



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS – ESPE

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

“Evaluación *in silico* del acoplamiento molecular entre metabolitos secundarios del cacao fino de aroma y proteínas blanco del virus SARS-CoV-2 ”

Elaborado por:
Wendy Valeria Jara Baldeon

Director del Proyecto:
Raluca Alexandra Mihai., PhD.

Sangolquí - 2022





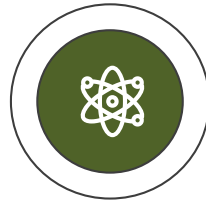
INTRODUCCIÓN



OBJETIVOS



HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

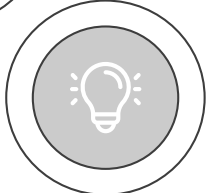


CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

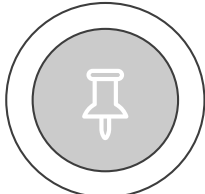




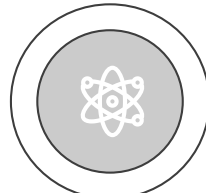
INTRODUCCIÓN



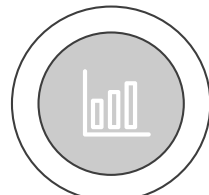
OBJETIVOS



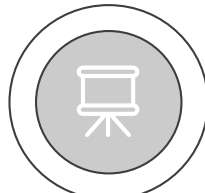
HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



SARS-CoV-2 y la pandemia de COVID-19

607 M

Casos a nivel mundial

6 M

Muertos, a nivel mundial

OMS, 2022

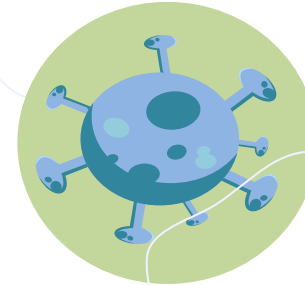
Síntomas de enfermedad



Digestivos

Diarrea, hinchazón

01



02

Respiratorios



Tos, dificultad para respirar

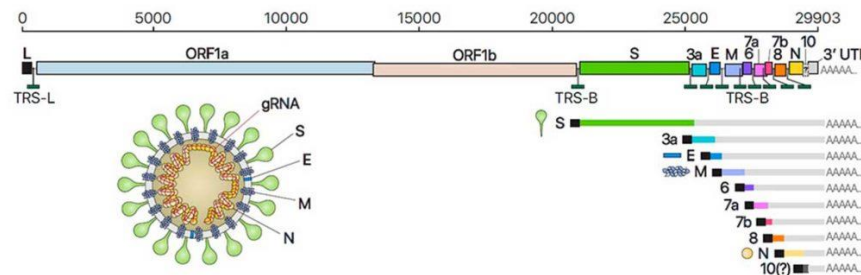
03

Neurológicos



Anosmia, falta de concentración

Estructura



21 proteínas codificadas

17 candidatos

Figura 1. Genoma de SARS-CoV-2 (Biotech Magazine, 2020)



