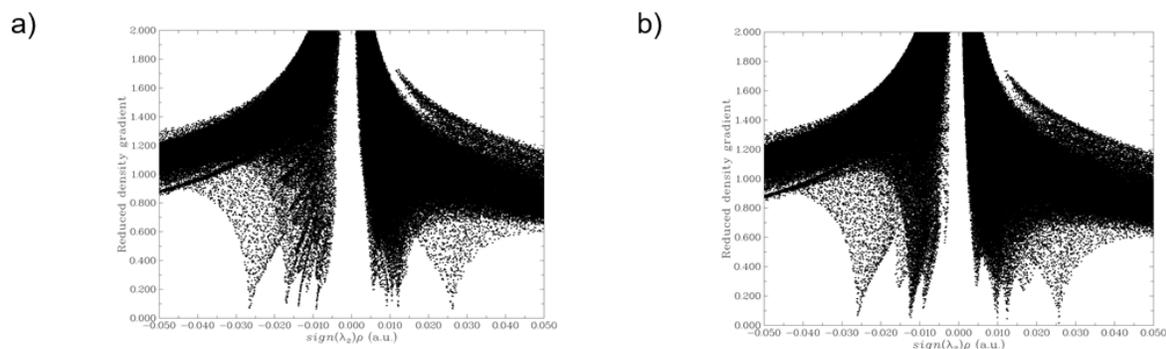


Figura 7.14 Gráfico del gradiente de densidad reducida vs $\text{sign}(\lambda_2)\rho$ para a) (2*S*, 3*S*)- ácido hidroxicítrico y b) ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico en la fase acuosa.

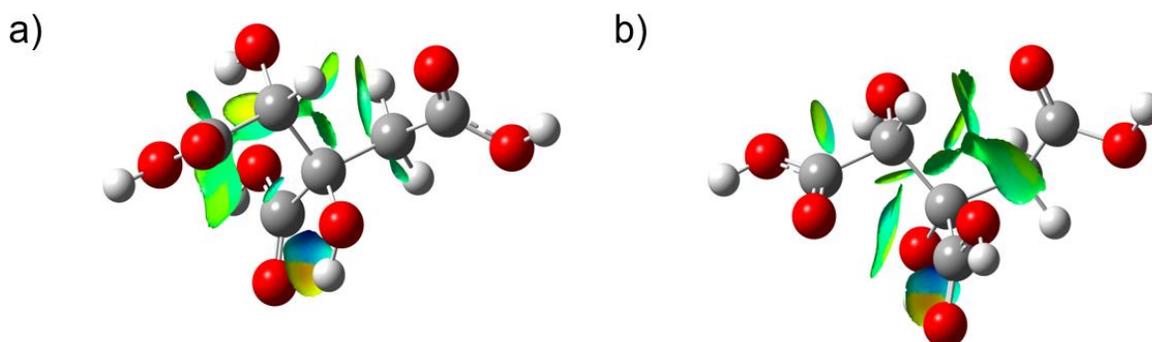


Figura 7.15. Isosuperficie del $\text{NCI} = 0.2$ para a) (2*S*, 3*S*)-ácido hidroxicítrico b) ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico, en fase acuosa.

7.2.5 Estudio de acoplamiento molecular

Se analizó la configuración óptima de proteína / ligando y la afinidad de unión de los diastereoisómeros ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico y ácido(2*S*,3*R*)-hidroxicítrico con M^{pro} . La Figura 7.15 y 7.16 muestra la configuración ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico/ M^{pro} y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico/ M^{pro} , se puede apreciar la pose de unión de los dos diastereoisómeros a la proteasa, note que únicamente el diastereoisómero (2*S*,3*S*) está unido a la M^{pro} en el sitio activo, entre los dominios I y II de la proteína, mientras que el diastereoisómero (2*S*,3*R*) se encuentra fuera dominio del sitio activo [3]. La energía de unión para la configuración ácido

(2*S*,3*S*)-hidroxicítrico/ M^{pro} fue $-6.74 \text{ kcal mol}^{-1}$ y se identificaron las interacciones alrededor de 3 \AA y se graficaron en un mapa 2D como se muestra en las Figuras 6.18 y 6.19, de este modo se observa que ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico tiene interacciones de van der Waals con los residuos del sitio activo de la M^{pro} ASN142, HSD41, MET165, HSD163, GLU166, PHE140 y la diada catalítica HIS164-CYS145 (Figura 7.18). Por otro lado, se corroboró que el ácido(2*S*,3*R*)-hidroxicítrico se acopla fuera del sitio específico con interacciones de tipo van der Waals con VAL A:303 y PHE A:305, de tipo puentes de hidrógeno con GLY A:302 y THR A:304 y de tipo carbono-hidrógeno con SER A:1 (Figura 7.18). Debido a lo anterior, se puede considerar al ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico para continuar con el estudio de dinámica molecular y evaluar el tiempo de residencia en el complejo.

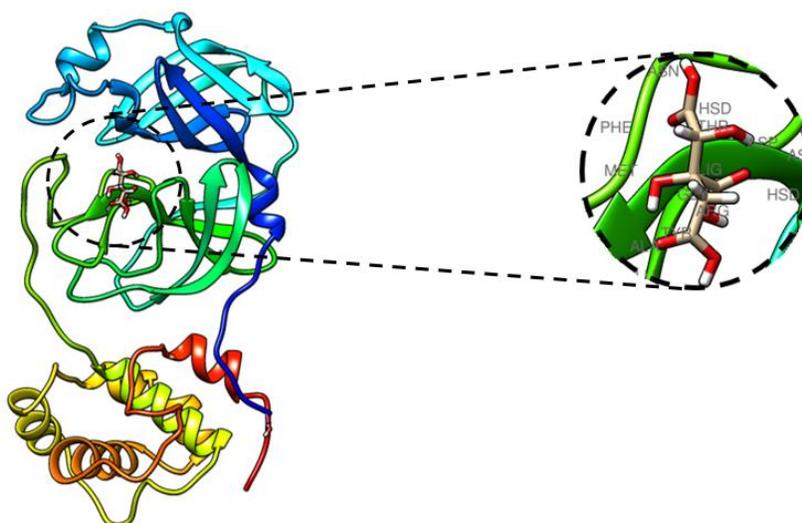


Figura 7.16. Sitio de unión de ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico en la M^{pro} del SARS-CoV-2.

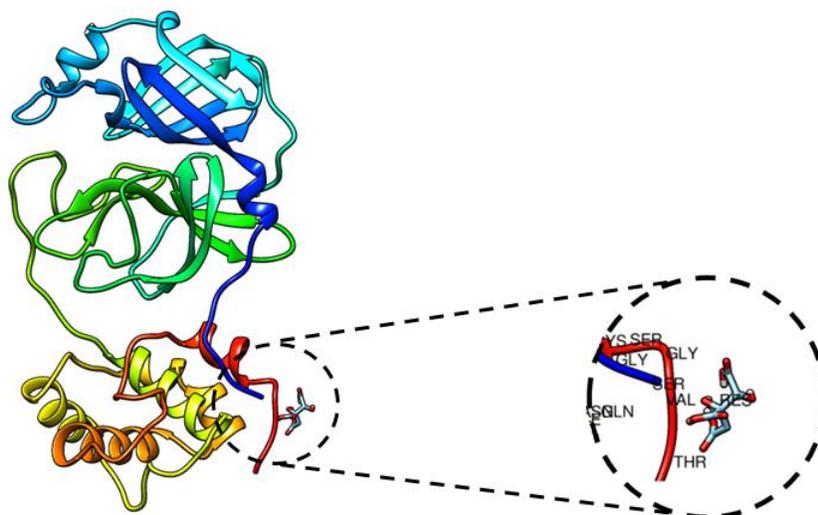


Figura 7.17. Sitio de unión de ácido(2S,3R)-hidroxicítrico en la M^{pro} del SARS-CoV-2.

