

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUIMICAS



**“ACOPLAMIENTO MOLECULAR ENTRE EL 1,8-CINEOL Y
LA PROTEASA VIRAL MPRO/3CLPRO del SARS-CoV-2 POR
MEDIOS COMPUTACIONALES”**

TRABAJO PARA OPTAR AL GRADO DE MAGISTER EN CIENCIAS QUÍMICAS

POSTULANTE: JORGE ANTONIO NOGALES VERA

TUTOR: RIGOBERTO CHOQUE ASPIAZU Ph.D

TRIBUNAL: Rómulo Gemio Siñani Ph.D

Mauricio Peñarrieta Loria Ph.D

LA PAZ - BOLIVIA

2024

Calificaciones

Universidad Mayor De San Andrés

Facultad de Ciencias Puras y Naturales

Carrera de Química Maestría en Ciencias Químicas

Título:

“ACOPLAMIENTO MOLECULAR ENTRE EL 1,8-CINEOL Y LA PROTEASA VIRAL MPRO/3CLPRO del SARS-CoV-2 POR MEDIOS COMPUTACIONALES”

Postulante:

Jorge Antonio Nogales Vera

Tutor:

Rigoberto Choque Aspiazu PhD

Tribunal:

Rómulo Gemio Ph.D

Mauricio Peñarrieta Ph.D

La Paz - Bolivia

Abril, 2024

Dedicatoria

Dedicado a la Carrera de Ciencias Químicas

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a la carrera, a los docentes de la maestría, a mi tutor el Dr, Rigoberto Choque Aspiazú., A mi esposa e hijos, mi familia.

A la universidad...

Tabla de Contenido

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Pandemia Covid 19 y Eucaliptol	2
1.2. Alcance de la investigación	3
1.3. Estudios previos con Eucaliptol	3
1.4. Hipótesis	4
CAPÍTULO 2: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	5
2.1. Problema de Investigación	6
CAPÍTULO 3: OBJETIVOS	8
3.1. Objetivo General	9
3.2. Objetivos Específicos	9
CAPÍTULO 4: ANTECEDENTES	10
4.1. Estructura del virus	11
4.2. Estructura genómica del SARS-CoV-2	11
4.3. Proteínas del SARS-Cov-2	12
4.4. Bioinformática	19
4.5. Acoplamiento molecular	19
4.5.1. Acoplamiento molecular	19
4.5.2. Acoplamiento molecular rígido	19
4.5.3. Acoplamiento molecular semiflexible	20
4.5.4. Afinidad de enlace	20
4.5.5. Interacciones intermoleculares no covalentes	20

4.5.5.1.	Puentes de hidrogeno	21
4.5.5.2.	Puentes de hidrogeno-Carbono	22
4.5.5.3.	Puentes de hidrogeno-Pi donator	22
4.5.5.4.	Fuerzas electrostáticas	22
4.5.5.5.	Interacciones hidrofóbicas	23
CAPÍTULO 5: MARCO TEORICO		24
5.1.	Marco Teórico	25
CAPÍTULO 6: METODOLOGÍA		27
6.1.	Primera etapa: el ligando	28
6.2.	Segunda etapa: el blanco	29
6.3.	Tercera etapa: el Acoplamiento molecular	30
6.3.1.	Acoplamiento o docking molecular con PyRx– Virtual Screening Tool	31
6.3.2.	Acoplamiento o docking molecular con el símbolo del sistema o command prompt	33
6.3.3.	Acoplamiento o docking molecular en línea	33
CAPÍTULO 7: RESULTADOS Y DISCUSION		35
7.1.	Análisis y discusión de resultados	36
7.1.1.	Resultados del modelado molecular del ligando 1,8-Cineol o Eucaliptol	36
CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES		80
8.1.	Conclusiones	81
CAPÍTULO 9: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		83
CAPÍTULO 10: ANEXOS		96

Índice de Ilustraciones

Figura A Secuencias genómicas de SARS-CoV-2, MERS-CoV y SARS-CoV.(A)	12
Figura 1 Estructura Optimizada del Eucaliptol por el método DFT B3LYP 6-31G* al vacío	36
Figura 2 Estructura Optimizada del Eucaliptol por el método DFT B3LYP 6-31G* en medio etanolico	37
Figura 3 Numeración en la estructura Optimizada del Eucaliptol	37
Figura 4 Mapa del potencial del Eucaliptol, estructura Optimizada por el método DFT B3LYP 6-31G*	45
Figura 5 Orbitales HOMO LUMO del eucaliptol DFT al vacío	46
Figura 6 Mapa del potencial electrostático del Eucaliptol, estructura Optimizada por el método DFT B3LYP 6-31G*	48
Figura 7 Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2	54
Figura 8 Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2.....	55
Figura 9 Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con Covid 19 server	56
Figura 10 Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con CBDock.....	56
Figura 11 Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2	57
Figura 12 Comparación CBDok y 6 servidores de Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2.....	57
Figura 13 Comparación Covid 19 server y 6 servidores de Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2.....	58
Figura 14 Comparación del acoplamiento Covid 19 server y CBDock.....	58
Figura 15 Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2...59	
Figura 16 Acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con CB dock y Covid 19 server	59
Figura 17 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 software PyRx	67

Figura 18	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021-Click docking.....	68
Figura 19	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 CMD.....	69
Figura 20	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 Webina	70
Figura 21	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 AMDock.....	71
Figura 22	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 Docking Server ...	72
Figura 23	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 CBDock.....	73
Figura 24	Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 Covid 19 Server ..	74
Figura 25	Interacciones por puente de Hidrogeno e hidrofóbicas detectadas con PLIP con PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server y Webina	76
Figura 26	Interacciones hidrofóbicas detectadas con PLIP con CBDock y Covid 19 server	77

Índice de Tablas

Tabla A Longitudes de enlace (Å) en el Eucaliptol	38
Tabla B Ángulos en grados (°) entre tres átomos en el Eucaliptol	40
Tabla C Ángulos Dihedros en grados (°) entre cuatro átomos en el Eucaliptol	42
Tabla 1 Propiedades moleculares predichas para el Eucaliptol utilizando el método DFT B3LYP, 6-31G	43
Tabla 2 Descriptores de reactividad calculados para el Eucaliptol	44
Tabla 3 Valores calculados para los orbitales frontera y su band gap para el Eucaliptol	47
Tabla 4 Funciones Fukui para el Eucaliptol DFT 6.31G* al vacío	49
Tabla 5 Funciones Fukui para el Eucaliptol DFT 6.31G* medio etanol.....	50
Tabla 6 Descriptores ADME para el Eucaliptol.....	51
Tabla 7 Energía de unión, RMSD, constante de disociación del docking, eficiencia de enlace (L.E) entre el eucaliptol y la main proteasa principal del SARS Cov-2	60
Tabla 8 Interacciones Hidrofóbicas	63
Tabla 9 Interacciones por puentes de hidrogeno	64
Tabla 10 Momentos dipolares hidrofóbicos en aminoácidos	65
Tabla 11 Escala de hidrofobicidad para aminoácidos	66

Resumen

El objetivo principal del presente trabajo fue realizar el estudio químico estructural del eucaliptol y el establecimiento del acoplamiento molecular con la proteasa viral del SARS-CoV-2. Desde los inicios de la pandemia del coronavirus fueron planteados muchos tratamientos para combatir o atenuar los síntomas de la enfermedad. A nivel local, en abril de 2020 se planteó como alternativa el uso del eucalipto para este propósito. No se reportaron estudios sobre las propiedades estructurales del eucaliptol, tampoco trabajos referidos a la reactividad de esta molécula, como las funciones Fukui. El presente trabajo se basa en los estudios de Sharma y Kaur (2020) quienes estudiaron el potencial inhibidor de la replicación del SARS-CoV2 del eucaliptol, a una de las principales proteasas implicadas en la reproducción del virus. Para este propósito en una etapa inicial se calcularon algunas propiedades moleculares de manera computacional, las propiedades moleculares, y descriptores de reactividad del eucaliptol fueron calculadas con el fin de entender el comportamiento reactivo mediante la Teoría Funcional de la Densidad (DFT) y los métodos Hartree Fock, simulado en condiciones de vacío y en medio etanólico, los valores encontrados fueron comparados con los datos de referencia del Banco de Datos Europeo. Para el acoplamiento molecular, la estructura de la proteasa viral del SARS-CoV-2 se tomó del banco de datos de proteínas PDB (Protein Data Bank, es un centro de datos de EE. UU. para el archivo global de datos estructurales en 3dimensiones para macromoléculas biológicas esenciales para la investigación y la educación en biología fundamental, salud y energía. y biotecnología) designada como 6LU7, esta se preparó para el acoplamiento eliminando las moléculas de agua, cofactores y algunas moléculas con las que viene resuelta su estructura cristalina. Se utilizaron el software PyRx – Virtual Screening Tool que utiliza a Autodock vina y a sus herramientas, el command prompt y seis 6 servidores en línea; 1-click docking, Covid 19 docking server, CB dock, , Docking server, Webina, Amdock. Para el acoplamiento se tomaron los parámetros: libre rotación de todos los enlaces del ligando con libertad conformacional, adición de cargas de Gasteiger a la proteína y al ligando, adición de hidrógenos a la proteína, generación de 100 poses para el ligando y empleo del Algoritmo Genético Lamarckiano (LGA). Este último se utilizó bajo las siguientes condiciones:

100 corridas del GA, 150 tamaño de población, 250000 máximo número de evaluaciones de energía.

En cuanto a las longitudes de enlace intramolecular para el eucaliptol se encontró que no hay diferencia estadística significativa entre las longitudes de enlace en cuatro tratamientos cuánticos. En los orbitales frontera, un band gap de 8,1 eV entre los orbitales HOMO LUMO muestra que la molécula es muy estable, los orbitales HOMO-1 y LUMO+1 de 9,8 eV indica que se necesitaría mucha energía para que ocurra una transición electrónica.

En el docking molecular, se obtuvieron las conformaciones del eucaliptol en el sitio activo de la proteasa del SARS Cov-2, seis de las conformaciones obtenidas con seis servidores y/o software presentan un RMSD (Desviación cuadrática media de las posiciones atómicas del inglés root-mean-square deviation; es la medida de la distancia promedio entre los átomos) de cero que corresponden a la energía de unión o energía de acoplamiento más probable, con valores de -4,5 Kcal/mol esta energía corresponde a la energía libre de Gibbs, por tanto, mientras más bajo sea el valor, más alta será la afinidad entre el ligando y el receptor. Se podría aseverar que esta conformación obtenida del eucaliptol es la más probable, pero hasta la fecha actual 04 de septiembre 2023 en el banco de datos de proteínas (PDB) no está reportado o archivado la molécula de eucaliptol acoplada con la main proteasa del SARS Cov2. Razón por la cual, no se pudo realizar una comparación con un modelo experimental. El entorno aminoacídico que rodea al eucaliptol constituyen los monómeros: Phe 140, Leu 141, Ser 144, Cys 145, His 163, His 164, Met 165, Glu 166, His 172 que se repiten en cada uno de los software y servicios en línea utilizados. Existe una predominancia de fuerzas de interacción hidrofóbica intermolecular en el acoplamiento, ya que también existen características hidrofóbicas en el sitio activo, debido a que la mayoría de los aminoácidos encontrados en este sitio activo son de carácter hidrofóbico.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN



1.1. Pandemia Covid 19 y Eucaliptol

Desde inicios de la pandemia Covid 19, se han planteado diversos esquemas de tratamientos para combatir o atenuar los síntomas de esta enfermedad. A nivel local, en abril de 2020 se planteó la posibilidad de emplear el Eucalipto para este propósito. Si bien la OMS no avala el uso de este tipo de esquemas de tratamiento, el uso de plantas medicinales, el empleo extendido del Eucalipto para el tratamiento de los síntomas se extendió ampliamente, sobre todo en Latinoamérica.

Hasta ese momento no se tenían publicaciones que muestren este tipo de tratamientos, recientes publicaciones como la de Ramírez [1] describen como la herbolaria puede ser empleada para contrarrestar los síntomas del coronavirus. En nuestro país ocurrió lo propio con los esquemas de tratamiento contra el Covid19 [2].

Con respecto a los estudios del Eucalipto a nivel mundial, se tiene conocimiento que, desde su lugar de origen, Australia hasta su exportación a Etiopía y a las Américas en 1895, los estudios sobre las sustancias extraídas, se resumen a procesos de extracción de los aceites esenciales [3]. Sin embargo, este aceite esencial denominado Eucaliptol, no cuenta con estudios específicos que expliquen la manera en la cual actúa.

Todos los estudios están referidos a la extracción, en 2019 trabajos como el de Amaya [4] que realiza una evaluación de la extracción. El trabajo de Montero [5] que estudio la eficacia antimicrobiana del Eucaliptol.

Los trabajos realizados en 2019 por Boom [6] se enfocan en la evaluación de la actividad antioxidante. También se tiene ensayos sobre la actividad antifúngica realizados por Amaya [4] y los estudios sobre la actividad insecticida realizados por Quispe [7]. Sin embargo, en ningún estudio explica los mecanismos a nivel molecular.

El SARS-CoV-2 virus causante de la enfermedad produce una enzima, una proteasa Mpro, también llamada 3CLpro, proteasa principal responsable de la replicación viral. Es hasta el 31 de marzo del

año 2020 fecha en la cual se publica un preprint sobre la posible manera en que actúa el Eucaliptol con la proteasa principal del coronavirus.

El interés principal es el de confirmar o no, si es el caso, el acoplamiento del Eucaliptol, químicamente denominado 1,8 Cineol, con la proteasa viral del coronavirus, para este propósito se determinará en una primera etapa las propiedades químicas del Eucaliptol y su reactividad, ya en la segunda etapa se realizará el acoplamiento molecular entre el Eucaliptol y la proteasa viral del coronavirus.

1.2. Alcance de la investigación

El alcance del trabajo es de carácter exploratorio y descriptivo, exploratorio ya que se quiere ampliar el conocimiento sobre un tópico poco conocido o estudiado como es la interacción entre el Eucaliptol y la proteasa principal del coronavirus.

Y descriptiva ya que se pretende desarrollar una imagen o representación del acoplamiento entre el Eucaliptol y la proteasa viral del coronavirus.

1.3. Estudios previos con Eucaliptol

Los estudios sobre el Eucaliptol, se reducen a procesos de extracción, no se reportaron estudios sobre las propiedades estructurales del Eucaliptol, tampoco trabajos sobre la reactividad de esta molécula, como las funciones Fukui.

El año 2020 Sharma y Kaur [8] estudiaron el potencial inhibidor de la replicación del SARS-CoV2 por parte del 1,8-cineol o Eucaliptol, estos autores se enfocan en el posible acoplamiento del Eucaliptol a la proteasa principal del coronavirus.[8]

Planteamientos como este, se basan en el hecho de que anteriormente ya se han desarrollado fármacos antivirales usando proteasas como proteínas diana, pues en muchos casos estas proteasas virales juegan un papel esencial en su reproducción.

1.4. Hipótesis

H₀ No hay diferencia estadística significativa entre los parámetros geométricos estructurales (ángulos de enlace, longitudes de enlace) en el Eucaliptol determinados por los métodos mecano cuánticos.

H₀ El entorno y la energía de acoplamiento entre el Eucaliptol y la proteasa M_{pro}/3CL_{pro} del SARS-CoV2 estudiado es el mismo respecto al trabajo de referencia.



CAPÍTULO 2: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN



2.1. Problema de Investigación

Desde los inicios de la pandemia se han planteado el uso de muchos tratamientos para combatir o atenuar los síntomas de la enfermedad causada por el coronavirus. En nuestro medio en abril de 2020 se planteó la posibilidad del uso del eucalipto para este propósito.

El 31 de marzo del 2020 se publicó un preprint [8] hasta entonces no revisado por pares, donde se trata de explicar la manera en que el aceite esencial del Eucalipto denominado Eucaliptol se acopla a la proteasa principal del coronavirus.

Este constituyó un punto de partida para el desarrollo del presente trabajo, donde se pretende plantear la forma en que el Eucaliptol se acopla a la proteasa principal del coronavirus, que es la proteasa principal del SARS-CoV2 y que juega un papel central en la reproducción del virus.

Como se mencionó, en los coronavirus la proteasa Mpro está implicada en la maduración proteolítica del virus y se ha examinado como posible diana o blanco, mediante la inhibición de la escisión de la poliproteína viral, y así prevenir la propagación del virus.

Los resultados que obtuvieron Sharma y Kaur [8] muestran una afinidad entre el Eucaliptol y la estructura proteica de la proteasa Mpro, así el Eucaliptol o 1,8-Cineol podría ser una molécula inhibidora de la propagación del COVID 19.

El presente trabajo tiene la finalidad de encontrar la forma en la cual el Eucaliptol se acopla a la proteasa viral Mpro/3CLpro del SARS-CoV-2. El Acoplamiento entre el Eucaliptol y la proteasa viral se realizará una vez que la estructura del Eucaliptol este modelizada y la estructura de la proteasa esté preparada para el acoplamiento, una vez realizada esta interacción, encontraremos el arreglo molecular de esta interacción.

¿Por qué seleccionamos estas moléculas? La razón es que la proteasa principal (Mpro, también llamada 3CLpro) es esencial para procesar a la poliproteína que se traducen en ARN viral del

SARS-CoV-2 Es de suma importancia en estos tiempos generar conocimiento a nivel molecular y así disponer de herramientas a genetistas, biólogos moleculares y bioquímicos sobre estos detalles moleculares. En síntesis, inhibir la actividad de esta enzima bloquearía su replicación viral, por tanto, la enfermedad motivo de la actual pandemia.



CAPÍTULO 3: OBJETIVOS



3.1. Objetivo General

Establecer el acoplamiento molecular entre la proteasa viral Mpro/3CLpro del SARS-CoV-2 y el ligando 1,8-cineol o Eucaliptol.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar las propiedades moleculares del 1,8-cineol.
- Determinar los parámetros de reactividad del 1,8-cineol.
- Localizar el sitio activo donde se producirá el acoplamiento molecular entre el blanco o diana: la proteasa y el ligando 1,8-cineol o Eucaliptol.
- Hallar la estructura más estable en el acoplamiento o docking molecular en términos energéticos.
- Determinar los residuos de aminoácidos en la proteasa viral que interactúan con el 1,8-cineol o Eucaliptol.
- Describir las interacciones químicas en el entorno de acoplamiento.

CAPÍTULO 4: ANTECEDENTES



4.1. Estructura del virus

En diciembre del 2019 y enero del 2020 se produjo un incremento de casos de neumonía viral atípica en China, sus manifestaciones clínicas sugerían que el agente etiológico de este nuevo brote estaba relacionado con coronavirus, que habían causado epidemias en Asia el SARS (siglas en inglés): síndrome respiratorio agudo severo en 2002 y en Arabia Saudita el MERS de sus siglas Síndrome Respiratorio de Oriente Medio en 2012; por este motivo a esta nueva enfermedad viral se la denominó COVID-19 y al virus causante SARS-CoV-2 [9]

El SARS-CoV-2 pertenece a la familia *Coronavirinae* (genero Betacoronavirus o Beta-CoVs). Los Betacoronavirus causan trastornos respiratorios en humanos, con síntomas que van desde el resfriado común hasta el síndrome respiratorio agudo severo SARS-CoV ; SARS-CoV-2 y MERS-CoV [10,11]

La estructura del virus microscópica y estructural está constituida principalmente por proteínas, glicoproteínas, ácidos nucleicos y fosfolípidos; morfológicamente se definen dos regiones: la envoltura y el nucleocápside [10]

4.2. Estructura genómica del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 tiene un RNA genómico monocatenario de sentido positivo con una longitud de aproximadamente 30 Kb [12] además presenta una cola poliadenilada (poli-A) en el extremo 3' y un capuchón metilado en el extremo 5' teniendo una similitud estructuralmente al RNA mensajero de células eucarióticas [13].

Este RNA consta de 15 marcos abiertos de lectura ORFs (open reading frames) que son secuencias de RNA comprendida entre un codón de inicio de traducción y un codón de terminación [14]. En SARS-CoV , MERS-CoV y SARS-CoV-2 los dos tercios próximos al extremo 5' - terminal de su genoma se encuentran los ORF1a y ORF1b que codifican las poliproteínas 1^a (PP1a) y 1ab (PP1ab) respectivamente [14]. El clivaje de estas poliproteínas origina a las 16 proteínas no estructurales

(Nsp1-16) que conforman el complejo viral replicasa-transcriptasa [14]. En el tercio próximo al extremo 3' se encuentran los ORFs S, E, M y N que codifican a las proteínas spike(S), envoltura (E), nucleocápside (N) y membrana (M) respectivamente; y los ORFs 3a, 3b, 6, 7a, 7b, 8, 9a, 9b, y 10 que codifican a las proteínas accesorias [14,15] como se puede observar en la Figura 1. La comparación de secuencia genómica de SARS-CoV-2, MERS-CoV y SARS-CoV. (B) Poliproteína 1ab (PP1ab) y poliproteína 1ª (PP1a) codificadas por ORF 1a y ORF 1b, con sus respectivas proteínas no estructurales (Nsps). Los triángulos azul y verde indican los sitios de escisión de la proteasa Plpro y 3Clpro respectivamente.[16]

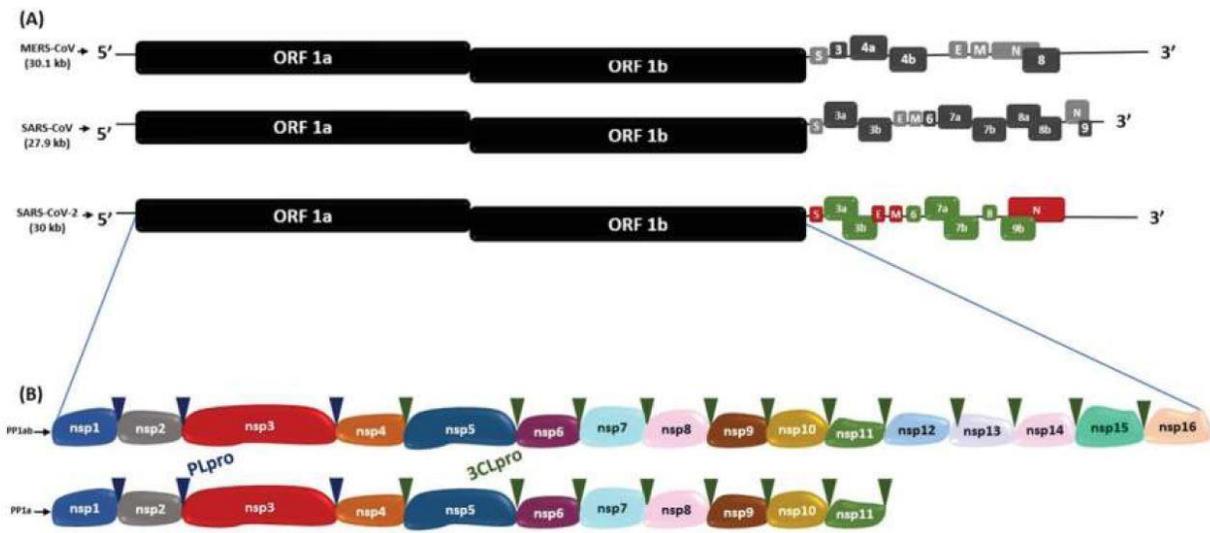


Figura A *Secuencias genómicas de SARS-CoV-2, MERS-CoV y SARS-CoV.*(A)

4.3. Proteínas del SARS-Cov-2

El SARS-CoV-2 cuenta con 16 proteínas no estructurales (nonstructural proteins Nsps), 4 proteínas estructurales y 8 proteínas accesorias [14].

Las 16 proteínas no estructurales provienen del clivaje proteolítico de las poliproteínas PP1a y PP1ab expresadas por ORF1a y ORF1ab [14]. Estas proteínas cumplen un papel vital en la

replicación del virus dentro de las células huésped (humano) y algunas de ellas son objetivo de diversos fármacos en desarrollo [15,16]

Proteínas no estructurales. -

Nsp1

Esta proteína interactúa con el ribosoma de la célula huésped, específicamente con la subunidad ribosomal 40 S, a través de los residuos de Lis164 e His165, a través de esta subunidad conseguirá el acceso al RNAm del huésped [17]. El Nsp1 impide la unión de la unidad ribosomal 40 S con la subunidad 60 S, inhibiendo así la traducción del RNAm [17].

Nsp2

Esta proteína se une a las proteínas prohibitinas PHB1 y PHB2 (prohibitin 1 y 2) de la célula huésped, que participan en el progreso del ciclo celular, migración celular, diferenciación celular, apoptosis y biogénesis mitocondrial [18].

Nsp3

Esta es la proteína más grande del SARS-CoV-2 y a partir del extremo N-terminal, presenta de forma secuencial un dominio similar a la ubiquitina que se une al RNA, a un módulo de unión a ribosa ADP, a un dominio de unión de poli (A), a una proteasa viral de tipo papaína, a un dominio de unión a ácido nucleico y a un receptor C acoplado a proteína G [19].

Esta proteína junto con Nsp4 y Nsp6, regula el sitio de replicación reclutando a la proteína replicasa a la membrana del huésped [18]. El dominio proteasa similar a la papaína (PLpro) del Nsp3 es responsable de la liberación de Nsp1, Nsp2 y Nsp3 de la región N-terminal de las poliproteínas 1a y 1ab [19]. Este dominio se puede unir a las proteínas RIG-I, NEMO, TRAF6 para que no activen los factores de transcripción IRF3 y NFkB, quienes coordinan la expresión de los interferones tipo I. En consecuencia, se bloquea la producción de citocinas importantes involucradas en la activación de la respuesta inmune innata del huésped contra la infección viral [19,20].

Nsp4

La coexpresión de Nsp4 con el tercio C-terminal de Nsp3 permite la redistribución del retículo endoplasmático a la región perinuclear para la inducción de la formación de vesículas de doble membrana, pero cuando se expresa individualmente la Nsp4 se localiza en el retículo endoplasmático [21].

Nsp5

La proteasa principal de SARS-CoV-2 (Mpro, Nsp5, 3CLpro) es una cisteína proteasa homodimérica de 67,6 KDa altamente conservada, que difiere solo en 12 aminoácidos con la correspondiente proteasa Mpro del SARS-CoV [15].

Está conformada por los dominios I (residuos 8-101), dominio II (residuos 102-184) y dominio III (residuos 201-303), con un bucle largo (residuos 185-200) que conecta los dominios II y III [15].

El residuo Glu 166 es un aminoácido clave implicado en la dimerización de Mpro y en la creación de bolsillo de unión al sustrato [22]. Además, los residuos Cys141 e His41 forman una díada catalítica en el sitio activo de la proteína, esencial para su función [15,22,23].

La proteasa principal se escinde de las poliproteínas para producir enzimas maduras y luego escinde más proteínas no estructurales Nsp downstream en 11 sitios para liberar Nsp4-Nsp16; además actúa como mediador en la maduración de Nsps, que es esencial en el ciclo vital viral [22,24]

Nsp6

Proteína transmembrana, consta de 290 aminoácidos y se localiza en el retículo endoplasmático [25]. La parte de su estructura que se encuentra en la región de la membrana externa posee múltiples residuos de fenilalanina, lo cual favorece la afinidad de esta proteína con la membrana del retículo y haría su unión más estable [26].

Nsp6 forma complejos con Nsp3 y Nsp4, además, está implicada en la formación de vesículas de doble membrana derivadas de retículo endoplásmico durante la replicación del coronavirus [25].

Nsp7 y Nsp8

Ambas Nsp7 y Nsp8 son predominantemente alfa helicoidal [26,27], las dos forman un complejo hexadecamerico que adopta una estructura cilíndrica hueca y puede participar en la replicación viral actuando como primasa [28].

Nsp9

La proteína Nsp9 tiene la capacidad de unión a RNA y DNA, por lo que media la replicación viral, la virulencia general y la reproducción viral del RNA genómico, siendo probablemente un miembro del complejo de replicación [29].

Nsp10

Es una proteína pequeña de 139 aminoácidos, el dominio C-terminal del Nsp10 forma múltiples interacciones con el dominio ExonN de Nsp14, lo que afecta su actividad nucleolítica, mejorando hasta 35 veces [30]. Esta proteína también actúa como cofactor de Nsp16 aumentando la actividad de su dominio 2'-O-MTasa [30].

Nsp12

Posee un dominio denominado RdRp que tiene actividad RNA polimerasa dependiente de RNA, pero solo si presenta baja actividad, por ello requiere factores accesorios, como las proteínas Nsp7 y Nsp8 con los que conforma un complejo, incrementando la unión al molde-primer de RNA [28,31].

Nsp13

Esta proteína presenta cinco dominios, a concentraciones elevadas de ATP la actividad helicasa de esta proteína presenta una mayor afinidad por el RNA duplex [32]

Nsp14

Esta proteína funciona como una metiltransferasa dependiente de S-adenosil metionina (SAM) (guanina-N7)-metil transferasa (N7-MTasa) [33]. Después de la hidrólisis del RNA naciente por el Nsp13, se forma RNA-pp. Una guanililtransferasa (GTasa) desconocida hidroliza GTP, transfiere el producto GMP a RNA-pp y crea RNA-Gppp. Luego SAM metila la guanina 5' del RNA-Gppp en la posición N7, formando la tapa 5'(m7GpppN-RNA) [30,33]

Nsp15

Esta proteína es una endoribonucleasa, el sitio activo está ubicado en un surco poco profundo entre dos hojas beta, lleva seis residuos de aminoácidos clave: His235, His250, Lis290, Tre341, Tir343, Ser294, de los cuales la triada catalítica la conforman los residuos de His235, His250 y Lis290 [34,35].

Nsp16

Su estructura contiene una tétrada catalítica altamente conservada (Lis-Asp-Lis-Glu), que distintiva de las RNA 2'-O-MTAsas, dentro de un núcleo compuesto por un pliegue de lámina beta decorado con once hélices alfa, siete cadenas beta y bucles [36].

Proteínas estructurales. -

El SARS-CoV-2 tiene cuatro proteínas estructurales, las cuales también están presentes en otros coronavirus. Son las proteínas Spike(S), Envoltura(E), Membrana(M), y Nucleocapside(N).

Proteína Spike(S)

Tiene un peso molecular de 180KDa [14]. Su estructura contiene subunidades funcionales S1 y S2 ubicadas en su ectodominio [37].

La subunidad S1 presenta un dominio N-terminal, un dominio C-terminal [37] y un dominio de unión al receptor conservado llamado dominio de enlace del receptor (RBD) que contiene un núcleo y un receptor denominado: motivo de unión al receptor (RBM) [37].

La subunidad S2 posee en su estructura un dominio péptido de fusión (FP), dominios de repetición y un dominio transmembrana (TM), que le permiten la fusión de las membranas viral y celular [37,38].

La proteína S requiere un clivaje por una proteasa para la activación de su potencial de fusión. Se han propuesto dos pasos secuenciales para el modelo de clivaje, un clivaje inicial entre S1 y S2 y la posterior activación de clivaje en el sitio S2 [39]. Además, presenta una gran superficie mutada con cuatro insertos nuevos en la proteína, de los cuales tres se ubican en el primer dominio NTD (dominio N-terminal), mientras que el cuarto se sitúa antes del sitio de escisión S2 y dentro de la interfaz de interacción de homo-trimerización [14].

Proteína de envoltura. -

Esta proteína es la más pequeña de las cuatro proteínas estructurales, con 76 aminoácidos de longitud [40,41]. Su estructura posee un extremo amino hidrófilo corto negativo conformado de 7 a 12 aminoácidos, seguido de un dominio transmembrana hidrófobo (TMD) grande de 25 aminoácidos, y termina con un extremo carboxilo hidrófilo largo de carga variable [40,41].

La región hidrófoba del dominio transmembrana (TMD) contiene una hélice alfa anfipática que se oligomeriza para formar un poro conductor de iones en las membranas, una parte del TMD consta de dos aminoácidos neutros no polares, Val y Leu, que confieren una fuerte hidrofobicidad a la proteína [41].

El extremo C-terminal también exhibe cierta hidrofobicidad, pero menos que el TMD debido a la presencia de un grupo de aminoácidos básicos cargados positivamente, además contiene un residuo de prolina conservado centrado en una región denominada motivo B-coil-B que probablemente funciona como una señal de dirección hacia el complejo de Golgi [41].

Proteína de membrana. -

Es una glicoproteína integral de membrana proporciona la morfología al virión [42,43]. Tiene una longitud de aproximadamente 220-260 aminoácidos con un dominio N-terminal de longitud corta, integrada en la membrana del virus por medio de tres dominios transmembrana denominados tm1, tm2, tm3 [42,44]. Su extremo terminal amino corto glicosilado constituye un ectodominio fuera de la membrana, mientras su endodominio C-terminal se localiza en el lado citoplasmático de la membrana del virus [42,43]. El ectodominio puede ser glicosilado, afectando el tropismo de los órganos a infectar y la capacidad inductora de interferón (IFN) de algunos coronavirus [43,44]. Además, presenta la inserción de un residuo de serina en la posición 4 como característica única en el SARS-CoV-2 [45].

Proteína Nucleocapside(N). -

Conformada por dos dominios bien plegados, denominados dominio N-terminal (NTD) y dominio C-terminal (CTD) [46], ambos dominios son ricos en cadenas Beta, pero CTD tiene además algunas hélices cortas [46]. Se une directamente al RNA viral y le provee estabilidad [47]. Además, se ha encontrado que antagoniza al RNAi antiviral e inhibe la actividad del complejo ciclina-CDK (ciclina dependiente de kinasa), esta inactivación resulta en la hidro fosforilación de la proteína retinoblastoma y a su vez inhibe la progresión de la fase S en el ciclo celular [48].

Proteínas accesorias. -

Estas proteínas son expresadas por los genes ORF3a, ORF3b, ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, ORF9a, ORF9b, y ORF10 (ORFs open reading frames o marcos abiertos de lectura). Varias de estas proteínas tienen funciones aún desconocidas, se sospecha que no intervienen en la replicación viral, pero pueden tener funciones importantes en la patogénesis viral [48].

4.4. Bioinformática

La bioinformática permite investigar, desarrollar y aplicar herramientas informáticas y computacionales para permitir y mejorar el manejo de datos biológicos [49].

La simulación experimental a través de sistemas informáticos tiene el nombre de análisis *in silico*. Una de las herramientas entre los análisis *in silico* es el acoplamiento molecular o Docking molecular, el cual utiliza diferentes softwares informáticos que buscan establecer uniones e interacciones entre ligandos y un blanco, receptor o target. El Docking es especialmente útil para establecer conformaciones del ligando que le permite formar una unión fuerte con el receptor. Este tipo de análisis siembra la base antes de avanzar al análisis *in vitro* e *in vivo* [50].

4.5. Acoplamiento molecular

4.5.1. Acoplamiento molecular

El docking o modelado molecular es una herramienta informática que predice uniones entre un ligando y un receptor de estructura tridimensional, los acoplamientos exitosos están determinados por la forma de la unión, interacciones Coulombicas o electrostáticas, Van Der Waals, puentes de hidrogeno, interacciones hidrofóbicas, interacciones que en conjunto representan la afinidad de enlace [51].

El docking se basa en la premisa de hallar acoplamientos entre ligandos y receptores, la predicción de acoplamientos mediada por software presenta las ventajas de costo y sencillez [52].

4.5.2. Acoplamiento molecular rígido

Se basa en el modelo de llave y cerradura de Emil Fisher, en este se asume que el ligando y el receptor están rígidos durante su interacción. Los programas de acoplamiento molecular dan resultados basados en cálculos matemáticos de campos de fuerza, ecuaciones de Coulomb, interacciones electrostáticas y fuerzas de Lennard-Jones y Van Der Waals [53].

4.5.3. Acoplamiento molecular semiflexible

En este tipo de acoplamiento el receptor permanece inmóvil, mientras que el ligando se desplaza libremente de manera sistemática o al azar buscando enlazarse con la proteína. La solución que se toma como correcta para estos análisis es representada por el valor de menor energía [54].

Algunos problemas están ligados a la falta de algoritmos capaces de replicar las interacciones naturales entre los ligandos y receptores, y al hecho de que no se ha logrado sumar la contribución de las moléculas de agua durante la formación del complejo ligando-receptor, al menos no de forma rápida y precisa [55].

4.5.4. Afinidad de enlace

Binding affinity es uno de los resultados del acoplamiento molecular, este representa la fuerza de las interacciones entre una biomolécula y un ligando. Las unidades del Binding affinity son kcal/mol unidades de energía, por tanto, mientras más bajo sea este valor, el complejo formado será más estable y su afinidad será alta. El Binding affinity también puede medirse como constante de disociación (K_d), esta constante permite estimar el grado de solidez de las interacciones, de igual manera que con la energía, mientras más bajo sea el K_d mayor será la afinidad de unión [56].

La afinidad de unión viene dada por las interacciones intermoleculares no covalentes, como los puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, Van Der Waals [56].

4.5.5. Interacciones intermoleculares no covalentes

Las interacciones o fuerzas intermoleculares son las responsables de las atracciones o repulsiones entre distintas moléculas o iones, este tipo de interacciones determina las propiedades físicas de las

sustancias, propiedades como el estado de agregación, punto de ebullición y fusión, solubilidad, densidad entre otras [57].

Las interacciones intermoleculares se diferencian de los enlaces covalentes en que en este tipo de fuerzas no se comparten pares de electrones, son de 10 a 100 veces más débiles, por ende, se requiere muy poca energía para romperlos, no obstante, al acumularse pueden ser tan fuertes o incluso más fuertes que un enlace covalente [58].

Si se desea ver la importancia de estas interacciones a nivel energético se debe conocer la fuerza de cada interacción; así las fuerzas de interacción son: puente de hidrógeno (P-H) -1 a -40 kcal/mol; interacciones hidrofóbicas -0,7 a -1,5 kcal/mol, interacciones aromáticas -1,6 a -2,5 kcal/mol [59]; Pi-Anión -2 a -5 kcal/mol [60]. El motivo por el cual estas energías se dan en rangos es porque la distancia de las interacciones es importante, ya que mientras más grande es la distancia más débil es la interacción. Esto deja en evidencia que los puentes de hidrógeno juegan un rol importante, no obstante, el tipo de puente de hidrógeno también es importante ya que los puentes tipo carbón y tipo Pi donador son significativamente más débiles que los convencionales [61].

En lo que refiere a las interacciones hidrofóbicas, si bien por sí solas son muy bajas, en conjunto llegan a ser significativas, más aún cuando son entre grupos aromáticos [58].

4.5.5.1. Puentes de hidrogeno

El enlace por puente de hidrógeno (P-H) convencional es la interacción entre un átomo de hidrógeno de un enlace polar como N-H O-H o F-H y un átomo electronegativo de O, N, o F [58]. Los puentes de hidrógeno son sumamente importantes para los organismos vivos ya que determinan la estructura y las propiedades de muchos compuestos, por ejemplo, son capaces de determinar la conformación de enzimas para que estas puedan catalizar reacciones bioquímicas, también son responsables de la conformación de la doble hélice en el DNA [57]. Además de los puentes de hidrógeno convencionales existen también los no convencionales como el puente de

hidrógeno carbono PH-Carbono, y el puente de hidrógeno pi donador. Pero estos son significativamente más débiles que los convencionales.

4.5.5.2. Puentes de hidrogeno-Carbono

El puente de hidrogeno-carbono es una interacción que se da entre un átomo electronegativo (O, N, F) y un carbono aledaño a un átomo electronegativo, el carbono funciona como donador [62].

4.5.5.3. Puentes de hidrogeno-Pi donor

El enlace π -donor se da entre los donadores X---H y el electrón π de nube electrónica de un compuesto cíclico [61].

4.5.5.4. Fuerzas electrostáticas

Las fuerzas electrostáticas se dan entre los átomos de las moléculas involucradas, es decir son los electrones los que están interactuando [63].

- **Interacciones Pi-alquilo**

Es una interacción de la nube de pi-electrones sobre un grupo aromático y un grupo de electrones de cualquier tipo alquílico [64]

- **Interacciones Pi-Pi**

Las interacciones Pi-Pi arilo-arilo son interacciones en la nube de pi-electrones entre dos grupos aromáticos [65]. Las interacciones arilo-arilo se presentan en diversas formas, como de “T” de borde a borde y la disposición de apilamiento desplazada en paralelo. Mientras que en las proteínas la disposición de apilamiento desplazado en paralelo se observa más a menudo, las dos disposiciones son de una energía similar -1,6 a -2,4 kcal/mol [59].

- **Interacciones Pi-sulfuro**

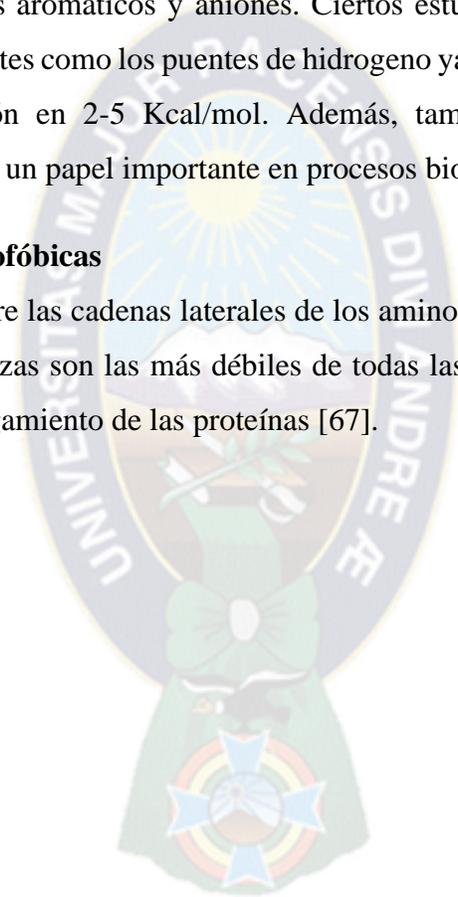
La nube de electrones pi del anillo aromático interactúa con el par solitario de la nube de electrones del átomo de azufre [66].

- **Interacciones Pi-anión**

Es la interacción entre grupos aromáticos y aniones. Ciertos estudios han establecido que estas interacciones son tan importantes como los puentes de hidrogeno ya que estas interacciones pueden aumentar la energía de unión en 2-5 Kcal/mol. Además, también se ha reportado que las interacciones Pi-catión juegan un papel importante en procesos biológicos [60]

4.5.5.5. Interacciones hidrofóbicas

Estas interacciones se dan entre las cadenas laterales de los aminoácidos hidrofóbicos (A, V, L, I, M, Y, F, W) este tipo de fuerzas son las más débiles de todas las interacciones no covalentes, e intervienen en el correcto plegamiento de las proteínas [67].



CAPÍTULO 5: MARCO TEORICO



5.1. Marco Teórico

A finales del año 2019 en la ciudad de Wuhan, China, se originó la enfermedad COVID-19, que es provocada por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 [68]. Este virus se extendió con rapidez por todo el mundo y en marzo del 2020 fue declarada una pandemia por la Organización Mundial de la Salud OMS [69].

Hasta el momento no existe un tratamiento definitivo, sin embargo, han surgido muchas propuestas, entre ellas la cloroquina, hidroxiclороquina, azitromicina, ivermectina, corticoides, interferón beta 1a (IFN- β 1a), lopinavir, ritonavir, tocilizumab, remdesivir, favipavir, umifenovir, plasma convaleciente, por mencionar algunos, pero hasta el momento ninguno ha demostrado efectividad comprobada [70]. Como lo menciona Vellingiri [71] las plantas tienen actividad antiviral positiva in vitro e in vivo, se ha observado que su efecto puede ser diferente contra los virus RNA o DNA, con o sin envoltura, incluso contra diferentes tipos o cepas de un virus.

El Eucalipto es un árbol perenne que pertenece a la familia Myrtaceae, originaria de Australia, actualmente distribuida por todo el mundo. La hoja de eucalipto, a través de su compuesto principal el Eucaliptol (1,8-cineol) ha demostrado su efecto antiviral en la influenza-A H1N1 a través de la inhibición del RNAm [72] y acción en el virus de la bronquitis infecciosa aviar, un tipo de coronavirus, mediante la inhibición del ingreso en fase de penetración y de replicación viral [73].

En marzo del 2020 se publicó un preprint [8] donde se reportó un estudio in silico y se menciona sobre la posible capacidad del Eucaliptol de actuar sobre la proteasa principal del coronavirus 3CLpro (Mpro/proteasa similar a la quimotripsina) proteasa importante en la replicación viral del SARS-CoV-2 [8]. En mayo del 2020 los mismos autores [74,75] publican un trabajo que realizaron sobre las moléculas bioactivas del aceite esencial del eucalipto, como potenciales inhibidores del coronavirus. En los coronavirus la proteasa Mpro está implicada en la maduración proteolítica del virus y se ha examinado como posible diana mediante la inhibición de la escisión de la poliproteína viral y así prevenir la propagación del virus. Las secuencias de las proteínas Mpro del SARS-CoV y del SARS-CoV-2 son idénticas en un 96% de forma que es plausible que el Eucaliptol pudiera

actuar sobre el nuevo coronavirus. Mediante simulación computacional se pueden obtener diferentes grados de unión entre los receptores de la proteasa y el ligando, en este caso el Eucaliptol.

Los resultados que obtuvieron Sharma y Kaur [74,75], muestran una afinidad entre el Eucaliptol y la estructura proteica.

El presente trabajo de investigación tiene la finalidad de encontrar la forma en la cual el Eucaliptol u 1,8-cineol se acopla a la proteasa viral Mpro/3CLpro del SARS-CoV-2.