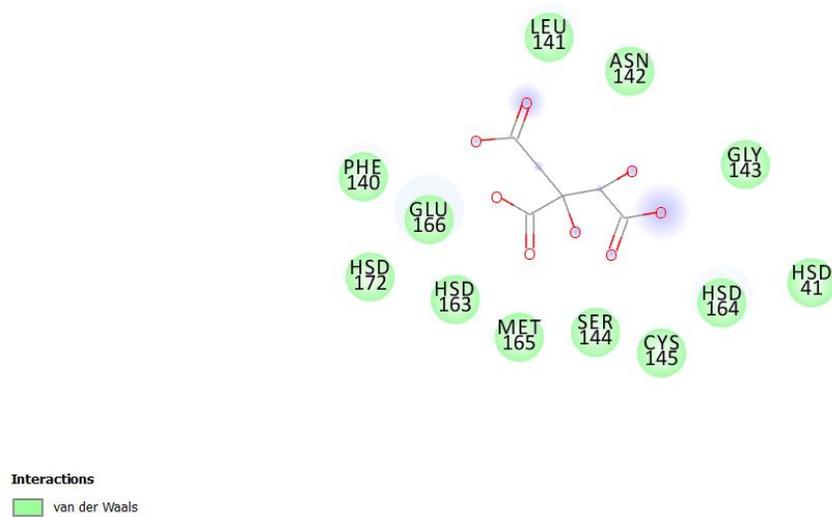


Figura 7.18. Mapa 2D de las interacciones ligando / M^{pro} para ácido (2S,3S)-hidroxicítrico.

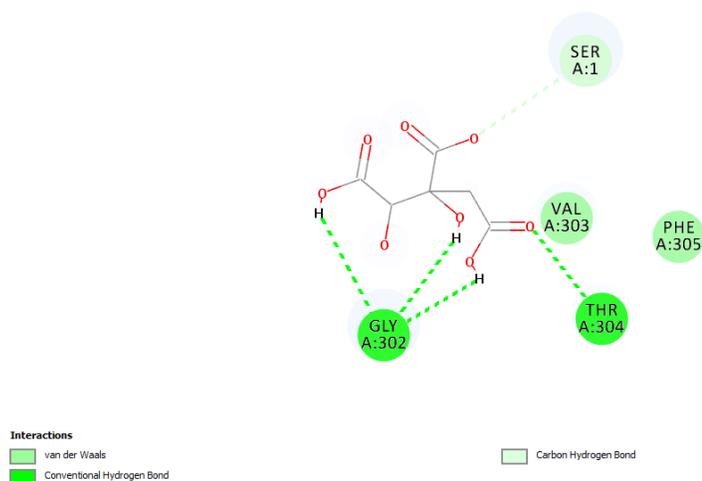


Figura 7.19. Mapa 2D de las interacciones ligando / M^{pro} para ácido(2S,3R)-hidroxicitrico.

7.2.5.1 Simulación de dinámica molecular

Con la finalidad de realizar la validación del complejo obtenido en el estudio de acoplamiento se realizó la simulación de dinámica molecular. La simulación de dinámica molecular se realizó durante 100 ns para el complejo ácido (2S,3S)-hidroxicitrico / M^{pro} como se observa en la Figura 6.20. El sistema alcanzó el equilibrio después de 40 ns y fluctuó alrededor del valor medio de 0.3 Å hasta el final de la simulación, lo que confirma que no hay un cambio significativo del complejo durante la simulación.

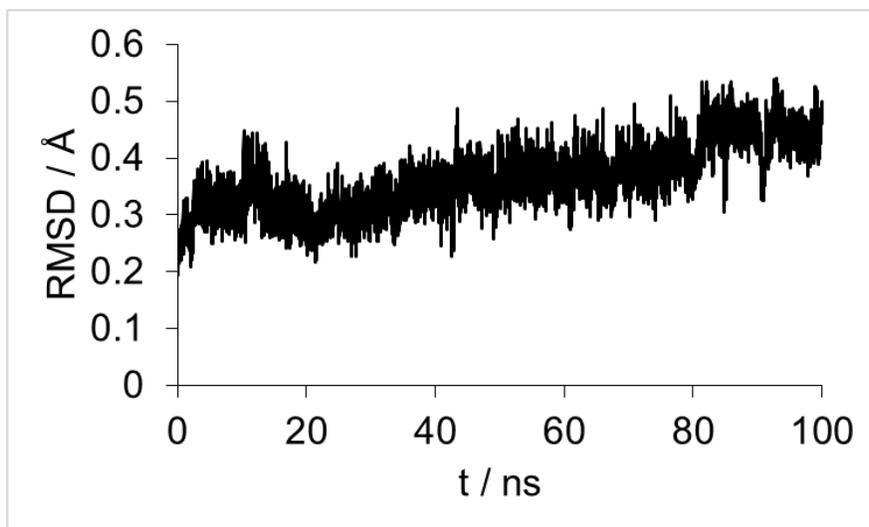


Figura 7.20. Resultados de la simulación de dinámica molecular para ácido (2S,3S)-hidroxicitrico-M^{pro} a lo largo de 100 ns.

7.3. Conclusiones

En el presente capítulo se realizó la predicción *in silico* de la regla de cinco de Lipinski y las propiedades de administración, metabolismo, excreción y toxicidad de ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico, los dos confórmeros violaron la regla de Lipinski al poder formar cinco enlaces de hidrógeno, sin embargo entra dentro de los parámetros aceptables al ser únicamente una violación, en cuanto a los parámetros ADMET se observó que los diastereoisómeros presentan valores de absorción en la barrera epitelial gastrointestinales menores al valor óptimo al igual que sus valores de aclaración total, lo que es indicativo de que estas moléculas atravesarían la barrera epitelial en menor cantidad en comparación con los valores óptimos, además que el volumen de sangre que se limpia del fármaco que se limpia por unidad de tiempo también es menor que para el valor óptimo. En cuanto a su metabolismo, se observó que los diastereoisómeros podrían ser descompuestos para su excreción mediante las enzimas del sistema CYP450 subtipo C9. Después el estudio de la reactividad química molecular de las estructuras de ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico en fase acuosa. Mediante la función Fukui se identificaron los sitios más activos hacia ataques nucleofílicos, electrofílicos y por radicales libres. Los dos diastereoisómeros presentaron la misma reactividad local, los sitios más activos hacia ataques nucleofílicos se encontraron en el grupo carboxilo quiral en C-3, para los ataques electrofílicos, los sitios más reactivos se encuentran sobre el grupo hidroxilo en C-2 y para los ataques por radicales libres los sitios más reactivos son el grupo carboxilo en C-3 y el grupo hidroxilo en C-2. Adicionalmente se estudió la interacción de estos diastereoisómeros con la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2. El estudio de acoplamiento reveló que solo ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico se acoplo a la M^{pro} en el sitio activo con los residuos ASN142, HSD41, MET165, HSD163, GLU166, PHE140 y HIS164-CYS145 con una energía de unión igual a $-6.74 \text{ kcal mol}^{-1}$. Finalmente, se realizó la simulación de dinámica molecular para confirmar el tiempo de residencia del ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico en la M^{pro}, se observó que el complejo alzó el equilibrio alrededor de los 40 ns de simulación fluctuando en los 0.3 Å lo que lo hace un complejo estable y lo convierte en un candidato atractivo para inhibir la replicación viral mediante la M^{pro}.