El acoplamiento molecular o docking molecular es una aplicación de la mecánica molecular utilizada para predecir energías y modos de enlace entre ligandos y proteínas, proporciona información de gran utilidad para el estudio de nuevos compuestos con efectos terapéuticos; en estudios donde se aplica el acoplamiento molecular, usualmente la mejor conformación o pose es considerada como aquella que reporta la menor energía de unión, alternativamente puede ser seleccionada del cluster más poblado entre los clusters obtenidos después del acoplamiento molecular y también considerando el menor valor de RMSD (Root Mean Square Deviation) con respecto a una estructura de referencia [76].

Cuando se trabaja con proteínas y particularmente con enzimas como moléculas blanco, deben considerarse tres factores importantes: La especificidad o selectividad molecular de la proteína o enzima, la afinidad o fuerza con que se fija el sustrato o ligando a ella y la geometría del sitio de unión.[76].

CAPÍTULO 6: METODOLOGÍA



Según Sánchez [77] para describir la metodología del acoplamiento o docking molecular, es útil dividirla en una serie de etapas:

Primera etapa: el ligando. - Consiste en disponer de la estructura del ligando (generalmente pequeña en relación al blanco) candidato, molécula orgánica con estructura tridimensional conocida y que se encuentran en condiciones adecuadas para simular su unión al blanco.

Segunda etapa: el blanco. - Esta etapa requiere de la estructura tridimensional de la molécula blanco o diana también denominada **tarjet**, la cual debe ser acondicionada o preparada para los cálculos subsecuentes y sobre la que debe identificarse el sitio de unión de una molécula de prueba o ligando.

Tercera etapa: el Acoplamiento. - Que es una parte importante del método, consiste en el acoplamiento molecular o docking molecular, el cual usa un algoritmo del programa o software computacional, toma al ligando y lo coloca dentro del sitio de unión o acoplamiento en una gran cantidad de orientaciones [77].

6.1. Primera etapa: el ligando

Se recopilaron datos experimentales disponibles del ligando 1,8-cineol o Eucalyptol, en particular se buscarán los datos de los parámetros moleculares de interés, es decir de longitudes de enlace, de ángulos e información espectroscópica. Posteriormente se trabajará con los programas computacionales bajo plataforma Windows, utilizado para realizar la totalidad de los cálculos teóricos. Todos los cálculos mencionados se realizaron en dos clusters instalados en el departamento de Química Teórica y Computacional del Instituto de Investigaciones Químicas IIQ dependiente de la Carrera de Ciencias Químicas FCPN UMSA y otro en el laboratorio de Química General e Inorgánica de las Carreras de Química Farmacéutica y Bioquímica dependiente de la Carrera de Química Farmacéutica Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas FCBF UMSA, en ambos cluster se usaron computadoras con procesador Intel Core i7 en un entorno

Windows , se emplearon los programas de modelado molecular Spartan v18 y el programa químico informático molinspiration de la web .

La estructura del ligando Eucalyptol se trazó usando la interfaz de Spartan; esta fue sometida a cálculos de optimización geométrica inicialmente de Mecánica Molecular para obtener la estructura más estable, posteriormente todas las estructuras fueron analizadas mediante el método semiempírico PM3 para obtener valores más confiables de energía y geometría. Para el método ab initio se usaron la base 6-21G. Posteriormente la molécula se guarda como archivo mol2, en todos los casos se realizaron las optimizaciones en medio acuoso y en medio etanólico.

Las geometrías moleculares optimizadas son consideradas como la conformación con el mínimo de energía porque los modos vibracionales fueron calculados al mismo nivel de teoría y se observó que todas las frecuencias de las estructuras sean positivas (números reales) por tanto se confirmó que corresponden a mínimos verdaderos en la superficie de energía potencial SEP del sistema. La minimización de la energía de las estructuras se desarrolló por el método Fletcher-Reeves de gradiente conjugado hasta un valor de gradiente RMS (Root-Mean-Square) menor a 0.100 kcal/(Å³mol) o un máximo de 100 ciclos de iteración, el límite de convergencia SCF empleado fue de 0.001 kcal/mol.

6.2. Segunda etapa: el blanco

Para el desarrollo del presente estudio se utilizó como blanco (también denominado receptor, tarjet) la proteasa viral Mpro/3CLpro del SARS-CoV-2 tomado de la base de datos del PDB (Protein Data Bank) con la designación 6LU7, el cual está disponible unido a otro ligando. Hasta el momento actual no se encuentra en este banco de datos de proteínas el cristalizado con Eucaliptol.

Las moléculas de proteínas estas indexadas en este banco de datos en forma purificada, cuyas estructuras están al estado cristalino y están asociados a moléculas de agua y algunas moléculas con las cuales han sido aisladas y resueltas.

La preparación del receptor consiste en la eliminación de moléculas de agua, cofactores y algunas moléculas con las que viene resuelta su estructura cristalina.

Para trabajar con la proteína denominada proteasa viral Mpro/3CLpro del SARS-CoV-2 primero fue necesario descargar su archivo PDB de la página del Protein Data Bank PDB designado 6LU7; obtenido este archivo se procedió a prepararla para el acoplamiento molecular, de la siguiente manera:

- El archivo 6LU7 se cargó o importó en la interfaz de UCSF Chimera.
- En el menú superior de UCSF Chimera se abre la pestaña “Actions” luego Atoms/Bonds/Show y aparecen moléculas de agua, iones y otras moléculas con las que la cristalografía fue resuelta.
- Para preparar a la proteína se deben eliminar moléculas de agua, y moléculas que no forman parte de la estructura de la proteína, para esto se selecciona la pestaña “Select” luego “Residue” y se van seleccionando todo lo que se desea eliminar a continuación se abre la pestaña “Actions” luego Atoms/Bonds/delete. Esto elimina todo lo seleccionado.
- Se somete a la proteína a una dinámica molecular durante 5ns para que estén los residuos flexibles, el archivo refinado de salida obtenido fue etiquetado como 6LU7.Ref5 en formato PDB.

Para la búsqueda de las propiedades geométricas y topológicas de la proteína, cavidades superficiales, internas y canales incluyen al sitio activo en el blanco, se usó el servidor CASTp [78] que ofrece servicios en línea y es ampliamente utilizado desde 2003.

6.3. Tercera etapa: el Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular se llevó a cabo de la siguiente manera. Con el software PyRx – Virtual Screening Tool que utiliza a Autodock vina y a sus herramientas, con el command prompt y con servidores en línea.

6.3.1. Acoplamiento o docking molecular con PyRx– Virtual Screening Tool

PyRx– Virtual Screening Tool [84] *Assisted Molecular Docking with Autodock4 and Autodock Vina SOFT* es un software de libre acceso, ejecuta el acoplamiento utilizando varios software de código abierto como Autodock Vina Autodock4 Autodock tools Python, open Babel y sus herramientas.

PyRx– Virtual Screening Tool incluye un asistente de acoplamiento con una interfaz de usuario fácil de usar que lo convierte en una herramienta valiosa para el diseño de fármacos asistido por computadora. PyRx también incluye una funcionalidad similar a una hoja de cálculo química y un potente motor de visualización que son esenciales para el diseño de fármacos basados en la estructura.

Para realizar el acoplamiento molecular o docking molecular utilizando PyRx– Virtual Screening Tool se deben disponer del ligando y del blanco; en este estudio el ligando es el Eucaliptol debidamente modelado y optimizado en la primera etapa, el archivo a utilizar es con la extensión mol2 es decir EucaliptolSpartan.mol2; el blanco tarjet o diana es la proteína proteasa Mpro/3CL3CLpro del SARS-CoV2 etiquetado en el banco de datos del PDB data bank como 6LU7 debidamente preparado en la segunda etapa como 6LU7.Ref5 en formato PDB.

PyRx ejecuta el acoplamiento en Autodock Vina y Autodock; y se procede de la siguiente manera:

Se importan a la proteína en extensión PDB, una vez cargada se selecciona el icono Molecules, luego ir a File load molecule, entonces seleccionar el archivo de la carpeta en formato mencionado 6LU7.Ref5.pdb y se carga apareciendo en la interfaz.

Todo lo descrito en el siguiente proceso, consiste en agregar hidrógenos, quitar hidrógenos no polares, agregar cargas y guardar en formato Pdbqt.

Se selecciona a la proteína en la ventana de la izquierda, haciendo click derecho y se establece a la macromolécula, make macromolecule Autodock, Make Macromolecule, y se verifica si se formó

el archivo respectivo seleccionando en el icono Autodock y en el icono de la macromolécula se desplaza en + y aparece el archivo 6LUT.Ref.Pdbqt.

Para el ligando, se procede a cargar en PyRx, se importa la molécula en formato mol2, EucaliptolSpartan.mol2 se abre, luego se establece a este como ligando, seleccionando make ligand en Autodock, y se verifica si se formó el archivo Pdbqt del ligando respectivo en la ventana de Autodock.

Obtenidas las carpetas con el ligando y la macromolécula, el docking se corrió de la siguiente manera:

- En el menú inferior se selecciona “Vina Wizard” y se dio clic en “Start”.
- Se marcaron al ligando de la carpeta de “Ligands” y la macromolécula de “Macromolecules” (estas selecciones se pueden verificar en la parte inferior de la ventana) y se presiona en “Forward” y enseguida aparece en la interfaz un cubo (caja de selección o grid).
- Se escogió la zona de interés determinada citada en bibliografía y obtenida por Computed Atlas of Surface Topography of proteins CASTp [in CASTp](#) [78] con los aminoácidos Glu166 His163 Cys145 seleccionando en el menú superior “molecules” luego en el signo + aparecen todos los aminoácidos constituyentes de la proteína, es aquí donde se seleccionan los aminoácidos; luego se da clic en el botón rosado (Toggle Selection Spheres) del menú superior y aparecen los aminoácidos en la interfaz, a continuación se dan los parámetros de la caja de cetro en los ejes x,y,z y las dimensiones en Amstrong de X,Y,Z.
- Antes de iniciar el acoplamiento molecular, se estableció el grado de exhaustividad en 8 y luego se dio clic en “Run Vina”.
- Una vez terminado en acoplamiento, se vieron los datos obtenidos en la pestaña “Analyze Results”.

Para analizar gráficamente las estructuras se guardaron en formato .pdb las que presentaron los valores más bajos de binding affinity, esto desde la pestaña “Navigator” en la subpestaña “Molecules” y la opción “Save As”.

Todo este proceso se llevó a cabo 25 veces; estos procesos pueden durar más o menos tiempo en función de la potencia del PC que se utilice.

6.3.2. Acoplamiento o docking molecular con el símbolo del sistema o command prompt

El acoplamiento molecular utilizando el símbolo del sistema o command prompt consiste en realizar los cálculos usando el ejecutable de Autodock Vina, para este propósito se requieren los siguientes archivos:

- Archivos del receptor en formato pdbqt se utilizó como: receptor.pdbqt y también el ligando: Eucaliptol Spartan. pdbqt.
- Archivo denominado configuración del texto config.txt; donde se define el receptor, el ligando, el centro en coordenadas x,y,z y las dimensiones de la caja o box que encierra al sitio activo del receptor, la exhaustividad, y la generación de los archivos de salida donde se generan los resultados.

Una vez que se disponen de estos archivos, se evoca al ejecutable de Autodock Vina, en el command prompt o símbolo del sistema, y Autodock Vina ejecuta según las órdenes dadas en la configuración de texto, así:

- Abrir el Command prompt
- Dar la ruta: C:/Users/PC/Desktop/Docking CMD/CMD Euca2>vina.exe –config config.txt

6.3.3. Acoplamiento o docking molecular en línea

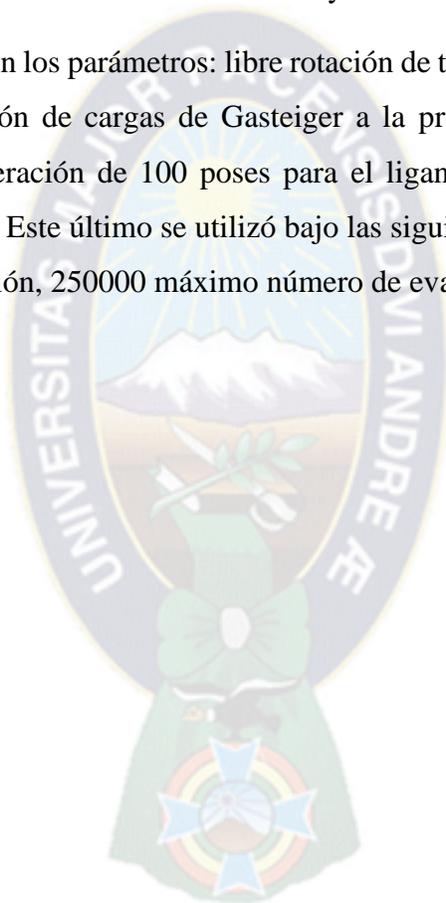
Se utilizaron servicios en línea para realizar el acoplamiento molecular, cada servicio requiere de los archivos de la proteína que actúa como blanco diana en formato pdb y del archivo del ligando en este caso el Eucaliptol también en pdb.

Los recursos utilizados fueron:

1-click docking, Covid 19 docking server, CB dock, , Docking server, Webina,

Los softwares PyRx que utiliza los archivos de Autodock vina y autodock tools, Amdock *Assisted Molecular Docking with Autodock4 and Autodock Vina SOFT* y el Command prompt o CMD que también utiliza los motores de Autodock vina y autodock tools

Para el acoplamiento se tomaron los parámetros: libre rotación de todos los enlaces del ligando con libertad conformacional, adición de cargas de Gasteiger a la proteína y al ligando, adición de hidrógenos a la proteína, generación de 100 poses para el ligando y utilización del Algoritmo Genético Lamarckiano (LGA). Este último se utilizó bajo las siguientes condiciones: 100 corridas del GA, 150 tamaño de población, 250000 máximo número de evaluaciones de energía.



CAPÍTULO 7: RESULTADOS Y DISCUSION



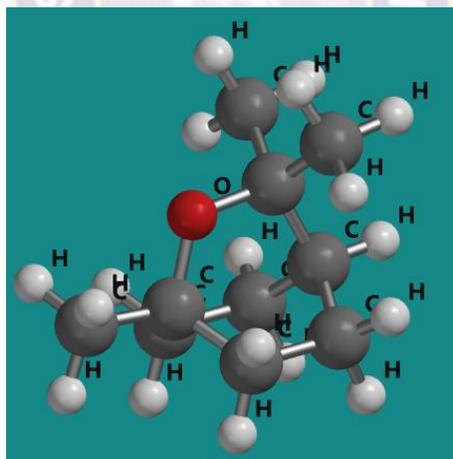
7.1. Análisis y discusión de resultados

7.1.1. Resultados del modelado molecular del ligando 1,8-Cineol o Eucaliptol

Geometría molecular: Los resultados obtenidos en cuanto se refiere a la geometría molecular del Eucaliptol, se presentan en las figuras 1,2, y figuras 3 se muestra la geometría de la molécula de Eucaliptol optimizada por el método Hartree Fock y la teoría del funcional de densidad DFT B3LYP 6-31G* ambos estudios al vacío y en medio etanólico y la numeración respectiva. La tabla A muestra los valores de las longitudes de enlace en Armstrong y la tabla B los ángulos de enlace y finalmente la tabla C los ángulos dihedrales.

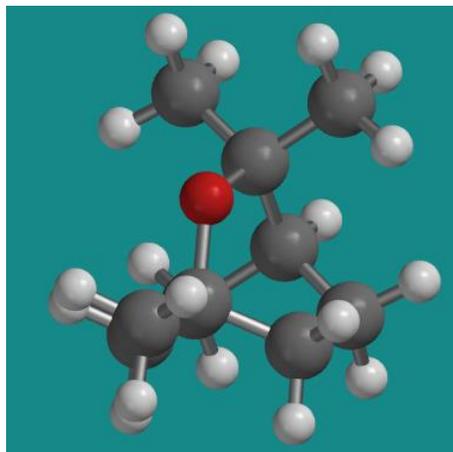
Figuras 1,2,3 Estructuras Optimizadas del Eucaliptol al vacío; en medio etanólico y la numeración de los átomos.

Figura 1 Estructura Optimizada del Eucaliptol por el método DFT B3LYP 6-31G* al vacío



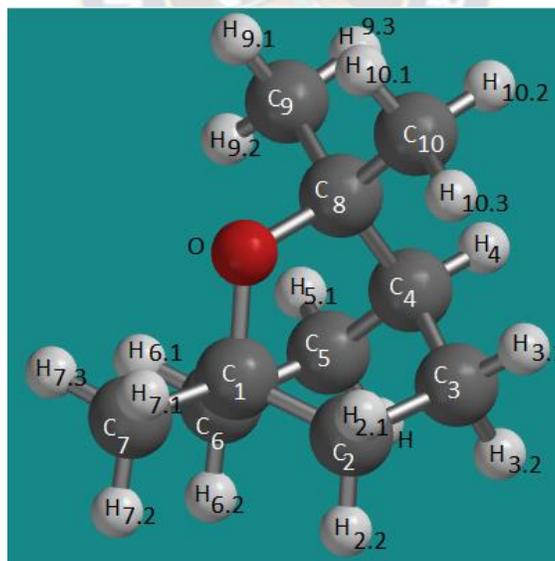
Nota: Foto obtenida por optimización geométrica mecánico cuántico del Eucaliptol método DFT B3LYP 6-31G* al vacío con SPARTAN v18.

Figura 2 Estructura Optimizada del Eucaliptol por el método DFT B3LYP 6-31G* en medio etanolico



Nota: Foto obtenida por optimización geométrica mecano cuántico del Eucaliptol método DFT B3LYP 6-31G* medio etanolico con SPARTAN v18.

Figura 3 Numeración en la estructura Optimizada del Eucaliptol por el método DFT B3LYP 6-31G*



Nota: Foto obtenida por optimización geométrica mecano cuántico del Eucaliptol método DFT B3LYP 6-31G* con SPARTAN v18.

Tabla A Longitudes de enlace (Å) en el Eucaliptol

Longitudes de enlace entre dos átomos	Longitudes enlace (Å) método HF vacío	Longitudes enlace (Å) método DFT vacío	Longitudes enlace (Å) método HF ETANOL	Longitudes enlace (Å) método DFT Etanol	Longitudes enlace (Å) DATA BANK EUROPA
C1-C2	1,534	1,544	1,534	1,543	1,530
C1-C6	1,534	1,544	1,534	1,543	1,530
C1-C7	1,519	1,524	1,518	1,522	1,530
C1-O	1,418	1,443	1,425	1,452	1,420
C2-C3	1,548	1,555	1,548	1,554	1,530
C2-H2.1	1,085	1,096	1,085	1,096	1,090
C2-H2.2	1,086	1,097	1,085	1,096	1,090
C3-C4	1,537	1,542	1,537	1,542	1,530
C3-H3.1	1,083	1,094	1,083	1,094	1,090
C3-H3.2	1,086	1,097	1,085	1,096	1,090
C4-C5	1,537	1,542	1,537	1,542	1,530
C4-C8	1,546	1,552	1,546	1,552	1,530
C4-H4	1,086	1,097	1,085	1,096	1,090
C5-C6	1,548	1,555	1,548	1,554	1,530
C5-H5.1	1,083	1,094	1,083	1,094	1,090
C5-H5.2	1,086	1,097	1,085	1,096	1,090
C6-H6.1	1,085	1,096	1,085	1,096	1,090
C6-H6.2	1,086	1,097	1,085	1,096	1,090
C7-H7.1	1,084	1,095	1,085	1,095	1,090
C7-H7.2	1,086	1,096	1,085	1,095	1,090
C7-H7.3	1,084	1,095	1,085	1,095	1,090
C8-C9	1,531	1,537	1,53	1,536	1,530
C8-C10	1,531	1,537	1,53	1,536	1,530
C8-O	1,424	1,453	1,431	1,462	1,400
C9-H9.1	1,084	1,095	1,085	1,096	1,090
C9-H9.2	1,082	1,093	1,082	1,093	1,090
C9-H9.3	1,086	1,097	1,086	1,096	1,090
C10-H10.1	1,084	1,095	1,085	1,096	1,090
C10-H10.2	1,086	1,097	1,086	1,096	1,090
C10H10.3	1,082	1,093	1,082	1,093	1,090

ANOVA: Minitab v19, SSPSv26; Excel: P=0,999 FC=0,0211 FT=2,434
La significancia valor de p es mayor P > 0,05 es válida la Hipótesis nula

Nota: elaboración propia con datos obtenidos por optimización geométrica mecano cuántico del Eucaliptol con SPARTAN v18.

Se calcularon las propiedades moleculares con los métodos Hartree Fock al vacío y en medio etanólico y el método DFT también al vacío y medio etanólico, en este caso referido a las longitudes de enlace intramolecular se encontró que no hay diferencia estadística significativa entre las longitudes de enlace en los 4 tratamientos cuánticos utilizados y el de referencia.

Las pruebas para verificar la igualdad de varianzas en los tratamientos dieron una Significancia sig= 0,985 mayor a 0,05 el Ft es mayor al calculado Fc. Por tanto, es válida la Ho, es decir no hay diferencia significativa entre las longitudes de enlace en el Eucalyptol determinados por los métodos mecano cuánticos.

Por consiguiente, hay igualdad de varianzas, hecho que se evidencia a partir de las desviaciones estándar.

En cuanto se refiere a los ángulos encontrados la prueba de normalidad **Kolmogórov-Smirnov** para los cuatro tratamientos, esto es para Hartree Fock al vacío y en medio etanólico; para DFT al vacío y en medio etanólico muestra (una significancia de 0,2 mayor a 0,05) que los datos se ajustan a una distribución normal.

No se encontraron valores de ángulos de esta molécula en los bancos de datos, por consiguiente, se realizó un ANOVA de un factor para los datos encontrados por los cuatro tratamientos cuánticos.