Capítulo 8. Conclusiones generales

En el presente trabajo se realizó un estudio computacional a 101 moléculas bioactivas presentes en plantas medicinales empleadas en México (Tabla A-1), y posteriormente se analizó su interacción con la proteasa M^{pro} del SARS-CoV-2. Del total de las estructuras analizadas solo seis (aliina, astragalina, ácido hibiscus, ácido garcinia, ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico y ácido (2*S*,3*R*)-hidroxicítrico) interactuaron adecuadamente en el primer estudio de acoplamiento y se continuó con su estudio, como se resume en la Tabla A-2. Note que astragalina y los dos conformeros del ácido hidroxicítrico violan una vez la regla de cinco de Lipinski, lo que hace a estas moléculas menos adecuadas que las demás. Por otro lado, se puede observar que todas las estructuras actúan como sustrato para diferentes subtipos del sistema citocromo P450, lo que indica que podrían ser transformadas por este metabolismo para su excreción. Además, derivado de la optimización de la geometría en disolución y el cálculo de descriptores de reactividad global, tenemos el poder de electroaceptación ω^+ el cual se relaciona con el grado de toxicidad que puede presentar una molécula, esto debido a que la reactividad de tipo electrofílica interviene en enfermedades causadas por ataques covalentes hacia el ADN y proteínas como carcinogenicidad, mutagenicidad y sensibilidad dérmica [39]. En este sentido, un valor menor se asocia a una mayor toxicidad por lo que de los resultados obtenidos se observa un menor valor en la molécula aliina y el valor mayor para el conformero (2*S*,3*S*) del ácido hidroxicítrico. Estos resultados nos dan una idea de la actividad farmacológica de los compuestos, por lo que se continuó con el segundo estudio de acoplamiento. Note que cinco de las seis estructuras obtuvieron una pose de unión adecuada y se descartó el conformero (2*S*,3*R*) del ácido hidroxicítrico. Mientras que las afinidades de unión de los complejos formados en la pose de unión adecuada rondaron entre los -6.74 kcal mol⁻¹ y -8.2 kcal mol⁻¹ lo que es indicativo de la formación de un complejo estable. Finalmente, se realizó el estudio por dinámica molecular para aliina, astragalina, ácido hibiscus, ácido garcinia y ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico, aquí se observó que todas las moléculas se mantuvieron unidas al sitio activo durante toda la simulación a excepción del ácido garcinia que abandonó la posición inicial. Los resultados sugieren que las moléculas ácido hibiscus y ácido (2*S*,3*S*)-hidroxicítrico son las estructuras más adecuadas para la inhibición de la proteasa M^{pro}, por lo que se recomiendan como candidatos farmacológicos

para continuar con estudios in vitro e in vivo para poder ser considerados en el tratamiento de la enfermedad COVID-19 causada por el virus SARS-CoV-2.

Bibliografía

1. Valencia DN (2020) Brief Review on COVID-19: The 2020 Pandemic Caused by SARS-CoV-2. *Cureus* 12:. <https://doi.org/10.7759/CUREUS.7386>
2. González-Castro A, Escudero-Acha P, Peñasco Y, et al (2020) Cuidados intensivos durante la epidemia de coronavirus 2019. *Med Intensiva* 44:351–362. <https://doi.org/10.1016/J.MEDIN.2020.03.001>
3. Jin Z, Du X, Xu Y, et al (2020) Structure of M pro from SARS-CoV-2 and discovery of its inhibitors. <https://doi.org/https://www.nature.com/articles/s41586-020-2223-y>
4. Kannan SR, Spratt AN, Cohen AR, et al (2021) Evolutionary analysis of the Delta and Delta Plus variants of the SARS-CoV-2 viruses. *J Autoimmun* 124:102715. <https://doi.org/10.1016/J.JAUT.2021.102715>
5. Graham MS, Sudre CH, May A, et al (2021) Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: an ecological study. *Lancet Public Heal* 6:e335–e345. [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(21\)00055-4](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(21)00055-4)
6. Boehm E, Kronig I, Neher RA, et al (2021) Novel SARS-CoV-2 variants: the pandemics within the pandemic. *Clin Microbiol Infect* 27:1109–1117. <https://doi.org/10.1016/J.CMI.2021.05.022>
7. Firestone MJ, Lorentz AJ, Meyer S, et al (2021) First Identified Cases of SARS-CoV-2 Variant P.1 in the United States — Minnesota, January 2021. *Morb Mortal Wkly Rep* 70:346. <https://doi.org/10.15585/MMWR.MM7010E1>
8. Lam-Hine T, McCurdy SA, Santora L, et al (2021) Outbreak Associated with SARS-CoV-2 B.1.617.2 (Delta) Variant in an Elementary School — Marin County, California, May–June 2021. *Morb Mortal Wkly Rep* 70:1214. <https://doi.org/10.15585/MMWR.MM7035E2>
9. Team CC-19 R (2021) SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant — United States, December 1–8, 2021. *Morb Mortal Wkly Rep* 70:1731. <https://doi.org/10.15585/MMWR.MM7050E1>
10. Jiang F, Deng L, Zhang L, et al (2020) Review of the Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med* 35:1545–1549. <https://doi.org/10.1007/s11606-020-05762-w>

11. Peramo-Álvarez FP, López-Zúñiga MÁ, López-Ruz MÁ (2021) Medical sequels of COVID-19. *Med Clin (Barc)* 157:388–394. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2021.04.023>
12. Tu YF, Chien CS, Yarmishyn AA, et al (2020) A review of sars-cov-2 and the ongoing clinical trials. *Int J Mol Sci* 21:. <https://doi.org/10.3390/ijms21072657>
13. Arodola OA, Soliman MES (2017) Quantum mechanics implementation in drug-design workflows: Does it really help? *Drug Des Devel Ther* 11:2551–2564. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S126344>
14. Çubuk H, Özbil M (2021) Comparison of clinically approved molecules on SARS-CoV-2 drug target proteins: A molecular docking study. *Turkish J Chem* 45:35–41. <https://doi.org/10.3906/KIM-2008-35>
15. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, et al (2020) The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 5:536–544. <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>
16. Tang X, Wu C, Li X, et al (2020) On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *Natl Sci Rev* 7:1012–1023. <https://doi.org/10.1093/NSR/NWAA036>
17. COVID-19/SARS-CoV-2 Pandemic - FPM. <https://www.fpm.org.uk/blog/covid-19-sars-cov-2-pandemic/>. Accessed 19 Jan 2022
18. The Molecular Targets of SARS-CoV-2 | Biocompare.com. <https://www.biocompare.com/Editorial-Articles/563489-SARS-CoV-2-Molecular-Targets/>. Accessed 19 Jan 2022
19. An Introduction to Medicinal Chemistry - Graham L. Patrick - Google Libros. https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=Pj7xJRuhZxUC&oi=fnd&pg=PP1&dq=an+introduction+to+medicinal+chemistry+reino+unido+oxford&ots=1_OcNw7w4K&sig=N6tAS-orL0DQmXb5Pd5u86EDhmg#v=onepage&q=an+introduction+to+medicinal+chemistry+reino+unido+oxford&f=false. Accessed 19 Jan 2022
20. Viso JF, Belelli P, Machado M, et al (2018) Multiscale modelization in a small virus: Mechanism of proton channeling and its role in triggering capsid disassembly. *PLoS Comput Biol* 14:1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006082>
21. Moore JP, Offit PA (2021) SARS-CoV-2 Vaccines and the Growing Threat of Viral Variants. *JAMA - J Am Med Assoc* 325:821–822. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.1114>

22. López-Orozco W, Mendoza-Huizar LH, Álvarez-Romero GA, et al Diseño computacional de fármacos contra el SARS-CoV-2 :: Divulgación de la Ciencia. <https://www.uaeh.edu.mx/divulgacion-ciencia/disenocomputacional-farmacos/>. Accessed 9 Jan 2024
23. Popovic ME (2023) XBB.1.5 Kraken cracked: Gibbs energies of binding and biosynthesis of the XBB.1.5 variant of SARS-CoV-2. *Microbiol Res* 270:127337. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127337>
24. Seguimiento de las variantes del SARS-CoV-2. <https://www.who.int/es/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>. Accessed 18 Jan 2022
25. SARS-CoV-2: Origin, Evolution, and Targeting Inhibition. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8248807/>. Accessed 19 Jan 2022
26. Yang H, Yang M, Ding Y, et al (2003) The crystal structures of severe acute respiratory syndrome virus main protease and its complex with an inhibitor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:13190–13195. <https://doi.org/10.1073/pnas.1835675100>
27. Roe MK, Junod NA, Young AR, et al (2021) Targeting novel structural and functional features of coronavirus protease nsp5 (3CLpro, Mpro) in the age of COVID-19. *J Gen Virol* 102:. <https://doi.org/10.1099/JGV.0.001558>
28. Zhang L, Lin D, Sun X, et al (2020) Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved a-ketoamide inhibitors. *Science* (80-) 368:409–412. https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABB3405/SUPPL_FILE/PAPV2.PDF
29. Chauhan PS, Jaiswar S, Noorbacha IA, et al (2011) Gromacs 5.0.7. *Proteins Struct Funct Genet* 12:169–200
30. Chen YC (2015) Beware of docking! *Trends Pharmacol Sci* 36:78–95. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.12.001>
31. Aanouz I, Belhassan A, El-Khatabi K, et al (2021) Moroccan Medicinal plants as inhibitors against SARS-CoV-2 main protease: Computational investigations. *J Biomol Struct Dyn* 39:2971–2979. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1758790>
32. Fernando G, Pérez M, Fernando Narváez González H, et al Plantas medicinales para el alivio del dolor

33. Ramonet I La pandemia y el sistema-mundo. In: La Jorn.
<https://www.jornada.com.mx/noticia/2020/04/25/mundo/ante-lo-desconocido-la-pandemia-y-el-sistema-mundo-7878>. Accessed 30 Jan 2024
34. Rojas R Mueren por Covid-19 más jóvenes que ancianos en México que en Europa. El Univers.
35. Carloni P, Alber F (2005) Quantum Medicinal Chemistry
36. Sjulstok E, Solov'yov IA, Freddolino PL (2019) Applications of molecular modeling to flavoproteins: Insights and challenges. *Methods Enzymol* 620:277–314.
<https://doi.org/10.1016/BS.MIE.2019.03.014>
37. Huizar LHM, Rios-Reyes CH, Olvera-Maturano NJ, et al (2015) Chemical reactivity of quinclorac employing the HSAB local principle - Fukui function. *Open Chem* 13:52–60.
<https://doi.org/10.1515/chem-2015-0008>
38. Young DC (2001) Computational chemistry : a practical guide for applying techniques to real world problems. 381
39. Wondrousch D, Böhme A, Thaens D, et al (2010) Local electrophilicity predicts the toxicity-relevant reactivity of michael acceptors. *J Phys Chem Lett* 1:1605–1610.
<https://doi.org/10.1021/jz100247x>
40. Farrell N (2019) Exploring Chemistry With Electronic Structure Methods. *Clever Girls Autoethnographies Class, Gend. Ethn.* 115–123
41. N LI (2001) *Química Cuántica*, 5ta edición
42. Gabriel C, Fernando C (2003) *Introducción a la Química Computacional*. Fondo de cultura económica
43. Born M, Oppenheimer R (1927) Zur Quantentheorie der Molekeln. *Ann Phys* 389:457–484.
<https://doi.org/10.1002/ANDP.19273892002>
44. Davidson ER, Feller D (1986) Basis Set Selection for Molecular Calculations. *Chem Rev* 86:681–696. https://doi.org/10.1021/CR00074A002/ASSET/CR00074A002.FP.PNG_V03
45. Hehre WJ, Ditchfield R, Pople JA, et al (1972) Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules. *JChPh* 56:2257–2261.

<https://doi.org/10.1063/1.1677527>

46. Collins JB, Von Schleyer PR, Binkley JS, Pople JA (1976) Self-consistent molecular orbital methods. XVII. Geometries and binding energies of second-row molecules. A comparison of three basis sets. *J Chem Phys* 64:5142–5151. <https://doi.org/10.1063/1.432189>
47. Rozanska X, Stewart JJP, Ungerer P, et al (2014) High-throughput calculations of molecular properties in the MedeA environment: Accuracy of PM7 in predicting vibrational frequencies, ideal gas entropies, heat capacities, and gibbs free energies of organic molecules. *J Chem Eng Data* 59:3136–3143.
https://doi.org/10.1021/IE500201Y/SUPPL_FILE/IE500201Y_SI_001.PDF
48. Sousa SF, Fernandes PA, Ramos MJ (2007) General performance of density functionals. *J Phys Chem A* 111:10439–10452. <https://doi.org/10.1021/jp0734474>
49. Becke AD (1993) A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories. *J Chem Phys* 98:1372–1377. <https://doi.org/10.1063/1.464304>
50. Parr RG, Yang W (1984) Density Functional Approach to the Frontier-Electron Theory of Chemical Reactivity. *J Am Chem Soc* 106:4049–4050. <https://doi.org/10.1021/ja00326a036>
51. Yang W, Mortier WJ (1986) The Use of Global and Local Molecular Parameters for the Analysis of the Gas-Phase Basicity of Amines. *J Am Chem Soc* 108:5708–5711.
<https://doi.org/10.1021/ja00279a008>
52. Johnson ER, Keinan S, Mori-Sánchez P, et al (2010) Revealing noncovalent interactions. *J Am Chem Soc* 132:6498–6506. <https://doi.org/10.1021/ja100936w>
53. Geerlings P, De Proft F, Langenaeker W (2003) Conceptual Density Functional Theory. *Chem Rev* 103:1793–1873. <https://doi.org/10.1021/CR990029P>
54. Becerra CD, Benítez JFC, Espinosa JFP (2021) Manual de acoplamiento molecular (docking): teoría y ejercicios. Universidad Autónoma Metropolitana
55. Ballón W, Grados R (2019) Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Rev Con-Ciencia* 7:55–72
56. Durrant, D J, McCammon AJ (2018) Molecular dynamics simulations in drug discovery. *Encycl Bioinforma Comput Biol ABC Bioinforma* 1–3:652–665.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.20154-4>

57. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Accessed 20 Jan 2022
58. Godbout N, Salahub DR, Andzelm J, Wimmer E (2011) Optimization of Gaussian-type basis sets for local spin density functional calculations. Part I. Boron through neon, optimization technique and validation. <https://doi.org/10.1139/v92-079> 70:560–571.
<https://doi.org/10.1139/V92-079>
59. Raghavachari K (2000) Perspective on “Density functional thermochemistry. III. The role of exact exchange.” *Theor Chem Accounts* 2000 1033 103:361–363.
<https://doi.org/10.1007/S002149900065>
60. Becke AD (1988) Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys Rev A* 38:3098. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.3098>
61. Zhao Y, Truhlar DG (2008) The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theor Chem Acc* 120:215–241.
<https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>
62. Wang Y, Jin X, Yu HS, et al (2017) Revised M06-L functional for improved accuracy on chemical reaction barrier heights, noncovalent interactions, and solid-state physics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:8487–8492. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1705670114/-/DCSUPPLEMENTAL>
63. Chai J Da, Head-Gordon M (2008) Long-range corrected hybrid density functionals with damped atom-atom dispersion corrections. *Phys Chem Chem Phys* 10:6615–6620.
<https://doi.org/10.1039/b810189b>
64. Krishnan R, Binkley JS, Seeger R, Pople JA (1980) Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *J Chem Phys* 72:650–654.
<https://doi.org/10.1063/1.438955>
65. Becke AD (1993) Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys* 98:5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
66. Frisch MJ, Pople JA, Binkley JS (1984) Self-consistent molecular orbital methods 25. Supplementary functions for Gaussian basis sets. *J Chem Phys* 80:3265–3269.