Tabla B *Ángulos en grados (°) entre tres átomos en el Eucaliptol*

	DFT VACUO	DFT ETANOL	HF VACUO	HF ETANOL
O—C1—C7	105,4	105,6	105,9	106,06
O—C1—C2	108,5	108,49	108,43	108,37
C7—C1—C2	112,28	112,23	112,07	112,06
O—C1—C6	108,5	108,49	108,43	108,37
C7—C1—C6	112,28	112,23	112,07	112,06
C2—C1—C6	109,66	109,6	109,75	109,72
C1—O—C8	115,2	114,87	116,32	116,14
C1—C2—C3	109,43	109,53	109,37	109,44
C1—C2—H2.1	108,29	108,51	108,36	108,51
C1—C2—H2.2	109,74	109,51	109,88	109,73
C3—C2—H2.1	111,13	111,28	110,87	110,99
C3—C2—H2.2	111,26	111,24	111,25	111,21
C4—C3—C2	108,68	108,73	108,44	108,52
C4—C3—H3.1	111,25	111,28	111,48	111,5
C4—C3—H3.2	108,79	108,78	108,89	108,86
C2—C3—H3.1	110,96	111,01	111,01	111,04
C2—C3—H3.2	110,89	110,87	110,84	110,82
H3.1—C3—H3.2	106,24	106,14	106,17	106,08
H2.1—C2—H2.2	106,93	106,7	107,03	106,89
C8—C4—C5	109,91	109,94	109,87	109,87
C8—C4—C3	109,91	109,94	109,87	109,87
C5—C4—C3	107,04	107,18	106,76	106,88
C8—C4—H4	109,16	108,99	109,29	109,22
C5—C4—H4	110,39	110,39	110,51	110,49
C3—C4—H4	110,39	110,39	110,51	110,49
C4—C5—C6	108,68	108,73	108,44	108,52
C4—C5—H5.1	111,25	111,28	111,48	111,5
C4—C5—H5.2	108,79	108,78	108,89	108,86
C6—C5—H5.1	110,96	111,01	111,01	111,04
C6—C5—H5.2	110,89	110,87	110,84	110,82
H5.1—C5—H5.2	106,24	106,14	106,17	106,08
C1—C6—C5	109,43	109,53	109,37	109,44

C1—C6—H6.1	109,74	108,51	108,36	108,51
C1—C6—H6.2	109,74	109,51	109,88	109,73
C5—C6—H6.1	111,13	111,28	110,87	110,99
C5—C6—H6.2	111,26	111,24	111,25	111,21
H6.1—C6—H6.2	106,93	106,7	107,03	106,89
O—C8—C9	107,12	107,25	107,46	107,55
O—C8—C10	107,12	107,25	107,46	107,55
C9—C8—C10	108,38	108,31	108,37	108,33
O—C8—C4	108,42	108,38	108,24	108,18
C9—C8—C4	112,75	112,69	112,53	112,5
C10—C8—C4	112,75	112,69	112,53	112,5
C8—C9—H9.1	109,35	109,85	109,42	109,82
C8—C9—H9.2	112,05	112,36	111,89	112,11
C8—C9—H9.3	111,14	111,14	111,12	111,2
C8—C10—H10.1	109,35	109,85	109,42	109,82
C8—C10—H10.2	111,14	111,14	111,12	111,2
C8—C10—H10.3	112,05	112,36	111,89	112,11
C1—C7—H7.1	110,27	110,74	110,29	110,63
C1—C7—H7.2	110,82	110,75	110,88	110,87
C1—C7—H7.3	110,27	110,74	110,29	110,63
H7.1—C7—H7.2	108,61	108,25	108,59	108,32
H7.1—C7—H7.3	108,18	108,01	108,12	107,96
H7.2—C7—H7.3	108,61	108,25	108,59	108,32

Prueba de normalidad SSPsv26 significancia sig=0,2 para los 4 tratamientos. ANOVA: Minitab v19, SSPsv26; Excel: P=0,999 FC=0,001278 FT= 2,6464 La significancia valor de p es mayor P > 0,05 es válida la Hipótesis nula

Nota: elaboración propia con datos obtenidos por optimización geométrica mecano cuántica del Eucaliptol con SPARTAN v18.

El ANOVA tanto en Minitabv19; SSPsv26 y Excel muestran que no hay diferencia estadística significativa entre los ángulos de enlace entre tres átomos en el Eucalyptol determinados por los 2 métodos mecano cuánticos al vacío y en medio etanólico.

Estos estadísticos nos muestran que la estructura molecular, conformacional, espacial del Eucaliptol encontrado y calculado por estos métodos computacionales en comparación con los valores experimentales del Data Bank Europeo, se asemejan.

Tabla C *Ángulos Dihedros en grados (°) entre cuatro átomos en el Eucaliptol*

Angulo dihedro	DFT VACUO	DFT ETANOL	HF VACUO	HF ETANOL
C2—C1—O—C8	59,54	59,5	59,55	59,51
C6—C1—O—C8	-59,54	-59,5	-59,55	-59,51
O—C1—C2—C3	-60,1	-60,02	-59,92	-59,83
O—C1—C6—C5	60,1	60,02	59,92	59,83
C7—C1—C2—C3	-176,19	-176,32	-176,45	-176,52
C7—C1—C6—C5	176,19	176,32	176,45	176,52
C6—C1—C2—C3	58,25	58,27	58,35	58,33
C2—C1—C6—C5	-58,25	-58,27	-58,35	-58,33
C1—C2—C3—C4	3,09	2,9	3,36	3,22
C4—C5—C6—C1	-3,09	-2,9	-3,36	-3,22
C2—C3—C4—C8	54,96	55,4	54,23	54,57
C8—C4—C5—C6	-54,96	-55,4	54,23	-54,57
C2—C3—C4—C5	-64,38	-64,06	-64,87	-64,6
C3—C4—C5—C6	64,38	64,06	64,87	64,6
C1—O—C8—C9	121,95	121,92	121,78	121,76
C1—O—C8—C10	-121,95	-121,92	-121,78	-121,76
C1—O—C8—C4	0	0	0	0
C5—C4—C8—O	58,78	58,88	58,58	58,66
C3—C4—C8—O	-58,78	-58,88	-58,58	-58,66
C5—C4—C8—C9	-59,65	-59,64	-60,03	-60
C3—C4—C8—C10	59,65	59,64	60,03	60
O—C1—C2—C3	-60,1	-60,02	-59,92	-59,83
C7—C1—C2—C3	-176,19	-176,32	-176,45	-176,52
C3—C4—C8—C9	-177,22	-177,41	-177,19	-177,31
C5—C4—C8—C10	177,22	177,41	177,19	177,31

Prueba de normalidad SSPSV26 significancia sig=0.2 para los 4 tratamientos.
ANOVA Minitab v19, SSPSV26; Excel: P=0.411 FC=0.97 FT= 2.70

Nota: elaboración propia con datos obtenidos por optimización geométrica mecano cuántico del Eucaliptol con SPARTAN v18.

No se encontraron valores de referencia de ángulos dihedros en los bancos de datos, los cálculos mostrados se basan en el análisis de los dos métodos cuánticos que comprenden a los cuatro tratamientos DFT al vacío (método 1) y etanol (método 2) y Hartree Fock al vacío (método 3) y etanol (método 4).

El análisis ANOVA realizado muestra que no existe diferencia estadística significativa entre los valores de ángulos dihedros en la molécula de Eucaliptol calculados por los cuatro métodos.

Los ángulos dihedrales nos ayudan a visualizar mejor a la molécula, así por ejemplo si observamos el ángulo que forman los dos planos que contienen a los átomos C1 C2 C3 C4 la intersección de estos dos planos nos da una lectura de 3°; en cambio si realizamos la misma medida en los átomos de carbono C4 C5 C6 C1 el ángulo es -3°; así muestra la simetría presente en el Eucaliptol. Otro ángulo dihedro formado por los átomos de carbono C3 C4 C5 C6 da un ángulo dihedral de 64.06° y -64.06° entre los carbonos C2 C3 C4 C5 ver tabla C

Tabla 1 *Propiedades moleculares predichas para el Eucaliptol utilizando el método DFT B3LYP, 6-31G*

	DFT B3LYP 6-31G Vacío	DFT B3LYP 6-31G Etanol
Propiedad Molecular		
Formula	C ₁₀ H ₁₈ O	C ₁₀ H ₁₈ O
PM(g/mol)	154,25	154,25
Energía (ua)	-467,13	-467,14
Momento dipolar (Debye)	1,3	1,75
E HOMO (ev)	-6,24	-6,46
E LUMO (ev)	1,86	1,80
Propiedades QSAR		
Area (A ⁰²)	195,66	195,70
Volumen (A ^{a3})	181,95	181,96
PSA (A ⁰²)	6,505	6,637
LogP	1,86	1,86

Nota: elaboración propia con Valores encontrados en el presente estudio SPARTAN v18

Tabla 2 Descriptores de reactividad calculados para el Eucaliptol

	DFT Vacío	DFT Vacío	DFT etanol	DFT etanol
	ev	Hartree	ev	Hartree
E HOMO (ev)	-6,24	-0,229	-6,46	-0,237
E LUMO (ev)	1,86	0,068	1,80	0,066
ΔE (ev)	8,1	0,297	8,26	0,303
Potencial de ionización: $I = - E \text{ HOMO (ev)}$	6,24	0,229	6,46	0,237
Electroafinidad: $A = - E \text{ LUMO (ev)}$	-1,86	-0,068	-1,80	-0,066
Electronegatividad: $\chi = (I+A) / 2 \text{ (ev)}$	2,19	0,08	2,33	0,085
Dureza total: $\eta = (I-A) / 2 \text{ (ev)}$	4,05	0,148	4,66	0,171
Suavidad o blandura: $\sigma = 1/\eta$	0,25		0,21	
Potencial químico: $\mu = (\text{HOMO}+\text{LUMO})/2$	-2,19	0,08	-2,33	-0,085
Índice de electrofilicidad: $\omega = \mu^2/2\eta$	0,592	0,022	-0,582	-0,0213

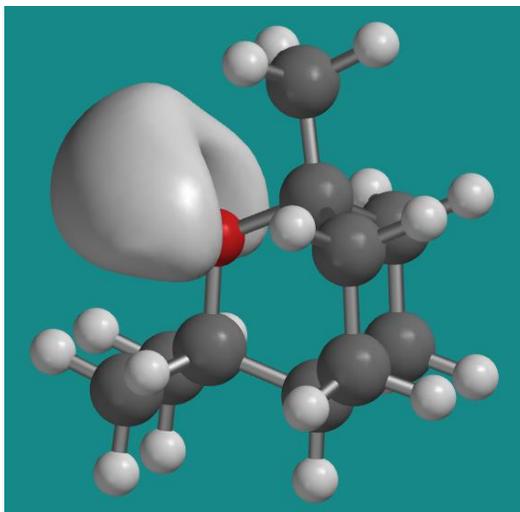
Nota: elaboración propia. I: potencial de ionización, A: electroafinidad, χ : electronegatividad, η : dureza total, σ : blandura, μ : potencial químico, ω : índice de electrofilicidad global. Valores encontrados en el presente estudio SPARTAN v18.

En la tabla 2 se puede ver el potencial químico μ que guarda una relación directa con la electronegatividad χ , el potencial describe como la densidad electrónica del sistema puede fluctuar, expresando el flujo de electrones de una zona de alto potencial químico a una región de menor potencial químico, la magnitud encontrada de $\mu = -2.19$ ev muestra que la densidad electrónica del sistema puede variar de manera espontánea, debido a su valor negativo. En la misma tabla 2 se muestra el valor de la electronegatividad χ de 2.19 ev e indica como la molécula tiende a atraer electrones sin cambiar su densidad electrónica.

Se puede entender este potencial (ver figura 4) de la siguiente manera, si tuviéramos una carga puntual positiva lejos de la molécula en estudio, y aproximamos esta carga positiva y se detecta si

es atraída o repelida; en nuestro caso la figura 4 muestra la región cercana al oxígeno donde se ejercerá una fuerza de atracción hacia una carga positiva.

Figura 4 Mapa del potencial del Eucaliptol, estructura Optimizada por el método DFT B3LYP 6-31G*

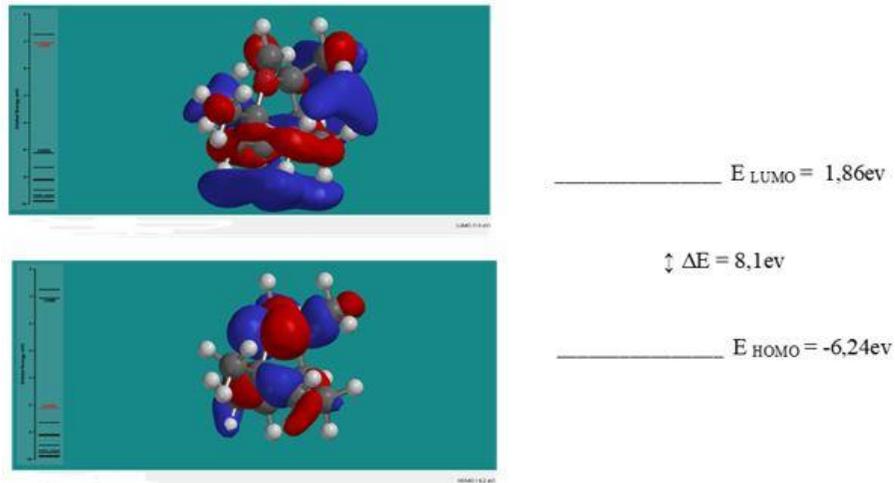


Nota: Foto obtenida por optimización geométrica mecánico cuántico del Eucaliptol método DFT B3LYP 6-31G* con SPARTAN v18.

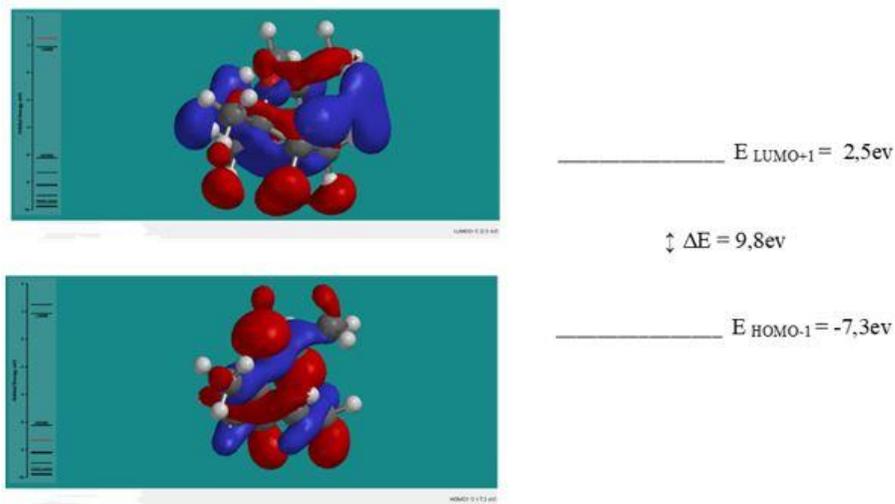
En la tabla 3 y figura 5; se presentan los valores calculados de energía de los orbitales frontera HOMO, HOMO-1; LUMO y LUMO+1 y los band-gap del Eucaliptol al vacío, los orbitales frontera en medio etanólico son similares a estos y no se lo presenta, por consiguiente, el análisis es igual en ambos medios. Se puede apreciar que la densidad electrónica de los orbitales HOMO se concentra en la región electrodonadora, es decir el oxígeno y su vecindad C₆ C₃ C₄ C₈ y C₉. El orbital LUMO tiene la densidad electrónica distribuida sobre los carbonos del anillo C₁ C₂ C₃ C₄ C₅ C₆ y muestra orbitales deficitarios o zonas positivas en las regiones de los hidrógenos, especialmente los anulares.

En el HOMO-1 la densidad electrónica está centrada sobre los átomos de oxígeno, C₁ C₂ y C₆ y entre los C₄ y C₈. En el LUMO+1 la densidad electrónica se encuentra distribuida en los átomos de carbono del anillo y en sus respectivos hidrógenos de la región basal u orientados en el eje Z.

Figura 5 Orbitales HOMO LUMO del eucaliptol DFT al vacío



Orbitales HOMO-1 LUMO+1 del Eucaliptol DFT al vacío



HOMO (Orbital Molecular ocupado más alto) es el último orbital molecular que se encuentra doblemente ocupado. Indica donde se encuentra el par de electrones que más fácilmente puede perder o ceder la molécula, acá se encuentra en el oxígeno y proximidades en color rojo. **LUMO** (Orbital Molecular vacío más bajo desocupado) es el orbital de menor energía que se encuentra vacío. Indica el lugar donde más fácilmente la molécula aceptaría un par de electrones, región distribuida en azul sobre los carbonos del anillo.

Tabla 3 Valores calculados para los orbitales frontera y su respectivo band gap para el Eucaliptol

	DFT Vacío (eV)	DFT Vacío (Hartree)	DFT etanol (eV)	DFT etanol (Hartree)
LUMO	1,86	0,068	1,80	0,066
HOMO	-6,24	-0,229	-6,46	-0,237
Band-gap	8,1	0,297	8,26	0,303
LUMO +1	2,5	0,092	2,4	0,088
HOMO -1	-7,3	-0,268	-7,4	-0,272
Band-gap	9,8	0,360	9,8	0,360

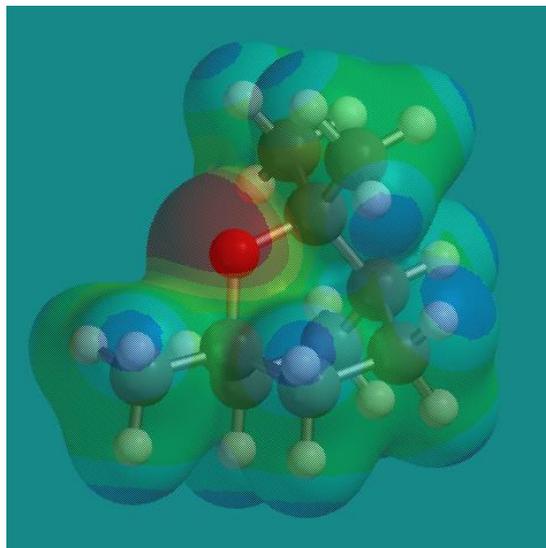
Nota: elaboración propia con Valores encontrados en el presente estudio SPARTAN v18

Un band gap de 8.1 eV entre los orbitales HOMO LUMO muestra que la molécula es muy estable, al igual que el band-gap entre los orbitales HOMO-1 y LUMO+1 de 9.8 eV indica que se necesitaría mucha energía para que ocurra una transición electrónica, al poseer mayor magnitud que el band-gap de los orbitales HOMO-LUMO.

La dureza η expresa la diferencia o separación entre el HOMO y LUMO, a mayor separación de energía más dura es la molécula, el valor calculado en este estudio para el Eucaliptol dio el valor de 4.05 eV, entonces tendrá baja tendencia a dar o recibir electrones, entonces esta dureza se asocia también con la estabilidad del sistema químico.

La superficie de energía potencial se observa en la Figura 6; el color rojo muestra una elevada densidad electrónica ubicada alrededor del oxígeno, en cambio el azul regiones de baja densidad electrónica en regiones de los átomos de hidrogeno, los colores intermedios como el verde se debe en gran parte a la presencia de los enlaces covalentes entre átomos de carbono con una densidad electrónica que tiende del promedio o intermedio existiendo un balance electrónico.

Figura 6 Mapa del potencial electrostático del Eucaliptol, estructura Optimizada por el método DFT B3LYP 6-31G*



Nota: Foto obtenida por optimización geométrica mecánico cuántico del Eucaliptol método DFT B3LYP 6-31G* con SPARTAN v18.

Funciones de Fukui:

Las funciones de Fukui para los estados catiónicos, aniónicos y neutros al vacío, calculados para el Eucaliptol se muestran en la tabla cuatro.

Las funciones de Fukui para los estados catiónicos, aniónicos y neutros en medio etanólico, calculados se muestran en la tabla cinco.

Los valores de las funciones de Fukui están relacionados con la probabilidad de encontrar al electrón en un orbital, lo que define al cuadrado de la función de onda del sistema; en consecuencia, los valores de las funciones de Fukui negativos no se tomarán en el análisis porque no tienen significado físico. (Fukui, 1982)

Los valores $f(+)$ de la tabla cuatro, muestra los valores más altos en los carbonos C_2 C_3 C_5 y C_6 que conforman el anillo en el Eucaliptol y los carbonos metilos C_9 C_{10} confiriéndoles características electrofílicas, haciéndolos susceptibles a ataques nucleofílicos. De manera similar se puede analizar que el valor más alto de $f(-)$ lo presentan los carbonos C_1 y C_8 indicando que son más susceptibles a un ataque electrofílico.

Tabla 4 Funciones Fukui para el Eucaliptol DFT 6.31G* al vacío

Numero	Átomo	f (+)	f (-)	f (0)
1	O	-0,023	-0,275	-0,55
2	C1	0,061	0,134	0,312
3	C2	0,117	-0,007	-0,273
4	C3	0,117	0,036	-0,286
5	C4	0,099	0,065	-0,108
6	C5	0,117	0,036	-0,286
7	C6	0,117	-0,007	-0,273
8	C7	0,058	0,053	-0,457
9	C8	0,066	0,146	0,34
10	C9	0,111	0,013	-0,452
11	C10	0,111	0,013	-0,452
12	H21	-0,167	-0,167	0,139
13	H22	-0,227	-0,153	0,129
14	H31	-0,152	-0,134	0,14
15	H32	-0,189	-0,132	0,132
16	H4	-0,244	-0,151	0,115
17	H51	-0,152	-0,134	0,14
18	H52	-0,189	-0,132	0,132
19	H61	-0,167	-0,167	0,139
20	H62	-0,227	-0,153	0,129
21	H71	-0,102	-0,126	0,15
22	H72	-0,151	-0,109	0,136
23	H73	-0,102	-0,126	0,15
24	H91	-0,139	-0,098	0,149
25	H92	-0,119	-0,05	0,146
26	H93	-0,183	-0,113	0,132
27	H101	-0,139	-0,098	0,149
28	H102	-0,183	-0,113	0,132
29	H103	-0,119	-0,05	0,146

Valores calculados usando datos de cargas Mulliken encontrados en el presente estudio
SPARTAN v18

Tabla 5 Funciones Fukui para el Eucaliptol DFT 6.31G* medio etanol

Numero	Átomo	f (+)	f (-)	f (0)
1	O	-0,031	-0,291	-0,57
2	C1	0,009	0,077	0,273
3	C2	0,106	-0,03	-0,274
4	C3	0,108	0,011	-0,291
5	C4	0,031	0,032	-0,104
6	C5	0,108	0,011	-0,291
7	C6	0,106	-0,03	-0,274
8	C7	-0,023	0,021	-0,46
9	C8	0,034	0,04	0,306
10	C9	0,061	0,013	-0,453
11	C10	0,061	0,013	-0,453
12	H21	-0,178	-0,212	0,132
13	H22	-0,246	-0,178	0,146
14	H31	-0,178	-0,107	0,147
15	H32	-0,23	-0,094	0,146
16	H4	-0,323	-0,108	0,131
17	H51	-0,178	-0,107	0,147
18	H52	-0,23	-0,094	0,146
19	H61	-0,178	-0,212	0,132
20	H62	-0,246	-0,178	0,146
21	H71	0,004	-0,099	0,143
22	H72	-0,052	-0,087	0,161
23	H73	0,004	-0,099	0,143
24	H91	-0,038	-0,043	0,138
25	H92	-0,107	-0,058	0,144
26	H93	-0,125	-0,042	0,154
27	H101	-0,038	-0,043	0,138
28	H102	-0,125	-0,042	0,154
29	H103	-0,107	-0,058	0,144

Valores calculados usando datos de cargas Mulliken encontrados en el presente estudio
SPARTAN v18

Tabla 6 Descriptores ADME para el Eucaliptol

	SwissADME	ADMETlab
Formula	C ₁₀ H ₁₈ O	C ₁₀ H ₁₈ O
PM	154,25	154,14
Refractividad molar	47,12	No calcula
TPSA (A ²)	9,23	9,23
Absorción GI	Elevado	-
LogP	2,67	2,58
Caco 2	No calcula	-4,41 Optimo >-5,15
Distribución PBB	No calcula	90,093%
Distribución BBB	Si	baja
Sustrato/Inhibidor de CYP1A2	/No	+/-
Sustrato/Inhibidor de CYP2C19	/No	+++/-
Sustrato/Inhibidor de CYP2C9	/No	++/-
Sustrato/Inhibidor de CYP2D6	/No	+/-
Sustrato/Inhibidor de CYP3A4	/No	-/-
Lipinski	Sí; 0 violación	Aceptado
Mutagénesis de Ames	-	-

Valores calculados SwissADME; y ADMETlab

En la tabla 6, están los descriptores ADME (Absorción Distribución Metabolismo y Excreción). La línea celular Caco 2 es una línea de células epiteliales de cáncer de colon humano, son utilizadas para la evaluación de la permeabilidad de fármacos in vitro. La permeabilidad de Caco-2 predicha de un compuesto dado tiene dimensiones log cm/s. Se considera que un compuesto tiene una permeabilidad de Caco-2 adecuada si tiene un valor predicho >-5,15. En este estudio se obtuvo un resultado teórico de -4.41, es decir presenta una buena absorción. Muy relacionado a este parámetro se tiene al log P el logaritmo del coeficiente de distribución n-octanol/agua. log P es un parámetro muy útil con un impacto considerable tanto en la permeabilidad de la membrana como

en la unión hidrofóbica a macromoléculas, incluido el receptor objetivo, así como otras proteínas como proteínas plasmáticas, transportadores o enzimas metabolizadoras; Los compuestos en el rango de 0 a 3 log mol/L se considerarán adecuados. La unión de un fármaco a las proteínas del plasma (PBB) tiene una gran influencia en su comportamiento farmacodinámico. El PBB puede influir directamente en la biodisponibilidad oral porque la concentración libre del fármaco está en juego cuando un fármaco se une a las proteínas séricas en este proceso; el eucaliptol presenta un PBB aceptable. La familia del citocromo P450 humano (abreviados como CYP, son enzimas de fase I de reacciones oxidativas) contiene 57 isoenzimas y estas isoenzimas metabolizan aproximadamente dos tercios de los fármacos conocidos en humanos con el 80 % de este atributo en cinco isoenzimas: 1A2, 3A4, 2C9, 2C19 y 2D6. La mayoría de estos CYP responsables de las reacciones de fase I se concentran en el hígado. El resultado de salida cualitativo muestra la probabilidad de ser sustrato/inhibidor. Finalmente, en la prueba de Ames para mutagenicidad, el efecto mutagénico tiene una estrecha relación con la carcinogenicidad, y es el ensayo más utilizado para probar la mutagenicidad de los compuestos, muestra que el eucaliptol no es mutagénico.

7.1.2 Resultados del Acoplamiento molecular del ligando eucaliptol con la Main proteasa del SARS Cov-2

A continuación mencionamos los softwares, programas y servidores en línea utilizados para realizar el acoplamiento molecular, 1-click docking [79], Covid 19 docking server [80], CB dock [81], Docking server [82], Webina[83], además de los software PyRx [84] que utiliza los archivos de Autodock vina y autodock tools, Amdock [85] *Assisted Molecular Docking with Autodock4 and Autodock Vina SOFT* y el Command prompt o CMD que también utiliza los motores de Autodock vina y autodock tools

Los análisis de docking dejan como resultado valores de Binding Affinity (BA) cuyas unidades son Kcal/mol, es decir estos datos corresponden a la energía libre de Gibbs, por tanto, mientras más bajo sea el valor, más alta será la afinidad entre el ligando y el receptor [86].

Presentamos los resultados y discusión del acoplamiento entre la proteasa principal del coronavirus SARS Cov-2 y el ligando eucaliptol, las visualizaciones se realizaron con los software Chimera 1.16 [89]; Discovery Studio 2021[90]; Molegro Molecular Viewer v7.0 2019[91], Schrodinger maestro 13.2 v2022 [92] ; y Pymol 2.5.0 [93]

Las figuras siete 7 y ocho 8 muestran el acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2; seis servidores PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server, Webina mostraron esta interacción entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (en magenta). visualizada en Chimera1.16

La main proteasa del SARS Cov-2 se puede apreciar en color amarillo, y el eucaliptol en color magenta. Esta conformación se obtuvo con seis (6) de los ocho (8) servidores y programas utilizados para obtener el acoplamiento molecular, el eucaliptol está ubicado en el sitio activo más probable detectado en la proteasa viral. Este sitio activo geométrica y topológicamente activo de la proteína, presenta una cavidad superficial que incluye al sitio activo en este blanco, en la cadena A de la proteasa del SARS Cov-2 el sitio activo presenta un volumen de 226 \AA^3 con las coordenadas (-13.5, 11.3, 71.6) y los siguientes aminoácidos activos: Arg 188, His 41, Pro 168, Met 49, Cys 145, Thr 190, Asp 187, Glu 166, His 164, Tyr 54, Gln 189, Met 165, Leu 167, Gln 192; este sitio activo se determinó con el servidor CASTp_ [78] que calcula la superficie topológica y geométrica en las proteínas, ofreciendo servicios en línea y ampliamente utilizado desde 2003.

Cabe mencionar que hasta la fecha 31 de agosto 2023 en el banco de datos de proteínas (PDB) banco de datos mundial, no está reportado o archivado la molécula de eucaliptol acoplada con la proteasa del SARS Cov-2. Por este motivo no se pudo realizar una comparación con un modelo experimental.

Figura 7 Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2

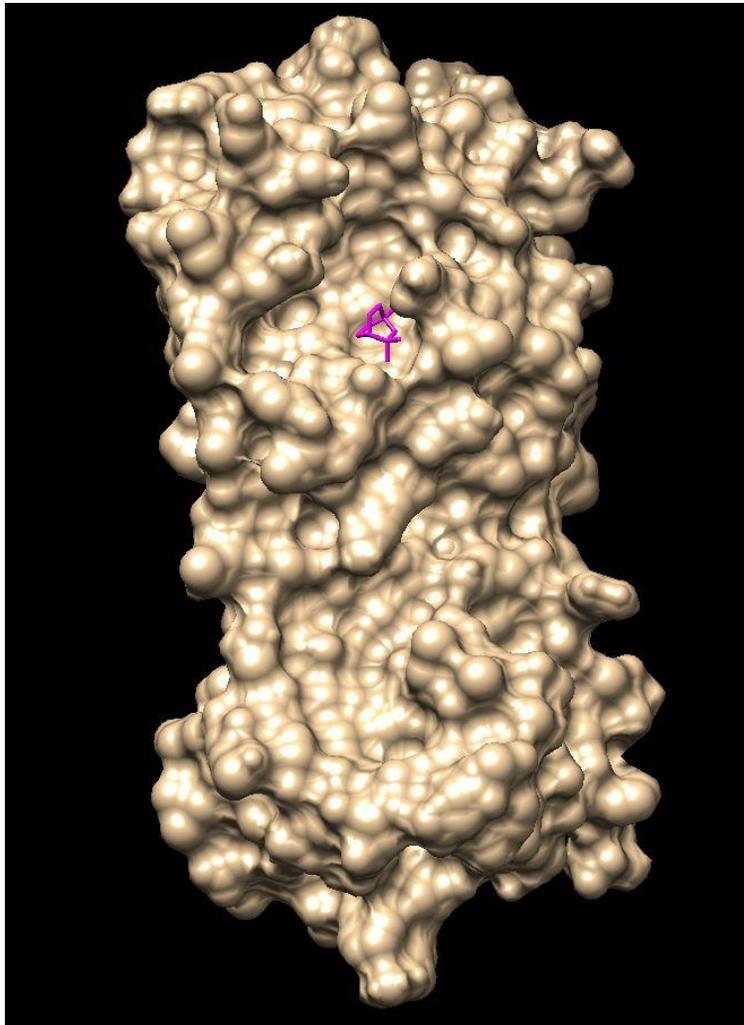


Imagen obtenida en el docking molecular con 6 servidores (PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server, Webina) entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (en magenta). Visualizador Chimera 1.16

[Ctrl+Click para ver video](#)

Figura 8 *Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2*

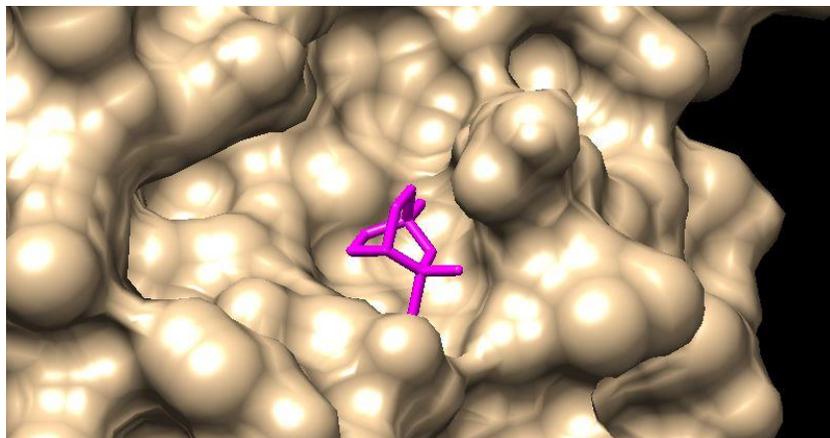


Imagen Acercamiento para visualizar el acoplamiento molecular con 6 servidores entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (en magenta). Visualizador Chimera 1.16

En las figuras nueve 9 y diez 10, se muestran el acoplamiento molecular con el servidor Covid 19 server entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (plomo) y con el servidor CBDock entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (azul).

En la Figura 9 se observa el acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con el servidor Covid 19 server, el eucaliptol está en plomo y la proteína en amarillo. En la Figura 10, el acoplamiento con el servidor CBDock entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (azul). Visualizador Chimera 1.16, estos dos servidores dan resultados muy similares, encontrándose un RMSD entre ellos de 0,488, al no contar con el acoplamiento experimental en el banco de datos de proteína PDB, se compararon las estructuras obtenidas entre la estructura obtenida por CMD es decir con el command prompt, el RMSD de estas dos estructuras puede apreciarse en la tabla 7, teniendo un valor de 3,031 y 3,079 valores altos para ser considerados como conformaciones ideales pero que tampoco podemos descartar ya que no podemos realizar la comparación con la estructura cristalizada del eucaliptol con la proteasa ya que esta no se encuentra en el PDB data bank.

Figura 9 *Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con Covid 19 server*

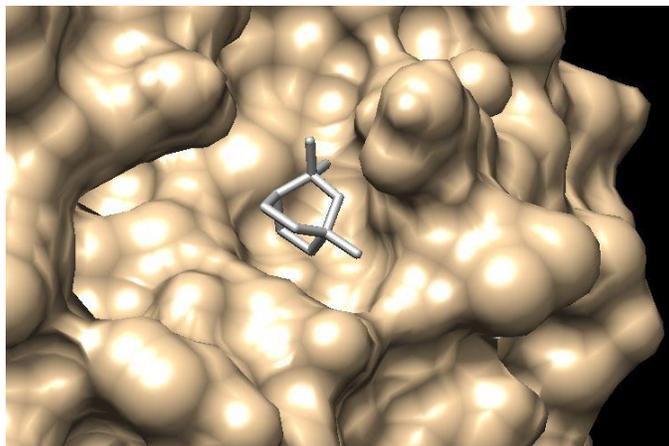


Imagen Acercamiento para visualizar el acoplamiento molecular con el servidor Covid 19 server entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (plomo). Visualizador Chimera 1.16

Figura 10 *Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con CBDock*

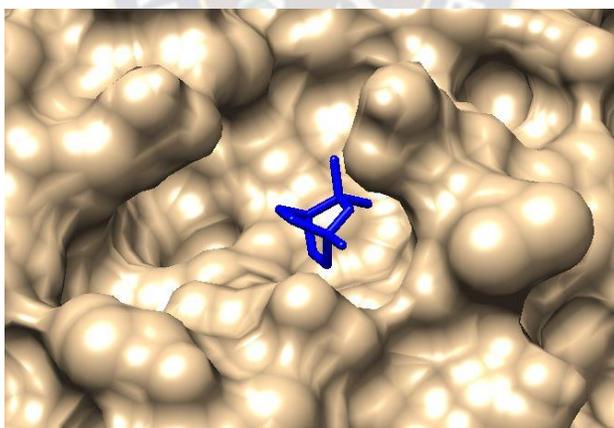


Imagen Acercamiento para visualizar el acoplamiento molecular con el servidor CBDock entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en amarillo) y el eucaliptol (azul). Visualizador Chimera 1.16

De la figura 11 a la figura 14 se muestran los mismos acoplamientos con el visualizador Molegro virtual Docker

Figura 11 *Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2*

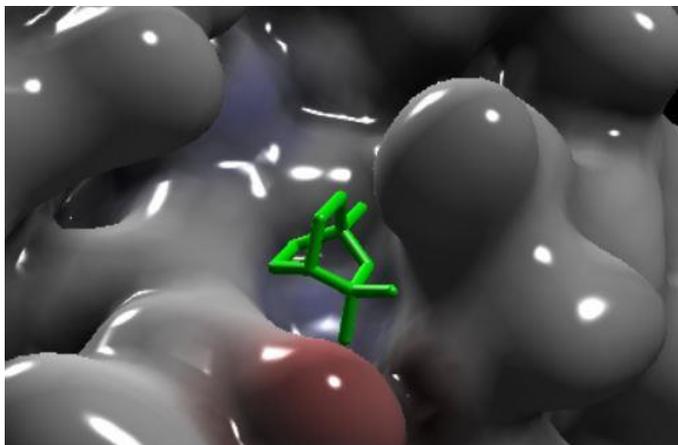
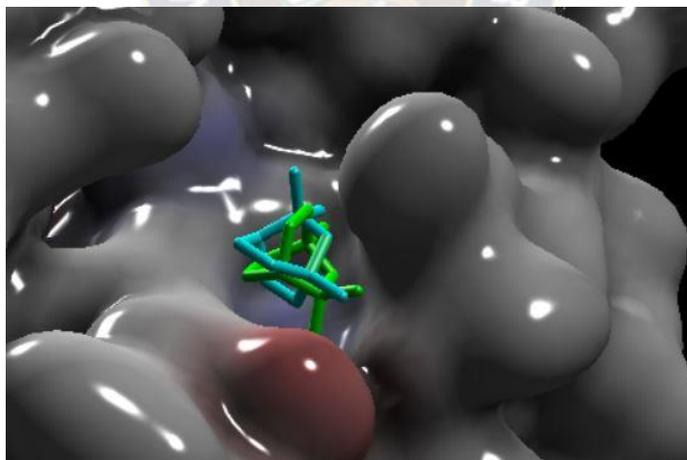


Imagen para visualizar el acoplamiento molecular con 6 servidores entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en plomo) y el eucaliptol (en verde). Visualizador Molegro virtual

[Ctrl+click para ver video](#)

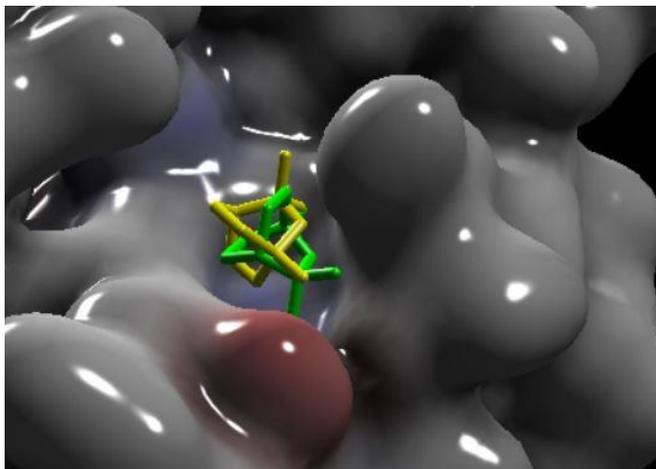
Figura 12 *Comparación CBDok y 6 servidores de Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2*



Comparación entre el acoplamiento entre el eucaliptol en celeste obtenido con CB dock y el eucaliptol en verde obtenido por 6 servidores (PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server, Webina) Visualizador Molegro virtual Docker

[Ctrl+click para video](#)

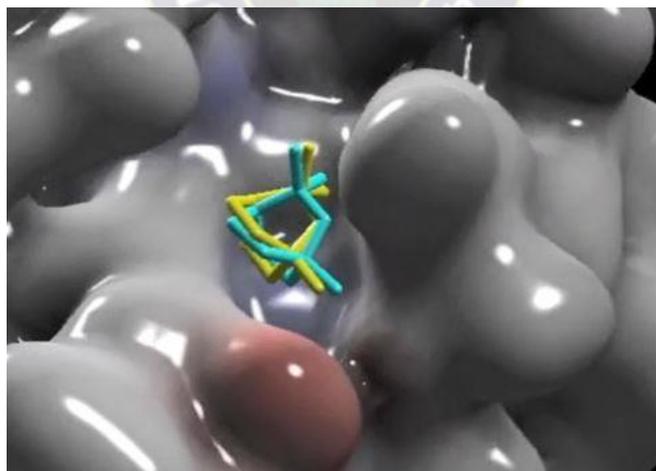
Figura 13 Comparación Covid 19 server y 6 servidores de Acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2



Comparación entre el acoplamiento entre el eucaliptol en amarillo obtenido con Covid 19 server y el eucaliptol en verde obtenido por 6 servidores (PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server, Webina) Visualizador Molegro virtual Docker

[Ctrl+click ver video](#)

Figura 14 Comparación del acoplamiento Covid 19 server y CBDock



Comparación entre el acoplamiento entre el eucaliptol en amarillo obtenido con Covid 19 server y el eucaliptol en celeste obtenido con CBDock. Visualizador Molegro virtual Docker

[Ctrl+click ver video](#)

Figura 15 Acercamiento del acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2

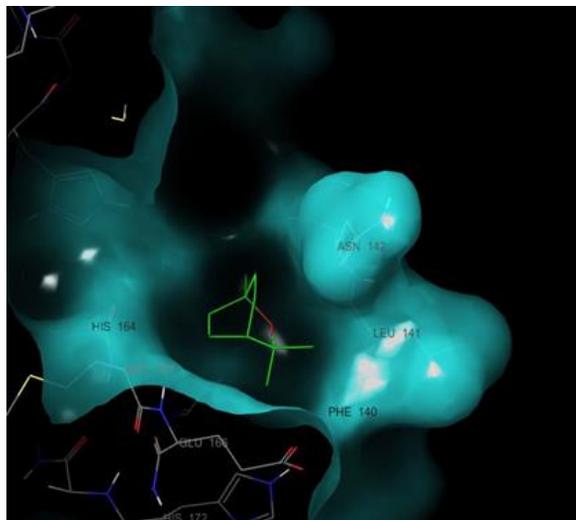
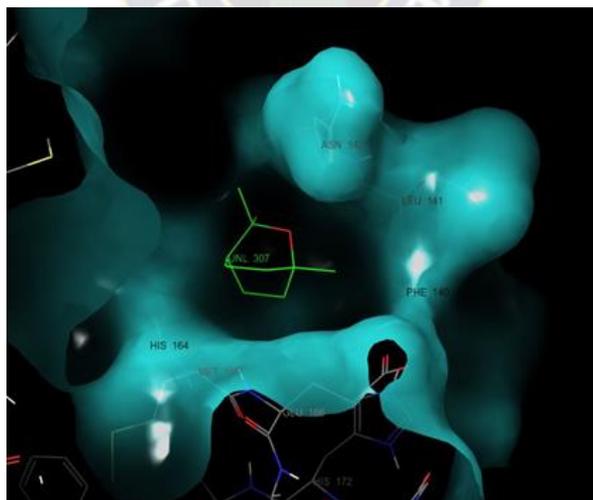


Imagen muestra el acoplamiento molecular con 6 servidores entre la Main proteasa del SARS Cov-2 (en celeste) y el eucaliptol (en verde). Visualizador Schrodinger maestro 13.2

[Ctrl+click ver video](#)

Figura 16 Acoplamiento del eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 con CB dock y Covid 19 server



Acoplamiento con 2 servidores CB dock y Covid 19 server en la cavidad activa de la main proteasa del SARS Cov-2. Visualizador Schrodinger maestro 13.2

[Ctrl+click ver video](#)

En la Tabla 7, se muestran los valores de la energía de unión (BA), los valores de RMSD (Root mean Square deviation o raíz de la desviación estándar cuadrada), los valores de Kd (constante de disociación del docking), la eficiencia de enlace (E.L) y los aminoácidos involucrados en el acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa principal del SARS Cov-2 con los ocho servidores utilizados para ejecutar el acoplamiento.

Tabla 7 *Energía de unión, RMSD, constante de disociación del docking, eficiencia de enlace (E.L) entre el eucaliptol y la main proteasa principal del SARS Cov-2*

Docking	Energía de unión (kcal/mol)	RMSD	Kd(M)	E.L kcal/mol/at No Hidrogenos	Aminoácidos involucrados en la interacción
PyRx Autodock Vina	-4,5 kcal/mol	0,033	$6,74 \times 10^{-4}$	-0,40909	Phe 140, Cys 145, His 163, His 164 Met 165, Glu 166, His 172
1 click docking mcule	-4,2 kcal/mol	0,066	$1,097 \times 10^{-3}$	-0,38181	Phe 140, Cys 145, His 163, His 164, Met 165, Glu 166, His 172
CMD Símbolo del Sistema	-4,5 kcal/mol	0,000	$6,74 \times 10^{-4}$	-0,40909	Phe 140, Leu 141, Ser 144, Cys 145, His 163, His 164, Met 165, Glu 166, His 172
Webina	-4,5 kcal/mol	0,033	$6,74 \times 10^{-4}$	-0,40909	Phe 140, Cys 145, His 163, His 164 Met 165, Glu 166, His 172
Amdock	-4,5 kcal/mol	0,042	$6,74 \times 10^{-4}$	-0,41000	Phe 140, Cys 145, His 163, His 164, Met 165, His 172,
Docking Server	-5,4 kcal/mol	0,010	$1,56 \times 10^{-4}$	-0,49090	Phe 140, Cys 145, His 163, His 172, Glu 166, Ser 144, Asn 142
CB dock	-5,0 kcal/mol	3,031	$2,99 \times 10^{-4}$	-0,45454	Phe 140, Cys 145, His 163, His 164 Met 165

Covid Server	-4,3kcal/mol	3,079	9,32x10 ⁻⁴	-0,39090	Phe 140, Cys 145, His 163, His 164 Met 165
--------------	--------------	-------	-----------------------	----------	---

Energía de unión, RMSD, constante de disociación, eficiencia de enlace (L.E) del docking entre el eucaliptol y la main proteasa principal del SARS Cov 2 encontrados con los 8 programas de docking molecular. Los RMSD se calcularon en base al CMD.