<https://doi.org/10.1063/1.447079>

67. Miertuš S, Scrocco E, Tomasi J (1981) Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of AB initio molecular potentials for the prediction of solvent effects. *Chem Phys* 55:117–129. [https://doi.org/10.1016/0301-0104\(81\)85090-2](https://doi.org/10.1016/0301-0104(81)85090-2)
68. Miertuš S, Tomasi J (1982) Approximate evaluations of the electrostatic free energy and internal energy changes in solution processes. *Chem Phys* 65:239–245. [https://doi.org/10.1016/0301-0104\(82\)85072-6](https://doi.org/10.1016/0301-0104(82)85072-6)
69. Gaussian 09 Citation | Gaussian.com. <https://gaussian.com/g09citation/>. Accessed 16 Dec 2021
70. Dennington, R.D., Keith, T.A. and Millam, J.M. (2008) GaussView 5.0.8, Gaussian. - References - Scientific Research Publishing. [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2130491](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=2130491). Accessed 16 Dec 2021
71. Thompson, M.A. (2004) Molecular Docking Using ArgusLab, an Efficient Shape-Based Search Algorithm and the a Score Scoring Function. ACS Meeting, Philadelphia. - References - Scientific Research Publishing. [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1994078](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1994078). Accessed 16 Dec 2021
72. Allouche A (2012) Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *J Comput Chem* 32:174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc>
73. Lu T, Chen F (2012) Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. *J Comput Chem* 33:580–592. <https://doi.org/10.1002/jcc.22885>
74. AutoDock. <https://autodock.scripps.edu/>. Accessed 29 Nov 2023
75. Hughes B, Murray B, North J, Lawson L (1989) Antiviral Constituents from *Allium sativum*. *Planta Med* 55:114–114. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961894>
76. Quintero-Fabián S, Ortuño-Sahagún D, Vázquez-Carrera M, López-Roa RI (2013) Alliin, a garlic (*Allium sativum*) compound, prevents LPS-induced inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *Mediators Inflamm* 2013:. <https://doi.org/10.1155/2013/381815>

77. Jones MG, Hughes J, Tregova A, et al (2004) Biosynthesis of the flavour precursors of onion and garlic. *J Exp Bot* 55:1903–1918. <https://doi.org/10.1093/jxb/erh138>
78. Jacob C, Anwar A (2008) The chemistry behind redox regulation with a focus on sulphur redox systems. *Physiol Plant* 133:469–480. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01080.x>
79. Weber ND, Andersen DO, North JA, et al (1992) In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Med* 58:417–423. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961504>
80. Helen A, Krishnakumar K, Vijayammal PL, Augusti KT (2003) A comparative study of antioxidants S-allyl cysteine sulfoxide and vitamin E on the damages induced by nicotine in rats. *Pharmacology* 67:113–117. <https://doi.org/10.1159/000067796>
81. Hanoush DA, Al-Auqaili AH, Mansour M, Ghosh A (2022) Molecular Docking, Molecular Dynamic Simulation and ADME of Some Plant Extracts and their Effects on COVID-19 Patients. *Trop J Nat Prod Res* 6:1233–1240. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v6i8.13>
82. Rajagopal K, Byran G, Jupudi S, Vadivelan R (2020) Activity of phytochemical constituents of black pepper, ginger, and garlic against coronavirus (COVID-19): An in silico approach. *Int J Heal Allied Sci* 9:43–50. https://doi.org/10.4103/IJHAS.IJHAS_55_20
83. Lopez-Orozco W, Mendoza-Huizar LH, Álvarez-Romero GA, Torres-Valencia J de JM (2023) Estudio computacional sobre la reactividad y acoplamiento de aliina y astragalina como potenciales inhibidores de la proteasa principal del SARS-CoV-2. *Pädi Boletín Científico Ciencias Básicas e Ing del ICBI* 10:126–130. <https://doi.org/10.29057/icbi.v10i20.9755>
84. Spera MBM, Quintão FA, Ferraresi DKD, et al (2011) Palladium(II) complex with S-allyl-l-cysteine: New solid-state NMR spectroscopic measurements, molecular modeling and antibacterial assays. *Spectrochim Acta - Part A Mol Biomol Spectrosc* 78:313–318. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2010.10.012>
85. Allouche A (2012) Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *J Comput Chem* 32:174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc>
86. Xiong G, Wu Z, Yi J, et al (2021) ADMETlab 2.0: An integrated online platform for

accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res* 49:W5–W14. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab255>

87. Lipinski CA (2004) Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol* 1:337–341. <https://doi.org/10.1016/J.DDTEC.2004.11.007>
88. Martínez A (2020) Cloroquine and hydroxychloroquine: The Yin-yang of these drugs from a theoretical study. *J Mex Chem Soc* 64:230–237. <https://doi.org/10.29356/jmcs.v64i3.1213>
89. Zhao Y, Truhlar DG (2006) A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *J Chem Phys* 125:. <https://doi.org/10.1063/1.2370993>
90. Koopmans T, Koopmans, T. (1934) Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den Einzelnen Elektronen Eines Atoms. *Phy* 1:104–113. [https://doi.org/10.1016/S0031-8914\(34\)90011-2](https://doi.org/10.1016/S0031-8914(34)90011-2)
91. Chattaraj PK (2009) Chemical reactivity theory : a density functional view. 576
92. Hirshfeld FL (1977) Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. *Theor Chim Acta* 44:129–138. <https://doi.org/10.1007/BF00549096>
93. Pandey P, Khan F, Kumar A, et al (2021) Screening of Potent Inhibitors Against 2019 Novel Coronavirus (Covid-19) from *Alliumsativum* and *Allium cepa*: An In Silico Approach. *Biointerface Res Appl Chem* 11:7981–7993. <https://doi.org/10.33263/BRIAC111.79817993>
94. Dai W, Zhang B, Jiang XM, et al (2020) Structure-based design of antiviral drug candidates targeting the SARS-CoV-2 main protease. *Science* (80-) 368:1331–1335. <https://doi.org/10.1126/science.abb4489>
95. Kaul R, Paul P, Kumar S, et al (2021) Promising antiviral activities of natural flavonoids against sars-cov-2 targets: Systematic review. *Int J Mol Sci* 22:. <https://doi.org/10.3390/ijms222011069>
96. Riaz A, Rasul A, Hussain G, et al (2018) Astragalín: A Bioactive Phytochemical with Potential Therapeutic Activities. *Adv Pharmacol Sci* 2018:. <https://doi.org/10.1155/2018/9794625>
97. Macías-Villamizar V, González-Ascanio R (2019) Plantas de Santa Marta con posible actividad biológica antimicrobiana. *Duazary* 16:414–439.