Con las conformaciones obtenidas se obtuvo la energía libre de Gibbs para la unión entre el eucaliptol y la proteasa viral, parámetro energético que es calculado por los programas respectivos y presentada en forma de afinidad energética. Mediante el uso de la expresión:

$\Delta G^\circ = -RT \ln K_d$, se calculó la constante de equilibrio K_d para cada una de las interacciones. Como se puede apreciar las constantes K_d tienen valores expresados en molar muy bajos, hecho que indica Christopher W. Murray en sus trabajos de validaciones de ligandos [87], basándonos en estos hallazgos podemos afirmar que la molécula de eucaliptol y su objetivo biológico el sitio activo de la main proteasa del SARS Cov-2 se unirían fuertemente, este indicador de afinidad se muestra en la tabla 7.

Otro enfoque es analizar el valor de la eficiencia de enlace L.E. que representa una medida que relaciona la energía libre de unión con el tamaño de la molécula. Con la ecuación [88] $E.L. = \Delta G^\circ / n$ donde E.L. representa a la *eficiencia de enlace en Kcal/mol* y n representa el número de átomos que no incluye a los átomos de hidrogeno. Los valores para este indicador de afinidad también se muestran en la tabla 7. Según la ecuación para hallar la eficiencia de enlace, a medida que aumenta la eficiencia de enlace, disminuye el peso molecular de la molécula en estudio en nuestro caso el eucaliptol con un peso molecular de 154 g/mol constituye un ligando pequeño hecho que promovería una buena eficiencia de enlace. La eficiencia de enlace es uno de los índices más utilizados en la actualidad, es expresado en Kcal/mol/átomos que no son hidrogeno [88], proporciona una idea de la magnitud de energía de enlace por átomo distinto al de hidrogeno. Hay

que tener presente que el valor de la eficiencia de enlace debe ser negativo, ya que la energía libre de unión es negativa.

En la misma Tabla 7, se muestran los valores de RMSD, se reitera que los valores en cada servidor y/o programa e interfaz dio el valor de cero, fueron esas estructuras conformacionales que fueron seleccionadas por este valor nulo, al no contar con la estructura cristalográfica de acoplamiento entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS Cov-2 en el banco de datos de proteínas, es que se procedió a calcular nuevamente los valores de RMSD que se ven en la Tabla 7 pero comparando con la estructura química conformacional obtenida con el command prompt CMD.

La Tabla 8 muestra las interacciones de carácter hidrofóbico que se presentaron entre el eucaliptol y la proteasa viral, se muestran los residuos de aminoácidos de la proteasa y las distancias entre el ligante (eucaliptol) y la proteasa viral; en la Tabla 9 se muestran las interacciones detectadas por puente de hidrogeno, donde se indican los átomos donador y aceptor. Ambos tipos de interacción también se pueden apreciar desde las figuras 17,18,19,20,21,22,23, hasta la Figura 24.

Tabla 8 Interacciones Hidrofóbicas

Hidrofóbicas	Residuo	Aminoácido	Distancia A°	Átomo ligante	Átomo en la proteína
PyRx	140 A	Phe	3.72	2904C	1340C
Autodock	166 A	Glu	3.81	2896C	1583C
Vina					
1 click	140 A	Phe	3.71	2904C	1340C
docking	166 A	Glu	3.79	2896C	1583C
mcule					
CMD	140 A	Phe	3.71	2904C	1340C
Símbolo del sistema	166 A	Glu	3.84	2896C	1583C
Webina	140 A	Phe	3.71	2904C	1340C
	166 A	Glu	3.82	2896C	1583C
Amdock	140 A	Phe	3.71	2904C	1340C
	166 A	Glu	3.84	2896C	1583C
Docking server	140 A	Phe	3.35	2904C	1340C
	166 A	Glu	3.54	2896C	1583C
CB dock	142 A	Asn	3.76	2380C	1099C
	166 A	Glu	3.67	2374C	1283C
Covid Server	142 A	Asn	3.76	2380C	1099C
	166 A	Glu	3.67	2374C	1283C

Interacciones detectadas con PLIP Protein Ligand Interaction Profiler (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS CoV2 con los 8 softwares y servidores de acoplamiento. **PLIP**

Tabla 9 Interacciones por puentes de hidrogeno

Puentes de H	Residuo	Aminoácido	Distancia A°	Átomo donor proteína	Átomo aceptor Ligante Eucaliptol
PyRx Autodock Vina	163 A	His	3.21 H-A 4.08 D-A	N3 1553	O3 2905
1 click docking mcule	163 A	His	3.21 H-A 4.08 D-A	N3 1553	O3 2905
CMD Símbolo del sistema	163 A	His	3.20 H-A 4.08 D-A	N3 1553	O3 2905
Webina	163 A	His	3.21 H-A 4.08 D-A	N3 1553	O3 2905
Amdock	163 A	His	3.20 H-A 4.08 D-A	N3 1553	O3 2905
Docking server	-	-	-	-	-
CB dock	-	-	-	-	-
Covid Server	-	-	-	-	-

Interacciones detectadas con PLIP Protein Ligand Interaction Profiler (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS CoV2 con los 8 softwares y servidores de acoplamiento. **PLIP**

En el banco de datos de proteínas (PDB) hasta la fecha 31 de agosto 2023, no está reportado o archivado en este banco de datos mundial la molécula (eucaliptol) acoplada con la main proteasa del SARS Cov2. Por este motivo no se pudo realizar una comparación con un modelo experimental.

Tabla 10 Momentos dipolares hidrofóbicos en aminoácidos

Aminoácido	Momento dipolar hidrofóbico μ_a
Gly	0
Ala	0
Val	0,48
Leu	1,0
Ile	1,2
Pro	0,18
Cys	0,17
Met	1,9
Thr	1,5
Ser	0,73
Phe	1,1
Trp	1,6
Tyr	1,8
Asn	1,3
Gln	1,9
Asp	1,9
Glu	3,0
His	0,99
Lys	5,7
Arg	10

Tabla según Eisenberg, D 1982 ref [94]

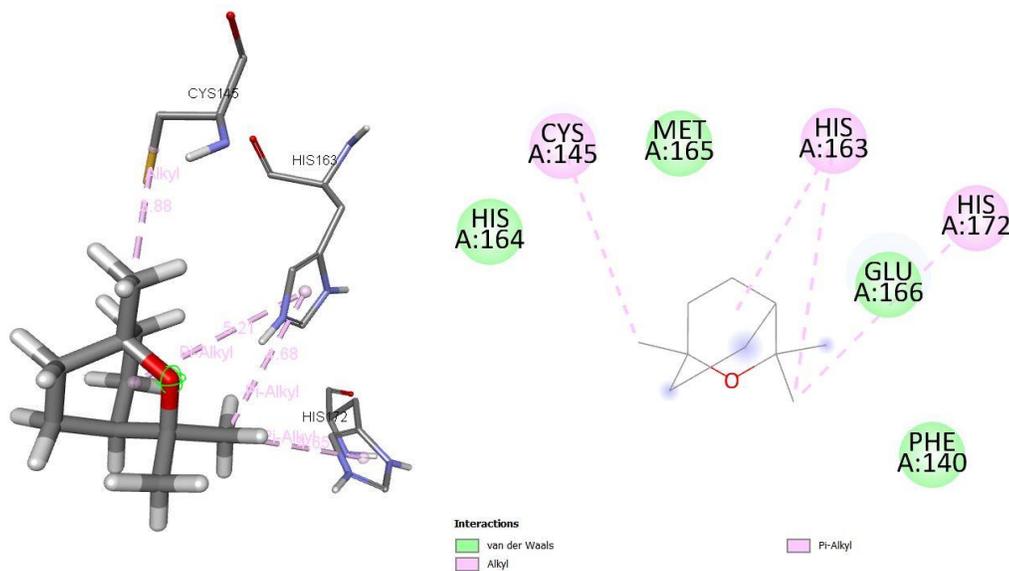
Tabla 11 *Escala de hidrofobicidad para aminoácidos*

Aminoácido	escala (Kcal/mol)
Ile	0,73
Phe	0,61
Val	0,54
Leu	0,53
Trp	0,37
Met	0,26
Ala	0,25
Gly	0,16
Cys	0,04
Tyr	0,02
Pro	-0,07
Thr	-0,18
Ser	-0,26
His	-0,40
Glu	-0,62
Asn	-0,64
Gln	-0,69
Asp	-0,72
Lys	-1,1
Arg	-1,8

Los valores corresponden a una escala de consenso. Los aminoácidos están ordenados en escala decreciente de hidrofobicidad y las magnitudes constituyen el valor necesario para la transferencia desde una fase hidrofóbica a una hidrofílica. Tabla según Eisenberg, D 1982 ref

[94]

Figura 17 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 software PyRx

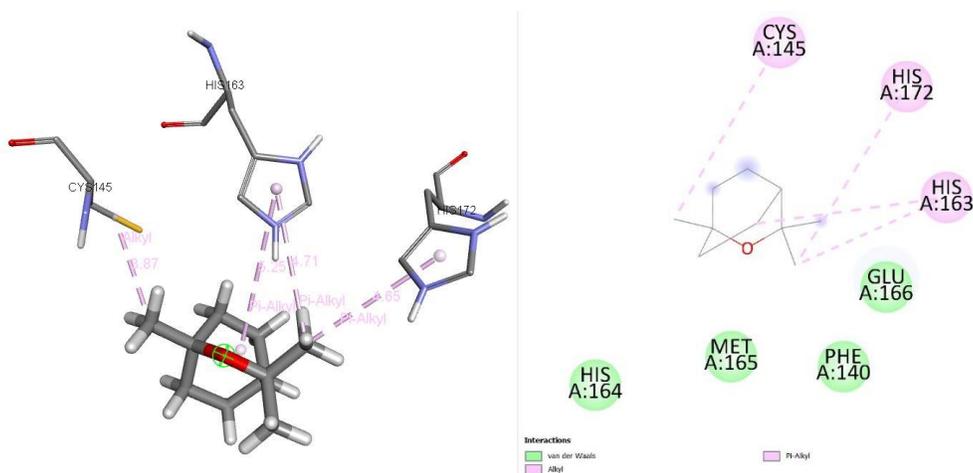


Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido por el software PyRx, visualizado en Discovery Studio 2021.

[Ctrl+click ver video](#)

El docking entre la proteasa y el eucaliptol realizado con PyRx que utiliza el software Autodock a través de su ejecutable vina.exe mostro 8 interacciones de las cuales 4 son de tipo hidrofóbico y 4 Van Der Waals. De las interacciones hidrofóbicas una es Alkyl con la Cys145 y las restantes 3 están formadas por una interacción hidrofóbica Pi-alkyl dos con la His163 y una con la His172. Las interacciones de Van der Waals se dan con los aminoácidos Phe140, His164, Met165 y Glu166. Ver Figura 17

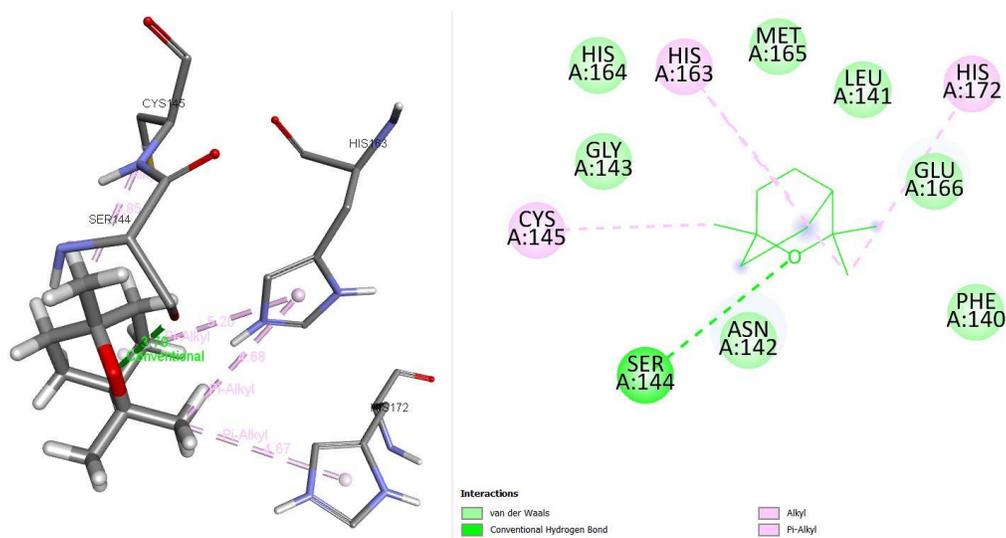
Figura 18 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 20211-Clik docking



Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido por el servidor 1-Clik docking, visualizado en Discovery Studio 2021. [Ctrl+click ver video](#)

El docking empleando el servidor 1-click docking presentó también 8 interacciones, cuatro hidrofóbicas Cys 145 alkyl, His 163 Pi-alkyl en dos regiones, His 172 Pi-alkyl, y cuatro interacciones Van Der Waals con los aminoácidos Phe 140, His 164, Met 165 y Glu 166. Ver Figura 18

Figura 19 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 CMD

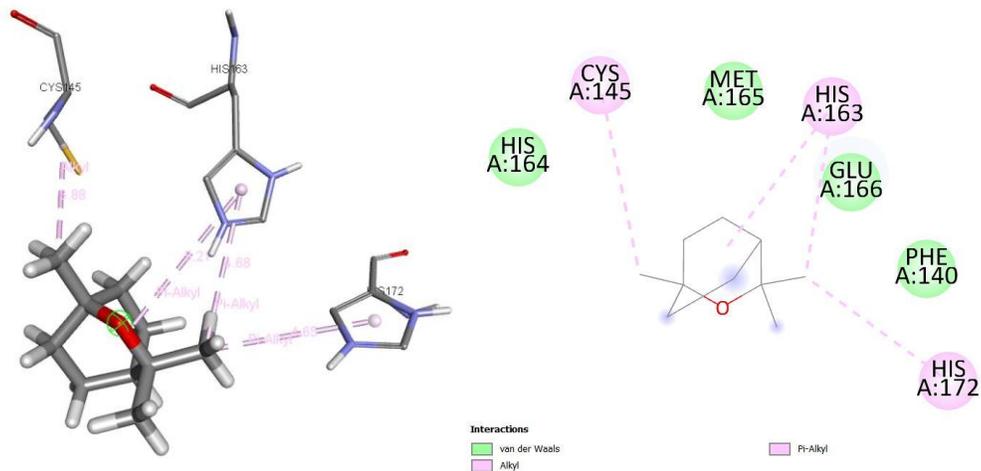


Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido con Command Prompt CMD, visualizado en Discovery Studio 2021. [Ctrl+click ver video](#)

El acoplamiento utilizando CMD (Command prompt) muestra 10 interacciones con aminoácidos clave en la proteasa principal del coronavirus.

Una con puente de hidrogeno entre el eucaliptol y la Ser144, 4 interacciones hidrofóbicas una tipo Alkyl con la Cys145, 3 Pi-alkyl de las cuales dos se presentan con el aminoácido His163 y una con la His172. Las interacciones de tipo Van Der Waals se presentaron con los aminoácidos Phe140, Leu141, His164, Met165, y Glu166. Ver Figura 19

Figura 20 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 Webina



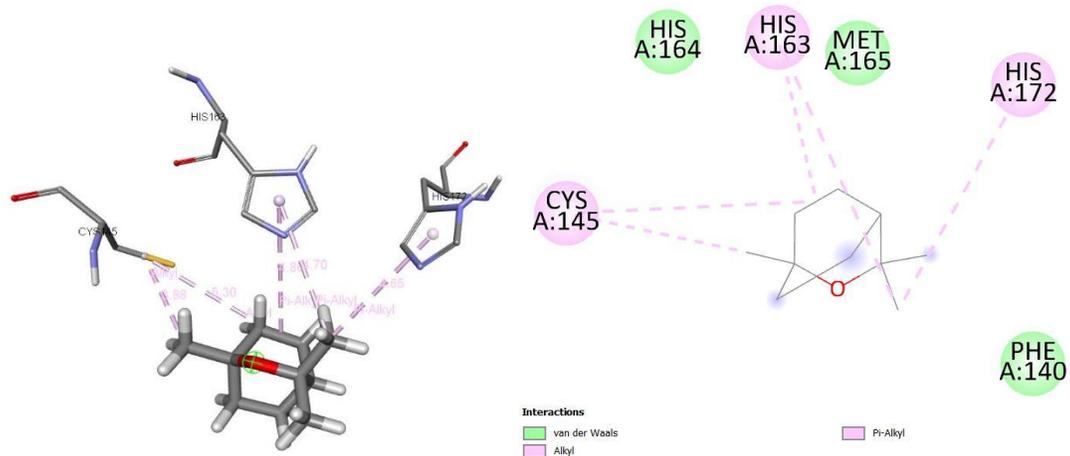
Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido con el servidor Webina, visualizado en Discovery Studio 2021.

[Ctrl+click ver video](#)

El acoplamiento usando el servidor Webina se presentaron 8 interacciones con los aminoácidos Cys 145, His 163, His 163, His 172, Phe 140, His 164, Met 165 y Glu 166

Cys 145 hidrofóbica tipo Alkyl, His 163 Hidrofóbica Pi-Alkyl, His 163 Hidrofóbica tipo Pi-Alkyl, His 172 Hidrofóbica Pi-Alkyl y las interacciones Van Der Waals con Phe 140, His 164, Met 165, Glu 166. Ver Figura 20

Figura 21 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 AMDock

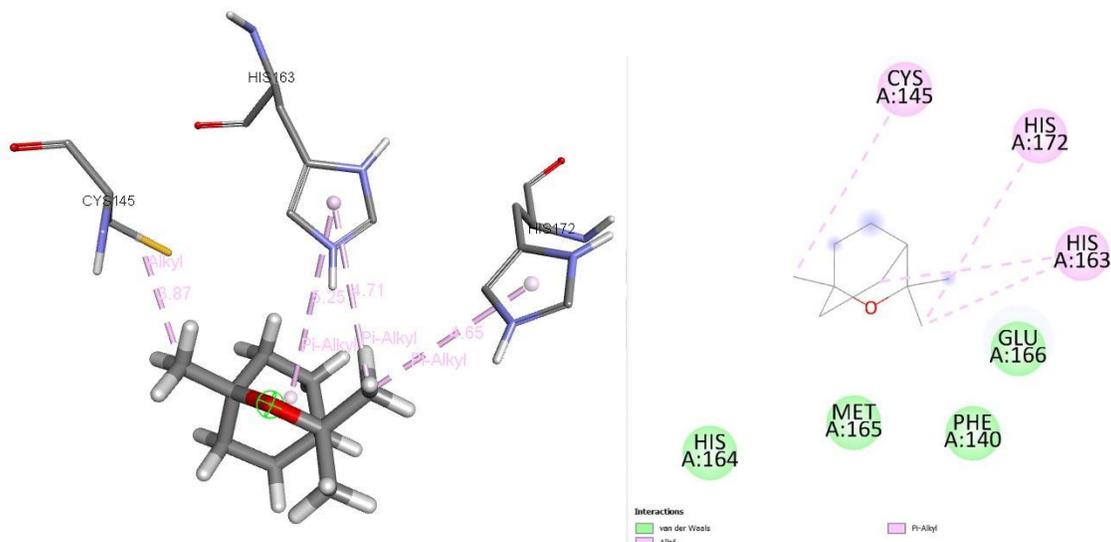


Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido con el servidor Amdock, visualizado en Discovery Studio 2021.

[Ctrl+click ver video](#)

Con el servidor Amdock, se obtuvieron 4 interacciones cinco interacciones hidrofóbicas, dos de las cuales se formaron con el aminoácido Cys 145 tipo Alkyl, dos con la His 163 Pi-alkyl, y un Pi-alkyl con His 172. Las interacciones Van Der Waals se presentaron con los aminoácidos Phe 140, His 164 y Met 165. Ver Figura 21

Figura 22 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 Docking Server

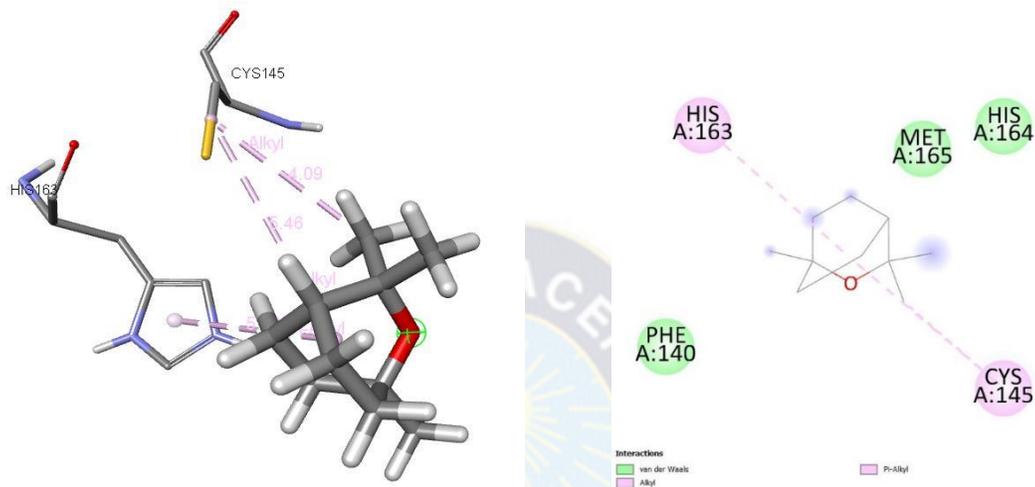


Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido con Docking Server, visualizado en Discovery Studio 2021.

[Ctrl+click ver video](#)

El docking empleando el servidor Docking server presentó 8 interacciones, cuatro hidrofóbicas Cys 145 alkyl, His 163 Pi-alkyl en dos regiones, His 172 Pi-alkyl, y cuatro interacciones Van Der Waals con los aminoácidos Phe 140, His 164, Met 165 y Glu 166. Ver Figura 22

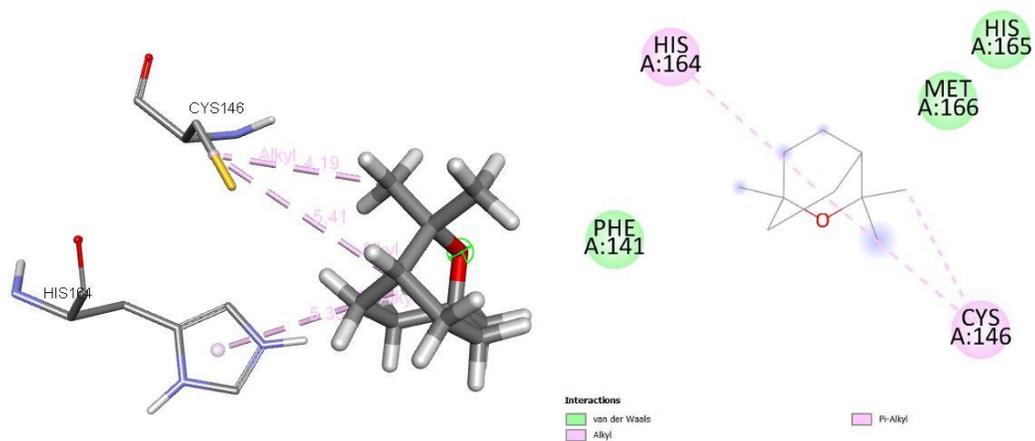
Figura 23 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021/CBDock



Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido con CBDock, visualizado en Discovery Studio 2021. [Ctrl+click ver video](#)

CB dock generó seis interacciones, dos interacciones hidrofóbicas tipo Alkyl con la Cys 145 y una Pi-alkyl con His 163. Las de Van Der Waals fueron con Phe 140, His 164 y Met 165. Ver Figura 23

Figura 24 Interacciones hidrofóbicas detectadas con Discovery Studio 2021 Covid 19 Server



Interacciones del eucaliptol con los aminoácidos de la main proteasa del SARS Cov-2. Líneas punteadas rosadas representan interacciones hidrofóbicas, aminoácidos en verde interacciones de tipo Van Der Waals. Obtenido con Covid 19 Server, visualizado en Discovery Studio 2021.

[Ctrl+click ver video](#)

Covid Server mostro seis interacciones, dos de las cuales tipo Alkyl con el aminoácido Cys 145 y una Pi-alkyl con His 163. Las tres interacciones Van Der Waals restantes fueron con los aminoácidos Phe 140, His 164 y Met 165. Ver Figura 24

El PLIP es una herramienta en línea, es un perfilador de la interacción proteína ligando de sus siglas en inglés (Protein Ligand Interaction Profiler <https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) PLIP

Utilizado esta herramienta, se detectaron las siguientes interacciones (ver fig 25 y 26):

PyRx , 1.click docking, CMD, Webina y Amdock y Docking server presentaron dos interacciones hidrofóbicas entre el ligando eucaliptol con los aminoácidos Phe 140 y Glu 166 de la main proteasa.

CB dock y Covid server en cambio mostraron dos interacciones hidrofóbicas entre el eucaliptol y los aminoácidos Asn 142 y Glu 166 de la main proteasa.

PyRx , 1.click docking, CMD, Webina y Amdock presentaron un puente de hidrogeno entre el oxígeno del eucaliptol y el hidrogeno perteneciente al nitrógeno de la His 163; puente no detectado con CB dock y Covid server.

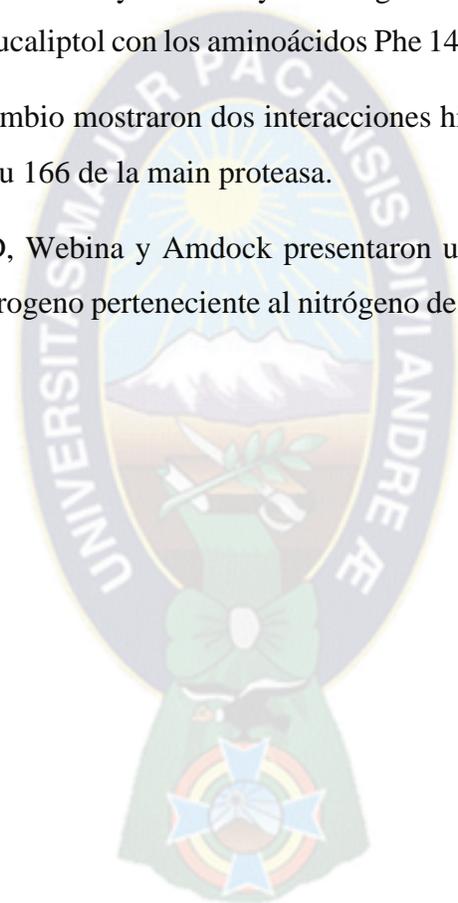
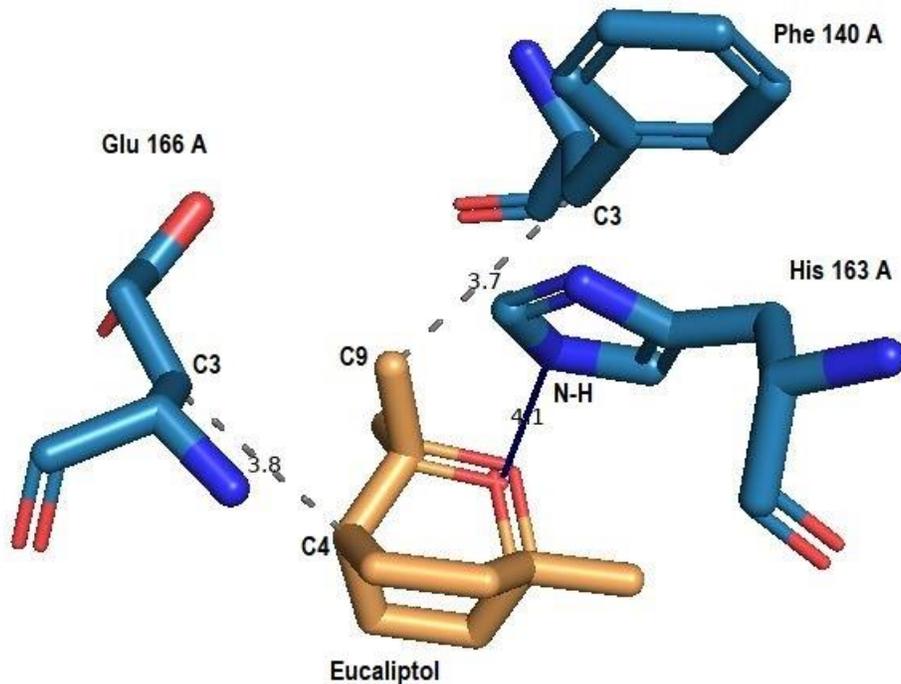
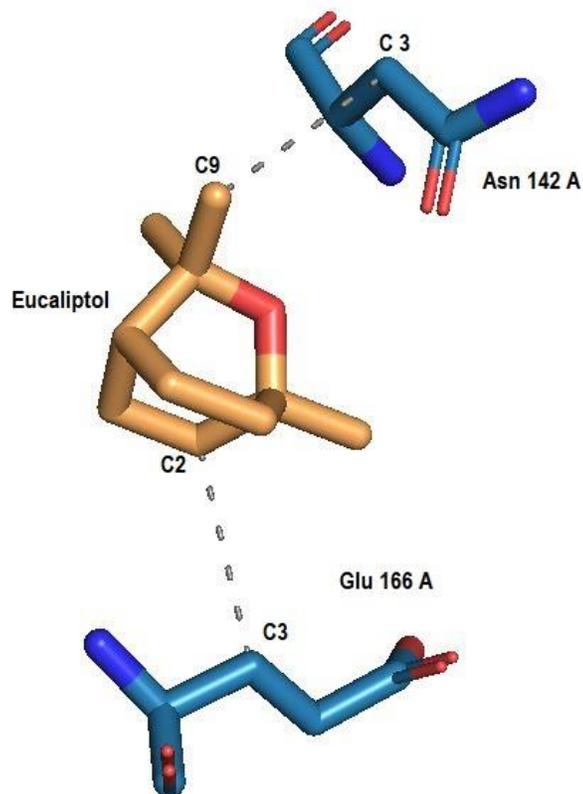


Figura 25 Interacciones por puente de Hidrogeno e hidrofóbicas detectadas con PLIP con PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server y Webina



Interacciones detectadas con PLIP Protein Ligand Interaction Profiler (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS CoV2 con 6 softwares y servidores de acoplamiento: PyRx, CMD, 1-Click docking, Amdock, Docking server y Webina. Líneas punteadas interacciones hidrofóbicas, línea continua puente de Hidrogeno.

Figura 26 Interacciones hidrofóbicas detectadas con PLIP con CBDOck y Covid 19 server



Interacciones detectadas con PLIP Protein Ligand Interaction Profiler (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>) entre el eucaliptol y la main proteasa del SARS CoV2 con 2 servidores de acoplamiento, CBDOck y Covid 19 server. Líneas punteadas interacciones hidrofóbicas.

Los siguientes descriptores químicos que se calcularon en el presente estudio, explicarían las interacciones entre el ligando eucaliptol y la proteasa principal del SARS Cov-2 que se presentaron y que se describieron anteriormente, especialmente las fuerzas de atracción de Van Der Waals y las interacciones hidrofóbicas.

El potencial químico μ hallado para el eucaliptol (tabla 2) describe como la densidad electrónica del sistema puede fluctuar, el flujo de electrones se da de una zona de alto potencial químico a una región de menor potencial químico, el valor negativo encontrado $\mu = -2,19$ eV muestra que la densidad electrónica del sistema puede variar de manera espontánea. Un descriptor muy relacionado al potencial químico de manera directa es la electronegatividad χ que para esta molécula tiene el mismo valor de signo contrario $\chi = 2,19$ eV e indica como la molécula tiende a atraer electrones sin cambiar su densidad electrónica.

En la Tabla 3 y Figura 5 se aprecia las energías de los orbitales frontera HOMO, HOMO-1, LUMO y LUMO+1 y los respectivos band-gap del eucaliptol. Se puede ver que la densidad electrónica de los orbitales HOMO se concentra en la región del oxígeno del eucaliptol y los carbonos C₆ C₃ C₄ C₈ C₉. El orbital LUMO en el eucaliptol presentó una densidad electrónica distribuida sobre los carbonos del anillo C₁ C₂ C₃ C₄ C₅ C₆ mostrando orbitales deficitarios o zonas positivas en las regiones de los hidrógenos especialmente los anulares.

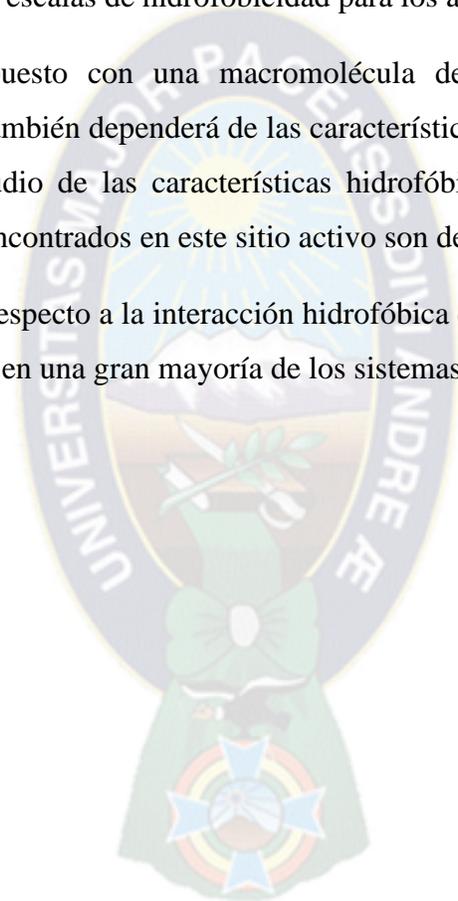
La diferencia de energías de los orbitales frontera HOMO LUMO, se denomina band-gap, el valor hallado para el eucaliptol fue de 8,1 eV (Tabla 3) y la diferencia entre HOMO-1 y LUMO+1 dio 9,8 eV (Tabla 3) este valor sugiere que se necesita mucha energía para que ocurra una transición electrónica. Muy relacionado a estas diferencias, se encuentra la dureza que expresa la separación entre HOMO y LUMO, el valor hallado para el eucaliptol fue de 4,05 eV que sugiere una buena estabilidad del sistema químico con baja tendencia a dar o recibir electrones.

En el desarrollo del presente estudio se encontró que la interacción hidrofóbica es muy predominante, este hecho nos exige recordar que los momentos hidrofóbicos según Eissenberg [94] son igual a la suma vectorial de los momentos hidrofóbicos individuales de cada componente en

una macromolécula, en nuestro caso los aminoácidos que forman parte del sitio activo de la proteasa del SARS Cov-2. Para considerar los momentos hidrofóbicos, se puede consultar la tabla de escalas de hidrofobicidad de los aminoácidos (tabla 10). Una interacción como la hidrofóbica en la cual aparentemente no existen enlaces parecería que siempre es inespecífica, lo que significa que dos o más átomos cualesquiera con cierto carácter hidrofóbico interactuaran entre sí. En la Tabla 11 se puede apreciar las escalas de hidrofobicidad para los aminoácidos.

La interacción de un compuesto con una macromolécula depende en gran parte de sus características hidrofóbicas, también dependerá de las características hidrofóbicas de la superficie macromolecular, en este estudio de las características hidrofóbicas del sitio activo ya que la mayoría de los aminoácidos encontrados en este sitio activo son de carácter hidrofóbico.

Finalmente, otro comentario respecto a la interacción hidrofóbica que fue mencionada es que este tipo de interacción tiene lugar en una gran mayoría de los sistemas biológicos.



CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES



8.1. Conclusiones

Los cálculos químico cuánticos, empleando la teoría DFT B3LYP/6-31G han sido aplicados sobre la estructura del eucaliptol, para investigar algunas propiedades geométricas, electrónicas, de reactividad química y descriptores ADME en un intento de comprender el comportamiento reactivo de este, con la finalidad de disponer de información preliminar para nuestro estudio de acoplamiento molecular del eucaliptol con la proteasa principal del coronavirus, problemática actual de gran relevancia.

Se lograron determinar la energía de los orbitales HOMO-LUMO con su respectivo band-gap, mostrando la molécula estudiada una gran estabilidad energética electrónica, se calculó y analizó el mapa de potencial electrostático (MPE) teórico y se logró establecer los sitios de mayor y menor densidad electrónica, empleando las funciones de Fukui se pudo establecer los sitios más susceptibles para que se lleve a cabo reacciones nucleofílicas, electrofílicas. Los valores de las funciones Fukui $f(+)$, mostraron los valores más altos en los carbonos C_2 C_3 C_5 y C_6 que conforman el anillo en el eucaliptol y los carbonos metilos C_9 C_{10} confiriéndoles características electrofílicas, haciéndolos susceptibles a ataques nucleofílicos. De manera similar se pudo analizar el valor más alto de las funciones Fukui $f(-)$ lo presentan los carbonos C_1 y C_8 indicando que son más susceptibles a un ataque electrofílico. Debemos mencionar también a los descriptores ADME hallados para el eucaliptol, que sugieren una buena absorción a través de las membranas y que el eucaliptol no es mutagénico desde el punto de vista de la química teórica. Esa parte del estudio intento entender desde la mecánica cuántica usando la Teoría de Funcionales de la Densidad DFT el tipo de reactividad que tendrá el eucaliptol al interactuar con otras moléculas o macromoléculas.

Con respecto al acoplamiento molecular o docking, el sitio activo en el blanco o receptor que constituye la proteasa del SARS Cov-2 geométrica y topológicamente activo de la proteína, presento una cavidad superficial que incluye al sitio activo en este blanco, en la cadena A de la proteasa del SARS Cov-2 el sitio activo presento un volumen de 226 \AA^3 con las coordenadas (-13.5, 11.3, 71.6) y los siguientes aminoácidos activos: Arg 188, His 41, Pro 168, Met 49, Cys 145,

Thr 190, Asp 187, Glu 166, His 164, Tyr 54, Gln 189, Met 165, Leu 167, Gln 192; este sitio activo se determinó con el servidor CASTp_ [78]

En el docking molecular, se obtuvieron las conformaciones del eucaliptol en el mencionado sitio activo de la proteasa del SARS Cov-2, seis de las conformaciones obtenidas con seis servidores y/o software presentan un RMSD de cero que corresponden a la energía de unión o energía de acoplamiento más probable (ver tabla7) con valores de -4,5 Kcal/mol esta energía se denomina también en los análisis de docking: Binding Affinity (BA) cuyas unidades son Kcal/mol, corresponden a la energía libre de Gibbs, por tanto, mientras más bajo sea el valor, más alta será la afinidad entre el ligando y el receptor [86]. Podríamos afirmar que esta conformación obtenida del eucaliptol es la más probable, pero hasta la fecha (31-08-2023 en el banco de datos de proteínas (PDB) no está reportado o archivado la molécula de eucaliptol acoplada con la main proteasa del SARS Cov2. Por este motivo no se pudo realizar una comparación con un modelo experimental.

Dos de los servicios en línea, Covid 19 server y CBDock dieron un RMSD entre ellos de 0,488, al no contar con el acoplamiento experimental en el banco de datos de proteína PDB, se compararon las estructuras obtenidas entre la estructura obtenida por CMD es decir con el command prompt, el RMSD de estas dos estructuras puede apreciarse en la tabla siete 7, teniendo un valor de 3,031 y 3,079 valores altos para ser considerados como conformaciones ideales pero que tampoco podemos descartar ya que no podemos realizar la comparación con la estructura cristalizada del eucaliptol con la proteasa ya que esta no se encuentra en el PDB data bank.

El entorno aminoacídico que rodea al eucaliptol constituyen los monómeros: Phe 140, Leu 141, Ser 144, Cys 145, His 163, His 164, Met 165, Glu 166, His 172 que se repiten en cada uno de los software y servicios en línea utilizados (ver Tabla 7)

Existe una predominancia de fuerzas de interacción hidrofóbica intermolecular en el acoplamiento, ya que las características hidrofóbicas del sitio activo se deben a que la mayoría de los aminoácidos encontrados en este sitio activo son de carácter hidrofóbico.

CAPÍTULO 9: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS



1. RAMIREZ, A. 2021. La medicina herbaria como prevención y tratamiento frente al Covid 19. Revista avft.com, 40(2): 1-6.
2. BRAVO, J. 2021. Actualizaciones sobre Coronavirus, covid 19, método personal de prevención antiviral basado en productos naturales, aceites esenciales, eucaliptol, alfapineno: mentisan; limpieza nasal, bucal y manual [3xal]. Desinfección de ambientes por eucalipto. Revista Boliviana de Química, 38(1): 01-13.
3. DIRECTORIO FORESTALMADERERO. 2015. La historia del Eucalipto [en línea] <<https://www.forestalmaderero.com/articulos/item/la-historia-del-eucalipto.html>> [consulta: 06 marzo 2022]
4. AMAYA, P. 2020. Evaluación de la obtención y uso del aceite esencial de eucalipto (*eucaliptus globulus*) como fungicida (ingeniero químico) [en línea], Fundación Universidad de América Facultad de Ingenierías <<https://repository.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/8101/1/6172326-2020-2-IQ.pdf>> [consulta: 11 enero 2022]
5. MONTERO, M. 2019. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*eucaliptus spp*) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. Revista Inv Vet Perú, 30(2): 932-938.
6. BOOM, E. 2018. Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales de Eucaliptos cultivados en Colombia. Información Tecnológica, 29(6): 57-66.
7. QUISPE, G. 2018. Efecto insecticida del aceite esencial del eucalipto (*eucaliptus globulus*) y altamisa (*franseria artemisioides*) contra el kcona (*eurysacca melanocampta*) del cultivo de la quinua (*chenopodium quinoa willd*) (ingeniero químico) [en línea], Universidad Nacional del Altiplano, facultad de Ingeniería Química, UNAP <http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/9185/Quispe_Ticono_Grettel_Geraldine.ppdf?sequence=1&isAllowed=y> [consulta: 06 enero 2022]

8. SHARMA, A., y KAUR, I. 2020. Eucaliptol (1, 8 cineole) from eucaliptus essential oil a potential inhibitor of COVID 19 corona virus infection by Molecular docking studies [en línea] <<https://www.preprints.org/manuscript/202003.0455/v1>> [consulta: 12 enero 2022]
9. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2020. Naming the Coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it [en línea] World Health Organization Suiza, <[https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)> [consulta: 08 marzo 2022]
10. FEHR, A. y PERLMAN, S. 2015. Coronaviruses an overview of their replication and pathogenesis (en línea), *Methods Mol Biol*, <https://links.springer.com/10.1007/978-1-4939-2438-7_1> [consulta: 08 marzo 2022]
11. GILBERT, G. 2020. Commentary: SARS, MERS an COVID-19 new threats; old lessons (en línea), *Int J Epidemiol*, <<https://academic.oup.com/ije/article/49/3/726/5828441>> [consulta: 06 marzo 2022]
12. TILOCCA, B., SOGGIU, A., MUSELLA, V., BRITTI, D., SANGUINETTI, M. y URBANI, A. 2020. Molecular basis of COVID-19 relationships in different species a one health perspective [en línea] *Microbes infect* <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.micinf.2020.03.002>> [consulta: 08 marzo 2022]
13. PASTRIAN, G. 2020. Genetic and molecular Basis of COVID-19 (SARS-CoV-2) Mechanism of Pathogenesis and Immune [en línea], *International journal of odontostomatology* <<http://dx.doi.org/10.4067/50718-381X2020000300331>> [consulta: 18 febrero 2022]
14. SRINIVASAN, S., CUI, H., GAO, Z., LIU, M. y MKANDAWIRE, W. 2020. Structural Genomics of SARS-CoV-2 Indicates Evolutionary Conserved Functional Rergions of Viral Proteins [en línea], *Viruses* <<http://dx.doi.org/10.3390%2Fv12040360>> [consulta: 10 marzo 2022]

15. RABAANN, A., AL-AHMED, S., HAQUE, S., SAH, R., TIWARI, R. y SINGH, Y. 2020. SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV: Comparative overview [en línea], InfezMed <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32275259/>> [consulta: 11 marzo 2022]
16. CHEN, Y., LIU, Q. y GUO, D. 2020. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis [en línea], J Med Virol <<https://dx.doi.org/10.1002%2Fjmv.25681>> [consulta: 11 marzo 2022]
17. NARAYANAN, K., RAMIREZ, S., LOKUGAMAGE, K. y MAKINO, S. 2015. Coronavirus nonstructural protein 1: Common and distinct functions in the regulation of host and viral gene expression [en línea], Virus Res <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virusres.2014.11.019>> [consulta: 11 marzo 2022]
18. ANGELETTI, S., BENVENUTO, D., BIANCHI, M., GIOVANETTI, M., PASCARELLA, S. y CICCOCCHI, M. 2020. COVID-2019: The role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis [en línea], Journal of Medical Virology <<https://doi.org/10.1002/jmv.25719>> [consulta: 13 marzo 2022]
19. CLAVERIE, J. 2020. A Putative Role of de-Mono-ADP-Ribosylation of STAT1 by the SARS-CoV-2 Nsp3 Protein in the Cytokine Storm Syndrome of COVID-19 [en línea], Viruses <<https://dx.doi.org/10.3390%2Fv12060646>> [consulta: 11 marzo 2022]
20. BÁEZ, Y., JOHN, S. y MESECAR, A. 2015. The SARS-coronavirus papain-like protease: Structure, function and inhibition by designed antiviral compounds [en línea], Antiviral Res <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2014.12.015>> [consulta: 15 marzo 2022]
21. SAKAI, Y., KAWACHI, K., TERADA, Y., OMORI, H., MATSUURA, Y. y KAMITANI, W. 2017. Two amino acids change in the nsp4 of SARS coronavirus abolishes viral replication. [en línea], Virology <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virol.2017.07.019>> [consulta: 11 marzo 2022]
22. BAFNA, K., KRUG, RM. y MONTELLIONE, G. 2020. Structural Similarity of SARS-CoV2 Mpro and HCV NS3/4A Proteases Suggests New Approaches for Identifying