<https://doi.org/10.21676/2389783X.3161>

98. Zhang Y, Li W, Hu Y, et al (2022) Cotton flower metabolites inhibit SARS-CoV-2 main protease. *FEBS Open Bio* 12:1886–1895. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13477>
99. Li C, Hu M, Jiang S, et al (2020) Evaluation procoagulant activity and mechanism of astragalín. *Molecules* 25:. <https://doi.org/10.3390/molecules25010177>
100. Thi Thanh Hanh N, Jong-Hyun J, Min-Kyu K, et al (2020) The Inhibitory Effects of Plant Derivate Polyphenols on the Main Protease of SARS Coronavirus 2 and Their Structure–Activity Relationship. *Cell* 10:313–319
101. Murugesan S, Kottekad S, Crasta I, et al (2021) Targeting COVID-19 (SARS-CoV-2) main protease through active phytochemicals of ayurvedic medicinal plants – *Emblíca officínalis* (Amla), *Phyllanthus niruri* Linn. (Bhumi Amla) and *Tinospora cordifolia* (Giloy) – A molecular docking and simulation study. *Comput Biol Med* 136:104683. <https://doi.org/10.1016/j.compbimed.2021.104683>
102. Maciej Serda, Becker FG, Cleary M, et al (2013) Synteza i aktywność biologiczna nowych analogów tiosemikarbazonowych chelatorów żelaza. *Uniw śląski* 7:343–354. <https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>
103. Lin YS, Li G De, Mao SP, Chai J Da (2013) Long-range corrected hybrid density functionals with improved dispersion corrections. *J Chem Theory Comput* 9:263–272. <https://doi.org/10.1021/ct300715s>
104. Senthilkumar L, Umadevi P, Nithya KNS, Kolandaivel P (2013) Density functional theory investigation of cocaine water complexes. *J Mol Model* 19:3411–3425. <https://doi.org/10.1007/s00894-013-1866-0>
105. Olajide OA, Iwuanyanwu VU, Lepiarz-Raba I, et al (2021) *Garcinia kola* and garcínóic acid suppress SARS-CoV-2 spike glycoprotein S1-induced hyper-inflammation in human PBMCs through inhibition of NF-κB activation. *Phyther Res* 35:6963–6973. <https://doi.org/10.1002/ptr.7315>
106. Parga-Lozano CH (2021) “Combination of Two Promising Methodologies for Possible Treatment Against COVID-19.” *Biomed J Sci Tech Res* 35:28000–28004. <https://doi.org/10.26717/bjstr.2021.35.005761>
107. Pozos GIP, Ruiz-López MA, Nátera JFZ, et al (2020) Antioxidant capacity and

- antigenotoxic effect of *Hibiscus sabdariffa* L. extracts obtained with ultrasound-assisted extraction process. *Appl Sci* 10:. <https://doi.org/10.3390/app10020560>
108. Parga-Lozano C (2020) *Hibiscus Sabdariffa* como candidato terapéutico para COVID-19. *Duazary* 17:1–3. <https://doi.org/10.21676/2389783x.3597>
 109. Aini NS, Kharisma VD, Widyananda MH, et al (2022) In Silico Screening of Bioactive Compounds from *Garcinia mangostana* L. Against SARS-CoV-2 via Tetra Inhibitors. *Pharmacogn J* 14:575–579. <https://doi.org/10.5530/pj.2022.14.138>
 110. Izquierdo-Vega JA, Arteaga-Badillo DA, Sánchez-Gutiérrez M, et al (2020) Organic acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)-A brief review of its pharmacological effects. *Biomedicines* 8:1–16. <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES8050100>
 111. El-Shiekh RA, Abdelmohsen UR, Ashour HM, Ashour RM (2020) Novel antiviral and antibacterial activities of *hibiscus schizopetalus*. *Antibiotics* 9:1–16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110756>
 112. Chuah LO, Ho WY, Beh BK, Yeap SK (2013) Updates on antiobesity effect of *garcinia* Origin (-)-HCA. *Evidence-based Complement Altern Med* 2013:. <https://doi.org/10.1155/2013/751658>
 113. Kim S, Kim Y, Won Kim J, et al (2022) Antiviral Activity of Plant-derived Natural Products against Influenza Viruses. † *Authors Contrib Equal J Life Sci* 32:375–390. <https://doi.org/https://www.dbpia.co.kr/Journal/articleDetail?nodeId=NODE11066856>
 114. Takeda Y, Okuyama Y, Nakano H, et al (2020) Antiviral Activities of *Hibiscus sabdariffa* L. Tea Extract Against Human Influenza A Virus Rely Largely on Acidic pH but Partially on a Low-pH-Independent Mechanism. *Food Environ Virol* 12:9–19. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09408-x>
 115. Shawky E, Nada AA, Ibrahim RS (2020) Potential role of medicinal plants and their constituents in the mitigation of SARS-CoV-2: Identifying related therapeutic targets using network pharmacology and molecular docking analyses. *RSC Adv* 10:27961–27983. <https://doi.org/10.1039/d0ra05126h>
 116. Ramadhani NF, Nugraha AP, Rahmadhani D, et al (2022) Anthocyanin, tartaric acid, ascorbic acid of roselle flower (*Hibiscus sabdariffa* L.) for immunomodulatory adjuvant therapy in oral manifestation coronavirus disease-19: An immunoinformatic approach. *J*

- Pharm Pharmacogn Res 10:418–428. https://doi.org/10.56499/jppres21.1316_10.3.418
117. SwissDock - The online docking web server of the Swiss Institute of Bioinformatics - Home. <http://www.swissdock.ch/>. Accessed 16 Dec 2021
 118. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, et al (2004) UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* 25:1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
 119. BIOVIA Discovery Studio - BIOVIA - Dassault Systèmes®. <https://www.3ds.com/products-services/biovia/products/molecular-modeling-simulation/biovia-discovery-studio/>. Accessed 16 Dec 2021
 120. Vermaas J V., Hardy DJ, Stone JE, et al (2016) TopoGromacs: Automated Topology Conversion from CHARMM to GROMACS within VMD. *J Chem Inf Model* 56:1112–1116. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00103>
 121. Portillo-Torres LA, Bernardino-Nicanor A, Gómez-Aldapa CA, et al (2019) Hibiscus Acid and Chromatographic Fractions from Hibiscus Sabdariffa Calyces: Antimicrobial Activity against Multidrug-Resistant Pathogenic Bacteria. *Antibiot* 2019, Vol 8, Page 218 8:218. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS8040218>
 122. Merrick JP, Moran D, Radom L (2007) An evaluation of harmonic vibrational frequency scale factors. *J Phys Chem A* 111:11683–11700. https://doi.org/10.1021/JP073974N/SUPPL_FILE/JP073974NSI20070815_100041.PDF
 123. Jena BS, Jayaprakasha GK, Singh RP, Sakariah KK (2001) Chemistry and Biochemistry of (–)-Hydroxycitric Acid from Garcinia. *J Agric Food Chem* 50:10–22. <https://doi.org/10.1021/JF010753K>
 124. Gázquez JL (1997) The hard and soft acids and bases principle. *J Phys Chem A* 101:4591–4593. https://doi.org/https://www.mendeley.com/catalogue/b667c191-b936-3b9f-9078-2239c7b5b784/?utm_source=desktop&utm_medium=1.19.8&utm_campaign=open_catalog&userDocumentId=%7B2b320504-06b0-4bcf-9135-9af9038fc8e9%7D
 125. Casanovas JM, Springer TA (1995) Kinetics and thermodynamics of virus binding to receptor. Studies with rhinovirus, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), and surface plasmon resonance. *J Biol Chem* 270:13216–13224. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.22.13216>