- Existing Drugs Useful as COVID-19 Therapeutics [en línea], ChemRxiv <
<https://dx.doi.org/10.26434%2Fchemrxiv.12153615>> [consulta: 11 marzo 2022]
23. GUPTA, S., SINGH, A., KUSHWAHA, P., PRAJAPATI, K., SHUAIB, M. y SENAPATI, S. 2020. Identification of potential natural inhibitors of SARS-CoV2 main protease by molecular docking and simulation studies [en línea], Journal of Biomolecular Structure and Dynamics <<https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1776157>> [consulta: 11 marzo 2022]
24. WU, C., LIU, Y., YANG, Y., ZHANG, P., ZHONG, W. y WANG, Y. 2020. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods [en línea], Acta Pharmaceutica Sinica B <
<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.02.008>> [consulta: 19 marzo 2022]
25. BENVENUTO, D., ANGELETTI, S., GIOVANETTI, M., BIANCHI, M., PASCARELLA, S. y CAUDA, R. 2020. Evolutionary analysis of SARS-CoV-2: how mutation of NonStructural Protein 6 (NSP6) could affect viral autophagy [en línea], Journal of Infection <<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.058>> [consulta: 28 marzo 2022]
26. SNIJDER, E., DECROLY, E. y ZIEBUHR, J. 2016. Chapter Three - The Nonstructural Proteins Directing Coronavirus RNA Synthesis and Processing. Rev Advances in Virus Research Academic Press, vol. 96: 59-126.
27. HILLEN, H., KOKIC, G., FARNUNG, L., DIENEMANN, C., TEGUNOV, D. y CRAMER, P. 2020. Structure of replicating SARS-CoV-2 polymerase [en línea], Nature <
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2368-8>> [consulta: 06 septiembre 2021]
28. PENG, Q., PENG, R., YUAN, B., ZHAO, J., WANG, M. y WANG, X. 2020. Structural and Biochemical Characterization of the nsp12-nsp7-nsp8 Core Polymerase Complex from SARS-CoV-2. [en línea], Cell Reports < <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107774>> [consulta: 6 septiembre 2022]

29. LITTLER, D., GULLY, B., COLSON, R. y ROSSJOHN, J. 2020. Crystal Structure of the SARS-CoV-2 Non-structural Protein 9, Nsp9. [en línea], iScience <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.isci.2020.101258>> [consulta: 6 septiembre 2022]
30. ROMANO, M., RUGGIERO, A., SQUEGLIA, F., MAGA, G. y BERISIO, R. 2020. A Structural View of SARS-CoV-2 RNA Replication Machinery: RNA Synthesis, Proofreading and Final Capping. [en línea], < <https://dx.doi.org/10.3390%2Fcells9051267>> [consulta: 06 abril 2022]
31. YIN, W., MAO, C., LUAN, X., SHEN, D., SHEN, Q. y SU, H. 2020. Structural basis for inhibition of the RNA-dependent RNA polymerase from SARSCoV-2 by remdesivir [en línea] Science <<https://doi.org/10.1126/science.abc1560>> [consulta: 06 abril 2022]
32. JANG, K., JEONG, S., KANG, D., SP, N., YANG, Y. y KIM, D. 2020. A high ATP concentration enhances the cooperative translocation of the SARS coronavirus helicase nsP13 in the unwinding of duplex RNA [en línea] Sci Rep < <https://dx.doi.org/10.1038%2Fs41598-020-61432-1>> [consulta: 11 mayo 2022]
33. MA, Y., WU, L., SHAW, N., GAO, Y., WANG, J. y SUN, Y. 2015. Structural basis and functional analysis of the SARS coronavirus nsp14–nsp10 complex [en línea], Proc Natl Acad Sci USA < <https://dx.doi.org/10.1073%2Fpnas.1508686112>> [consulta: 11 marzo 2022]
34. KIM, Y., JEDRZEJCZAK, R., MALTSEVA, N., WILAMOWSKI, M., ENDRES, M. y GODZIK, A. 2020. Crystal structure of Nsp15 endoribonuclease NendoU from SARS-CoV-2 [en línea], Protein Science < <https://doi.org/10.1002/pro.3873>> [consulta: 03 junio 2022]
35. ZHANG, L., LI, L., YAN, L., MING, Z., JIA, Z. y LOU, Z. 2018. Structural and Biochemical Characterization of Endoribonuclease Nsp15 Encoded by Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus [en línea], Journal of Virology < <https://doi.org/10.1128/JVI.00893-18>> [consulta: 20 junio 2022]

36. MENACHERY, V., DEBBINK, K. y BARIC, R. 2014. Coronavirus non-structural protein 16: Evasion, attenuation, and possible treatments [en línea], *Virus Res* < <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.virusres.2014.09.009>> [consulta: 16 marzo 2022]
37. WANG, X., XIA, S., WANG, Q., XU, W., LI, W. y LU, L. 2020. Broad-Spectrum Coronavirus Fusion Inhibitors to Combat COVID-19 and Other Emerging Coronavirus Diseases [en línea], *International Journal of Molecular Sciences* <<https://doi.org/10.3390/ijms21113843>> [consulta: 08 agosto 2022]
38. WĘDROWSKA, E., WANDTKE, T., SENDEREK, T., PISKORSKA, E. y KOPINIŃSKI, P. 2020. Coronaviruses fusion with the membrane and entry to the host cell [en línea], *Ann Agric Environ Med* < <https://doi.org/10.26444/aaem/122079>> [consulta: 29 mayo 2022]
39. WALLS, A., PARK, Y., TORTORICI, M., WALL, A., MCGUIRE, A. y VEESLER, D. 2020. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein [en línea], *Cell Rev* <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>> [consulta: 09 agosto 2022]
40. HASSAN, S., CHOUDHURY, P. y ROY, B. 2020. SARS-CoV2 envelope protein: nonsynonymous mutations and its consequences [en línea], *Genomics Rev* < <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.ygeno.2020.07.001>> [consulta: 11 marzo 2022]
41. SCHOEMAN, D. y FIELDING, B. 2019. Coronavirus envelope protein: current knowledge [en línea], *Virology Journal* < <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>> [consulta: 17 abril 2022]
42. MALIK, Y. 2020. Properties of Coronavirus and SARS-CoV-2 [en línea], *Malays J Pathol* < <http://www.mjpath.org.my/2020/v42n1/properties-of-coronavirus.pdf>> [consulta: 14 agosto 2022]
43. SATARKER, S. y NAMPOOTHIRI, M. 2020. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 [en línea], *Arch Med Res* < <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.arcmed.2020.05.012>> [consulta: 02 julio 2022]

44. HASAN, S. y HOSSAIN, M. 2020. Analysis of COVID-19 M Protein for Possible Clues Regarding Virion Stability, Longevity and Spreading [en línea], Open Science Framework; <<https://doi.org/10.31219/osf.io/e7jkc>> [consulta: 04 julio 2022]
45. ZENG, W., LIU, G., MA, H., ZHAO, D., YANG, Y. y LIU, M. 2020. Biochemical characterization of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein [en línea], Biochem Biophys Res Commun <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.bbrc.2020.04.136>> [consulta: 03 agosto 2022]
46. INFORME SARS COV-2 –Argentina. 2020. FIBA Fundación para Investigaciones Biológicas Aplicadas [en línea] <<https://fibamdp.wordpress.com/2020/03/23/informe-sars-cov-2-argentina/>> [consulta: 11 marzo 2022]
47. CHANG, C., HOU, M., CHANG, C., HSIAO, C. y HUANG, T. 2014. The SARS coronavirus nucleocapsid protein – Forms and functions [en línea], Antiviral Res <<https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.antiviral.2013.12.009>> [consulta: 16 mayo 2022]
48. YOSHIMOTO, F. 2020. The Proteins of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS CoV-2 or n-COV19), the Cause of COVID-19 [en línea], Protein J Rev <<https://dx.doi.org/10.1007%2Fs10930-020-09901-4>> [consulta: 17 septiembre 2022]
49. GÓMEZ, F., SILVA, H. y PÉREZ, P. 2010. Bioinformática Aplicaciones a la genómica y proteómica [en línea], México, Ed. Colegio de Postgraduados, edición electrónica <https://www.researchgate.net/profile/Fernando-GomezMerino/publication/253408324_Bioinformatica_Aplicaciones_en_Genomica_y_Proteomica/links/0046351f90d6a783b1000000/Bioinformatica-Aplicaciones-en-Genomica-y-Proteomica.pdf> [consulta: 19 septiembre 2022]
50. SCIOR, T., MARTINEZ, E. y SALINAS, E. 2007. Los modelos in silico. Una herramienta para el conocimiento farmacológico [en línea], México, Rev. Redalyc, <<https://www.redalyc.org/pdf/294/29406806.pdf>> [consulta: 07 marzo 2022]
51. ALBERG, D. y SCHREIBER, S. 1993. Structure-based design of a cyclophilin-calcineurin bridging ligand [en línea], Rev. Science Volumen 262(5131), <<https://www.science.org/doi/10.1126/science.8211144>> [consulta: 13 octubre 2022]

52. SHOICHET, B., MCGOVERN, S., WEI, B. y IRWIN, J. 2002. Lead discovery using molecular docking. Rev. Current Opinion in Chemical Biology, 6(4): 439-446.
53. FERREIRA, L., DOSSANTOS, R. OLIVA, G y ANDRICOPULO, A. 2015. Molecular docking and structura-based drug design strategies. Rev. Molecules, 20(7): 13384-13421.
54. PRIETO, F. y MEDINA, J. 2019. Diseño de fármacos asistido por computadora: cuando la informática, la química y el arte se encuentran. Rev. TIP Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 21(2): 124-134.
55. SPYRAKIS, F. y CAVASOTTO, C. 2015. Open challenges in structure-based virtual screening: Receptor modeling, target flexibility consideration and active site water molecules description. Rev. Archives of Biochemistry and Biophysics, 583: 105-119.
56. MALVERN PANALYTICAL LTD. 2020. No title [en línea], <<https://www.malvernpanalytical.com/es/products/measurement-type/binding-affinity>> [consulta: 15 octubre 2022]
57. MCMURRY, J., MONDARGON, C. y POZO, V. 2008. Química Orgánica. Rev. Cengage Learning México, Vol.5.
58. CHANG, R. y GOLDSBY, K. 2013. Química, Séptima edición. México, McGraw-Hill.
59. CAMBRIDGE MEDCHEM. 2020. Molecular Interactions [en línea], <https://www.cambridgemedchemconsulting.com/resources/molecular_interactions.html> [consulta: 03 noviembre 2022]
60. GALLIVAN, J. y DOUGHERTY, D. 2000. A computational study of cation- π interaction vs salt bridges in aqueous media: implications for protein engineering. Rev. Journal of the American Chemical Society, 122(5): 870-874.
61. STEINER, T. y KOELLNER, G. 2001. Hydrogen bonds with π -acceptors in proteins: frequencies and role in stabilizing local 3D structures. Rev. Journal of Molecular Biology, 305(3): 535-557.
62. NANDA, V. y SCHMIEDEKAMP, A. 2008. Are aromatic carbón donor hydrogen bonds linear in proteins?. Rev. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 70(2): 489-497.

63. SMITH, D. y WOERPEL, K. 2006. Electrostatic interactions in cations and their importance in biology and chemistry. *Rev. Organic & Biomolecular Chemistry*, 4(7): 1195-1201.
64. SHARMA, M. 2017. What is meant by pi-alkyl, pi-pi T shaped and pi-Sulphur interaction in protein-ligand binding? [en línea], ResearchGate, <https://www.researchgate.net/post/What_is_meant_by_pi-alkyl_pi-pi_T_shaped_and_pi-Sulphur_interaction_in_protein-ligand_binding> [consulta: 14 noviembre 2022]
65. SWAIN, C., SEWART, E., CASCIERI, M., FONG, T., HERBERT, R., MACINTYRE, D. y OWENS, A. 1995. Identification of a series of 3-(benzyloxy)-1-azabicyclo [2.2. 2] octane human NK1 antagonist. *Rev. Journal of Medicinal Chemistry*, 38(24): 4793-4805.
66. RINGER, A., SENENKO, A. y SHERRILL, C. 2007. Models of S/ π interactions in protein structures: Comparison of the H₂S-benzene complex with PDB data. *Rev. Protein Science*, 16(10): 2216-2223.
67. PUIG, R. 2022. Interacciones hidrofóbicas: en qué consisten, importancia biológica y ejemplos, [en línea], Lifeder: Ciencia, Biología < <https://www.lifeder.com/interacciones-hidrofobicas/>> [consulta: 25 noviembre 2022]
68. ZHU, N., ZHANG, D., WANG, W., LI, X., YANG, B. y SONG, J. 2019. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China. *N Engl J Med.*, 382(8): 727-733.
69. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2020. Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 [en línea] <<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>> [consulta: 06 febrero 2022]
70. CAI, Q., YANG, M. y LIU, D. 2020. Experimental treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study [en línea] ScienceDirect Ed. <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095809920300631?via%3Dihub>> [consulta: 22 febrero 2022]

71. VELLINGIRI, B., JAYARAMAYYA, K., IYER, M., NARAYANASAMY, A., GOVINDASAMY, V. y GIRIDHARAN, B. 2020. A promising cure for the global panic [en línea] PubMed Ed. < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32278175/>> [consulta: 06 marzo 2022]
72. LI, Y., LAI, Y., WANG, Y., LIU, N. y ZHANG, X. 2016. P. 1, 8-Cineol protect against influenza-virus-induced Pneumonia in Mice. *Inflammation*. 39(4): 1582-1593
73. YANG, Z., WU, N., YANG, G., WANG, W., ZU, Y. y EFFERT, T. 2010. Anti-Infectious Bronchitis Virus (IBV) Activity of 1, 8-cineole: Effect on Nucleocapsid (N) Protein. *Revista de Estructura y Dinámica Biomolecular*, 28(3): 323-330.
74. SHARMA, A. y KAUR, I. 2020. Bioactive molecules from eucalyptus essential oil as potential inhibitors of COVID 19 corona virus infection by molecular docking studies. *Rev. Kragujevac J. Sci.* 42(2020): 29-43.
75. SHARMA, A. y KAUR, I. 2020. Molecular docking and pharmacokinetic screening of eucalyptol (1, 8 cineole) from eucalyptus essential oil against SARS-CoV-2. *Rev. Notulae Scientia Biologicae*, 12(3): 536-545.
76. LATORRACA, N., VENKATAKRISHNAN, A. y DROR, R. 2016. GPCR Dynamics: Structures in motion. *Chem. Rev. American Chemical Society*, 117: 139-155.
77. SANCHEZ, A. 2000. *Química Computacional*. Universidad Málaga, pp. 80-82.
78. TIAN, W., CHEN, CH., LEI, X., ZHAO, J. y LIANG, J. 2018. CASTp 3.0: computed atlas of surface topography of proteins. *Rev. Nucleic Acid Research*, vol. 46: 363-367.
79. KISS, R., SÁNDOR, M., SZALAI, Z., SZALAI, F., y HAVANCSÁK, L. MCule: More than molecules/Click docking [en línea] < <https://mcule.com/apps/1-click-docking/>> [consulta: 06 marzo 2023]
80. INSTITUTE OF BIOINFORMATICS AND MEDICAL ENGINEERING y YAOZH.COM. 2018. COVID-19 Docking Server [en línea] < <https://ncov.schanglab.org.cn>> [consulta: 06 julio 2023]

81. YANG CAO LAB. 2021. CB Dock Cavity detection guided Blind Docking [en línea] < <https://cadd.labshare.cn/cb-dock2/php/blinddock.php>> [consulta: 06 julio 2023]
82. MOLECULAR DOCKING SERVER y VIRTUA DRUG LTD. 2006. Dockingserver [en línea] < <https://www.dockingserver.com/web>> [consulta: 06 julio 2023]
83. DURRANT LAB, COMPUTATIONAL BIOLOGY AND DRUG DISCOVERY. 2016. Webina 1.0.5. AutoDock Vina Ported to WebAssembly [en línea] < <https://durrantlab.pitt.edu/webina/>> [consulta: 06 julio 2023]
84. SOURCEFORGE. 1999. PyRx - Virtual Screening Tool Virtual Screening software for Computational Drug Discovery [en línea] < <https://sourceforge.net/projects/pyrx/>> [consulta: 06 julio 2023]
85. ELIXIR BIO TOOLS. 2021. AMDock [en línea] < <https://bio.tools/amdock>> [consulta: 06 julio 2023]
86. LEE, M. y OLSON, M. 2006. Calculation of Absolute Protein-Ligand Binding Affinity Using Path and Endpoint Approaches. *Rev. Biophysical Journal*, 90: 864–877.
87. MURRAY, C., ERLANSON, D., HOPKINS, A., KERESÜ, G., LEESON, P., REES, D., REYNOLDS, C. y RICHMOND, N. 2014. Validity of Ligand Efficiency Metrics. *ACS Med. Chem. Lett.*, 5: 616–618.
88. REYNOLDS, C. y HOLLOWAY, K. 2011. Thermodynamics of Ligand Binding and Efficiency. *Revista ACS Medical Chemistry Letters*, 2: 433–437.
89. REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA. 2018. UCSF Chimera an Extensible Molecular Modeling System [en línea] < <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>> [consulta: 06 julio 2023]
90. DASSAULT SYSTÈMES. 2022. BIOVIA Discovery Studio Visualizer Drive Discovery with the Leading Molecular Graphics Environment [en línea] < <https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>> [consulta: 06 julio 2023]
91. MOLEXUS. 2019. Molegro Molecular Viewer [en línea] < <http://molexus.io/molegro-molecular-viewer/>> [consulta: 06 julio 2023]

92. SCHRÖDINGER, INC. Maestro [en línea] <
<https://www.schrodinger.com/products/maestro/>> [consulta: 06 julio 2023]
93. PyMOL DE SCHRÖDINGER. 2023. PyMOL 2.5 [en línea] < <https://pymol.org/2/>>
[consulta: 06 julio 2023]
94. EISENBERG, D., WEISS, R. TERWILLIGER, T. y WILCOX, W. 1982. Simposios
Faraday de la Sociedad Química. Revista Royal Society of Chemistry, 17: 109-120.

CAPÍTULO 10: ANEXOS

Glosario:

ab initio: procedimiento de cálculo de estructuras químicas a primeros principios

CoV-2 o Covid 19: virus betacoronavirus

SARS: Síndrome respiratorio agudo severo

MERS: Síndrome respiratorio del Medio Oriente

Mpro/3CLpro: Main protease/3Chemotripsinlike protease; proteasa principal del coronavirus, similar a 3 quimotripsina

ORFs: open reading frames Marco Abierto de lectura

Nsps: nonstructural proteins, proteínas No estructurales

PDB: Protein Data Bank, Banco de datos de proteínas

Pdbqt: formato para utilizar en el docking, describe qué subconjuntos de átomos de la molécula giran

6LU7: Estructura cristalizada de la proteína principal del coronavirus Covid 19 del PDB

Spartan v18: Software para modelación molecular

UCSF Chimera: es un programa extensible para la visualización interactiva y el análisis de estructuras moleculares

CASTp: protein pocket measurements; Atlas informático de topografía superficial de proteínas (CASTp) proporciona una caracterización cuantitativa completa y detallada de las características topográficas de las proteínas.

AutoDock Vina: es un software de simulación de modelado molecular y docking, es especialmente efectivo para el acoplamiento proteína-ligando. AutoDock está disponible bajo la Licencia Pública General GNU.

AutoDockTools1.5.2: herramientas de Autodock Vina y Autodock 4

PyRx: software de detección virtual para el descubrimiento computacional de fármacos que se puede utilizar para examinar bibliotecas de compuestos frente a posibles objetivos farmacológicos. PyRx permite a los químicos medicinales ejecutar exámenes virtuales desde cualquier plataforma y ayuda a los usuarios en cada paso de este proceso, desde la preparación de datos hasta el envío de trabajos y el análisis de los resultados. *Assisted Molecular Docking with Autodock4 and Autodock Vina SOFT* es un software de libre acceso, ejecuta el acoplamiento utilizando varios software de código abierto como Autodock Vina Autodock4 Autodock tools Python, open Babel y sus herramientas.

CMP: command prompt, símbolo del sistema

1-click docking: acoplamiento con 1-click, servicio en línea

Covid 19 docking server: Un servidor web para acoplar moléculas pequeñas, péptidos o anticuerpos a dianas proteicas de COVID-19

CB dock: Acoplamiento ciego guiado por detección de cavidades, identifica automáticamente los sitios de unión, calcula el centro y el tamaño, personaliza el tamaño de la caja de acoplamiento.

Docking server: servidor de acoplamiento molecular proteína-ligando; servidor molecular de Docking ayuda a configurar ligandos y proteínas para el modelado molecular y el acoplamiento de ligandos mediante un cribado virtual de alto rendimiento.

Webinar: Una biblioteca de código abierto y una aplicación web que ejecuta AutoDock Vina completamente en el navegador web.

Hartree Fock: método Hartree-Fock (HF) empleado para resolver la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo de manera aproximada para átomos con múltiples electrones.

DFT: Teoría del Funcional de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) es una de las aproximaciones más usadas y con buenos resultados en el estudio de la materia dentro de la mecánica cuántica.

B3LYP: es un funcional B3LYP es conocido también como funcional híbrido, porque mezclas funcionales que dependen de la densidad con una expresión de (HF). Está formado por el funcional de intercambio de tres parámetros Becke (B3) y los funcionales de correlación de Lee, Yang y Parr (LYP).

6-31G: conjunto de bases, de George Petersson et.al, definidos como parte de varios métodos de conjunto de bases completo.

Funciones Fukui: funciones que estudian la reactividad de las moléculas.

ADME: Absorción Distribución Metabolismo y Excreción

SwissADME: servicio web constituye una herramienta web gratuita para evaluar la farmacocinética

ADMETlab: servicio web para la evaluación sistemática de las propiedades ADMET, así como de algunas propiedades fisicoquímicas.

TPSA: área de superficie polar topológica

Absorción GI: absorción gastrointestinal

Caco 2: línea celular Caco 2 son células epiteliales de cáncer de colon humano, utilizadas para la evaluación de la permeabilidad de fármacos in vitro.

PBB: de sus siglas en inglés, unión a las proteínas del plasma.

CYP: son enzimas hepáticas de fase I

Lipinski: regla de cinco de Lipinski es una regla completamente empírica que permite evaluar cualitativamente cómo de adecuado podría resultar un compuesto químico para cumplir alguna determinada función farmacológica o actividad biológica una vez que es ingerido como medicamento para consumo oral en seres humanos.

Discovery Studio 2021: herramienta de visualización para ver, compartir y analizar datos de proteínas y modelado.

Molegro Molecular Viewer: es una aplicación multiplataforma gratuita para la visualización de moléculas y macromoléculas.

Schrodinger maestro 13.2: potente interfaz gráfica de usuario multiplataforma unificada de Schrödinger.

Pymol: es un visor molecular de código abierto y auspiciado por usuarios creado por Warren Lyford Delano y comercializado por Delano Scientific LLC, una compañía dedicada a la creación de herramientas accesibles universalmente para las comunidades científicas.