126. Goudarzvand M, Afraei S, Yaslianifard S, et al (2016) Hydroxycitric acid ameliorates inflammation and oxidative stress in mouse models of multiple sclerosis. *Neural Regen Res* 11:1610–1616. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.193240>
127. Yamada T, Hida H, Yamada Y (2007) Chemistry , physiological properties , and microbial production of hydroxycitric acid HO R OH. 977–982. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-0962-4>
128. Zheoat AM, Gray AI, Igoli JO, et al (2019) Hibiscus acid from *Hibiscus sabdariffa* (Malvaceae) has a vasorelaxant effect on the rat aorta. *Fitoterapia* 134:5–13. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.01.012>
129. Tiana Milanda, Asti Destilia Safrudin, Galih Samudra, Sri Adi Sumiwi MM Milanda2019-ga-toxicity.pdf
130. Mahdi Goudarzvand, Sanaz Afraei, M.Sc., Somaye Yaslianifard, Saleh Ghiasy, Ghazal Sadri, Mustafa Kalvandi, Tina Alinia, Ali Mohebbi, Reza Yazdani, Shahin Khadem Azarian, Abbas Mirshafiey GA Goudarzvand2016-HCA-antiinflammatory.pdf
131. Ngom BD, Ndiaye NM, Sylla NF, et al (2020) Sustainable development of vanadium pentoxide carbon composites derived from: *Hibiscus sabdariffa* family for application in supercapacitors. *Sustain Energy Fuels* 4:4814–4830. <https://doi.org/10.1039/d0se00779j>

Perspectivas

La realización del presente trabajo permitió tener una nueva visión sobre los componentes bioactivos capaces de realizar la inhibición enzimática de la proteasa principal del virus SARS-CoV-2. A partir de los nuevos conocimientos adquiridos mediante la investigación literaria y experimental surgen diversas ideas sobre posibles estudios para desarrollar:

- Realizar cálculos ONIOM para el análisis de las interacciones entre el ligante y el receptor en un nivel de teoría más elevado.
- Realizar estudios de dinámica molecular empleando mecánica cuántica.
- Explorar diversos sistemas receptores que intervienen en las diferentes etapas del ciclo de vida del virus SARS-CoV-2 con la finalidad estudiar su inhibición enzimática.
- Estudiar nuevos ingredientes activos presentes en plantas medicinales dado que existe una amplia variedad que no se consideró en el presente trabajo.
- Realizar el diseño de nuevos análogos y comparar la variación de las propiedades y reactividad con diferentes grupos funcionales mediante similaridad cuántica.

Anexos

Tabla A-1 Lista de los metabolitos sometidos al cribado virtual.

	Metabolito	Código SMILES
1	24-metileno-cicloartenol	<chem>CC(C)C(=C)CCC(C)C1CCC2(C1(CCC34C2CCC5C3(C4)CCC(C5(C)C)O)C)C</chem>
2	2-nonanona	<chem>CCCCCCCC(=O)C</chem>
3	2-undecanona	<chem>CCCCCCCCC(=O)C</chem>
4	3-careno	<chem>CC1=CCC2C(C1)C2(C)C</chem>
5	6-shogaol	<chem>CCCCCC=CC(=O)CCC1=CC(=C(C=C1)O)OC</chem>
6	Ácido (2S,3R)-hidroxítrico	<chem>C(C(=O)O)[C@]([C@@H](C(=O)O)O)(C(=O)O)O</chem>
7	Ácido (2S,3S)-hidroxítrico	<chem>C(C(=O)O)C(C(C(=O)O)O)(C(=O)O)O</chem>
8	Ácido ascórbico	<chem>C(C(C1C(=C(C(=O)O1)O)O)O)O</chem>
9	Ácido caféico	<chem>C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O</chem>
10	Ácido clorogénico	<chem>C1C(C(C(C1(C(=O)O)O)OC(=O)C=CC2=CC(=C(C=C2)O)O)O)O</chem>
11	Ácido elágico	<chem>C1=C2C3=C(C(=C1O)O)OC(=O)C4=CC(=C(C(=C43)OC2=O)O)O</chem>
12	Ácido elaídico (18:1)	<chem>CCCCCCCCC=CCCCCCCC(=O)O</chem>
13	Ácido esteárico (18:0)	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O</chem>
14	Ácido gálico	<chem>C1=C(C=C(C(=C1O)O)O)C(=O)O</chem>
15	Ácido garcinia	<chem>C1C(=O)O[C@@H]([C@@]1(C(=O)O)O)C(=O)O</chem>
16	Ácido gentísico	<chem>C1=CC(=C(C=C1O)C(=O)O)O</chem>
17	Ácido hibiscus	<chem>C1C(=O)OC(C1(C(=O)O)O)C(=O)O</chem>
18	Ácido kaurenoico	<chem>CC12CCCC(C1CCC34C2CCC(C3)C(=C)C4)(C)C(=O)O</chem>
19	Ácido linoléico	<chem>CCCCCC=CCC=CCCCCCCC(=O)O</chem>
20	Ácido oleanólico	<chem>CC1(CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CCC5C4(CCC(C5(C)C)O)C)C)C2C1)C)C(=O)O)C</chem>
21	Ácido oleico	<chem>CCCCCCCCC=CCCCCCCC(=O)O</chem>

22	Ácido palmítico (16:0)	CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)O
23	Ácido palmitoleico (16:1)	CCCCCCC=CCCCCCCC(=O)O
24	Ácido valérico	CCCCC(=O)O
25	Ácido α-linoléico	CCCCCC=CCC=CCCCCCCC(=O)O
26	Adenosina	C1=NC(=C2C(=N1)N(C=N2)C3C(C(C(O3)CO)O)O)N
27	Alcanfor	CC1(C2CCC1(C(=O)C2)C)C
28	Alcohol behénico	C1=CC=C(C=C1)CO
29	Alicina	C=CCSS(=O)CC=C
30	Aliina	C=CCS(=O)CC(C(=O)O)N
31	Astragalina	C1=CC(=CC=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O
32	Atropina	CN1C2CCC1CC(C2)OC(=O)C(CO)C3=CC=CC=C3
33	Baurenol	CC1CCC2(CCC3(C4=CCC5C(C(CCC5(C4CCC3(C2C1C)C)C)O)(C)C)C)C
34	Bergapten	COC1=C2C=CC(=O)OC2=CC3=C1C=CO3
35	Betanidina	CNC(=NC)NCC1=CC=CC=C1
36	Borneol	CC1(C2CCC1(C(C2)O)C)C
37	Buteína	C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)C2=C(C=C(C=C2)O)O)O)O
38	Capsaicina	CC(C)C=CCCCC(=O)NCC1=CC(=C(C=C1)O)OC
39	Carvacrol	CC1=C(C=C(C=C1)C(C)C)O
40	Carvona	CC1=CCC(CC1=O)C(=C)C
41	Catequina	C1C(C(OC2=CC(=CC(=C21)O)O)C3=CC(=C(C=C3)O)O)O
42	Cicloartenol	CC(CCC=C(C)C)C1CCC2(C1(CCC34C2CCC5C3(C4)CCC(C5(C)C)O)C)C
43	Cumarina	C1=CC=C2C(=C1)C=CC(=O)O2
44	D-glucosa	C(C1C(C(C(C(O1)O)O)O)O)O
45	D-manosa	C(C1C(C(C(C(O1)O)O)O)O)O
46	D-xilosa	C1C(C(C(C(O1)O)O)O)O
47	Ergost-5-en-3-ol	CC(C)C(C)CCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C
48	Escopolamina	CN1C2CC(CC1C3C2O3)OC(=O)C(CO)C4=CC=CC=C4
49	Escopoletina	COC1=C(C=C2C(=C1)C=CC(=O)O2)O
50	Estafiatina	CC12C(O1)CC3C2C4C(CCC3=C)C(=C)C(=O)O4
51	Eucaliptol	CC1(C2CCC(O1)(CC2)C)C
52	Eugenol	COC1=C(C=CC(=C1)CC=C)O
53	Faradiol	CC1C2C3CCC4C5(CCC(C(C5CCC4(C3(CC(C2(CC=C1C)C)O)C)C)(C)C)O)C
54	Filoquinona	CC1=C(C(=O)C2=CC=CC=C2C1=O)CC=C(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C
55	Fucosterol	CC=C(CCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C)C(C)C

56	Germacreno A	CC1=CCCC(=CCC(CC1)C(=C)C)C
57	Germacreno B	CC1=CCCC(=CCC(=C(C)C)CC1)C
58	Germacreno D	CC1=CCCC(=C)C=CC(CC1)C(C)C
59	Gingerol	CCCCC(CC(=O)CCC1=CC(=C(C=C1)O)OC)O
60	Hiosciamina	CN1C2CCC1CC(C2)OC(=O)C(CO)C3=CC=CC=C3
61	Isoquercetina	C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)OC4C(C(C(C(O4)CO)O)O)O)O)O
62	Isoliquiritigenina	C1=CC(=CC=C1C=CC(=O)C2=C(C=C(C=C2)O)O)O
63	Isorametín	COC1=C(C=CC(=C1)C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
64	L-fucosa	CC1C(C(C(C(O1)O)O)O)O
65	Limoneno	CC1=CCC(CC1)C(=C)C
66	Linalool	CC(=CCCC(C)(C=C)O)C
67	Lupeol	CC(=C)C1CCC2(C1C3CCC4C5(CCC(C(C5CCC4(C3(CC2)C)C)(C)C)O)C)C
68	Luteolina	C1=CC(=C(C=C1C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O
69	Marmesina	CC(C)(C1CC2=C(O1)C=C3C(=C2)C=CC(=O)O3)O
70	Mentol	CC1CCC(C(C1)O)C(C)C
71	Mentona	CC1CCC(C(=O)C1)C(C)C
72	Mirceno	CC(=CCCC(=C)C=C)C
73	Neral	CC(=CCCC(=CC=O)C)C
74	Niacina	C1=CC(=CN=C1)C(=O)N
75	Psolareno	C1=CC(=O)OC2=CC3=C(C=CO3)C=C21
76	Pulegona	CC1CCC(=C(C)C)C(=O)C1
77	Quercetina	C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O
78	Retinol	CC1=C(C(CCC1)(C)C)C=CC(=CC=CC(=CCO)C)C
79	Rutósido	CC1C(C(C(C(O1)O)CC2C(C(C(C(O2)OC3=C(OC4=CC(=CC(=C4C3=O)O)O)O)O)O)O)O)O
80	Sabineno	CC(C)C12CCC(=C)C1C2
81	Sucrosa	C(C1C(C(C(C(O1)OC2(C(C(C(O2)CO)O)O)CO)O)O)O)O
82	Taraxasterol	CC1C2C3CCC4C5(CCC(C(C5CCC4(C3(CCC2(CCC1=C)C)C)(C)C)O)C
83	Timol	CC1=CC(=C(C=C1)C(C)C)O
84	Trehalosa	C(C1C(C(C(C(O1)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O)O)O)O)O
85	Umbeliferona	C1=CC(=CC2=C1C=CC(=O)O2)O
86	Zingerona	CC(=O)CCC1=CC(=C(C=C1)O)OC
87	Zoapatlina	CC(CCCC1(C(CCC(=CCO)CO1)O)C)C(=O)CC=C(C)C
88	α -cubebeno	CC1CCC(C2C13C2C(=CC3)C)C(C)C
89	α -eudesmol	CC1=CCCC2(C1CC(CC2)C(C)(C)O)C
90	α -pineno	CC1=CCC2CC1C2(C)C

91	α -tocoferol	<chem>CC1=C(C2=C(CCC(O2)(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)C(=C1O)C)C</chem>
92	α -tujona	<chem>CC1C2CC2(CC1=O)C(C)C</chem>
93	β -caroteno	<chem>CC1=C(C(CCC1)(C)C)C=CC(=CC=CC(=CC=CC=C(C)C)C=CC=C(C)C=CC2=C(CC CC2(C)C)C)C</chem>
94	β -farneseno	<chem>CC(=CCCC(=CCCC(=C)C=C)C)C</chem>
95	β -ocimeno	<chem>CC(=CCC=C(C)C=C)C</chem>
96	β -pineno	<chem>CC1(C2CCC(=C)C1C2)C</chem>
97	β -sitosterol	<chem>CCC(CCC(C)C1CCC2C1(CCC3C2CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C)C(C)C</chem>
98	β -tocoferol	<chem>CC1=CC(=C(C2=C1OC(CC2)(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)C)O</chem>
99	δ -tocoferol	<chem>CC1=CC(=CC2=C1OC(CC2)(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)O</chem>
100	γ -tocoferol	<chem>CC1=C(C=C2CCC(OC2=C1C)(C)CCCC(C)CCCC(C)CCCC(C)C)O</chem>
101	(Z,E)- α -farneseno	<chem>CC(=CCCC(=CCC=C(C)C=C)C)C</chem>

Tabla A-2 Comparación de parámetros calculados para todas las moléculas en el modelado molecular.

Molécula	Violaciones a la regla de cinco de Lipinski	Tipo de metabolismo	Descriptor de reactividad global (ω^+ / eV)	ΔG kcal mol ⁻¹	Residuos de interacción	Permanencia del ligante en el sitio activo Categórico (Sí/No)
Aliina	0	Sustrato para los subtipos A2, 2C19 y 2CD6 del citocromo P45	0.08 (B3LYP / DGDZVP)	-7.12	Van der Waals: CYS145, HSD164, ASN142, MET165, HSD163, GLU166, HSD41 Tipo alquilo: MET49 Puentes de hidrógeno: PHE140	Sí
Astragalina	1	Sustrato para los subtipo 2C9	0.72 (B3LYP / DGDZVP)	-8.2	π -amida, metal-acceptor: ASN142	Sí
Ácido hibiscus	0	Sustrato del subtipo C9 del citocromo P450	2.77 (B3LYP / 6-311G (d,p))	-6.76	Van der Waals: ASN142, HSD163, MET165 y GLU166	Sí
Ácido garcinia	0	Sustrato del subtipo C9 del citocromo P450	2.67 (B3LYP / 6-311G (d,p))	-6.93	Puentes de hidrógeno: PHE140 [O-H.N] y CYS145 [O-H.N.]	No
Ácido (2S,3S)-hidroxicítrico	1	Sustrato del subtipo C9 del citocromo P450	3.54 (B3LYP / 6-311G (d,p))	-6.74	Van der: ASN142, HSD41, MET165, HSD163, GLU166, PHE140 y HIS164-CYS145	Sí
Ácido (2S,3R)-hidroxicítrico	1	Sustrato del subtipo C9 del citocromo P450	2.43 (B3LYP / 6-311G++(d,p))	NA	NA	NA

Trabajos derivados del presente trabajo publicados:

- *Marzo 2022*

Artículo de divulgación “Diseño computacional de fármacos contra el SARS-CoV-2”, publicado en el micrositio de Divulgación de la Ciencia, alojado en la página web de la UAEH, Luciérnaga.

- *Enero 2023*

Publicación en el boletín científico del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. No.20 (2023)126-130. “Estudio computacional sobre la reactividad y acoplamiento de aliina y astragalina como potenciales inhibidores de la proteasa principal del SARS-CoV-2”

- *Octubre 2023*

Publicación W. López-Orozco, L. H. Mendoza-Huizar, G. A. Álvarez-Romero, J. J. M. Torres-Valencia, y M. Sanchez-Zavala, J. Serb. Chem. Soc. (2023) <https://doi.org/10.2298/JSC230817078L>

- *Octubre 2023*

Participación en el VII Seminario Regional de Materiales Avanzados. Presentando el trabajo: “Análisis DFT de la reactividad química del ácido gálico y su acoplamiento molecular con la proteasa Mpro del SARS-CoV-2”.

- *Octubre 2023*

Participación en el VII Seminario Regional de Materiales Avanzados. Presentando el trabajo: “Análisis DFT de la reactividad química del astragalina y su acoplamiento molecular con la proteasa Mpro del SARS-CoV-2”.