Estructura de SARS-CoV-2

Proteinasa tipo
papaína PLpro

- Dominio funcional de complejo nsp3
- Etapas tempranas

Proteinasa
3CLpro

- Mediadora en maduración
- Crítica para ensamblaje

ARN polimerasa
dependiente de
ARN

- Cataliza replicación de ARN
- Usa plantilla de ARN

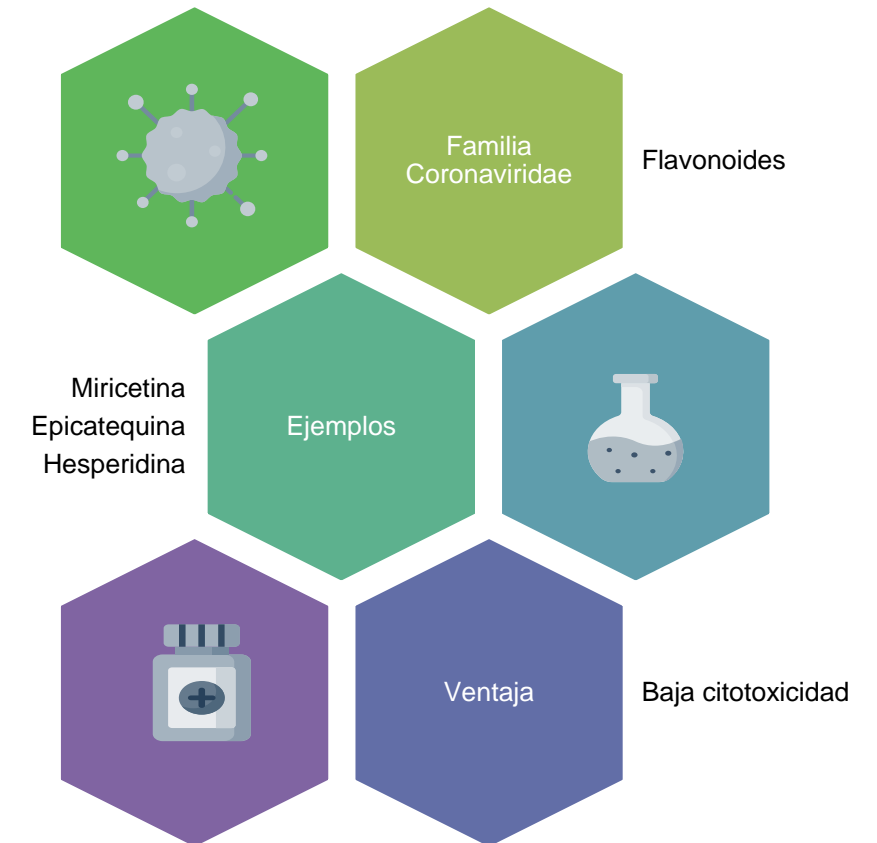
Helicasa

- Desenrolla doble hélice

Glicoproteína
spike

- Se acopla a membrana celular

Metabolitos secundarios contra SARS-CoV-2



Cacao fino y de aroma



Figura 2. Características del cacao fino y de aroma, variedad Nacional



380 moléculas



10 compuestos psicoactivos

38% flavan-3-oles

58%
prociánidinas

4%
antocianinas

Flavonoles



Docking molecular

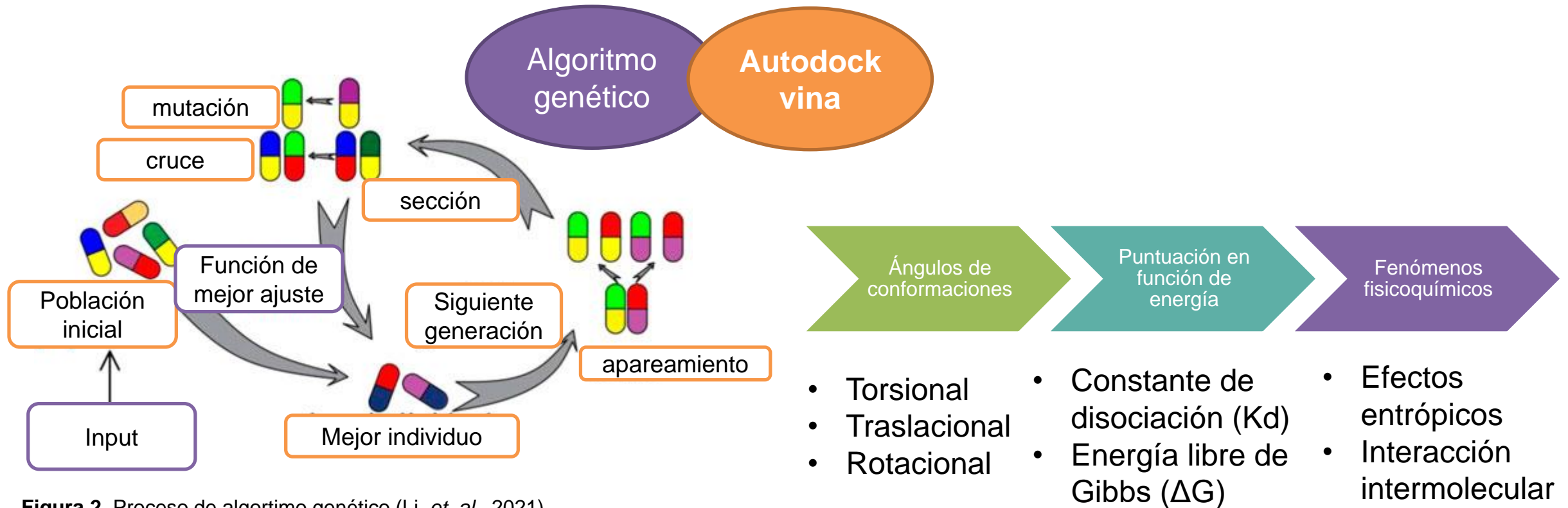
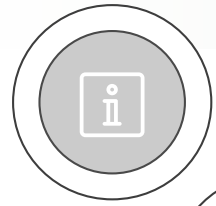


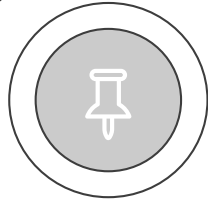
Figura 2. Proceso de algoritmo genético (Li, et. al., 2021)



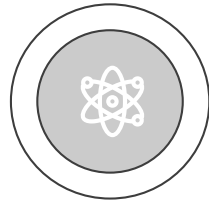
INTRODUCCIÓN



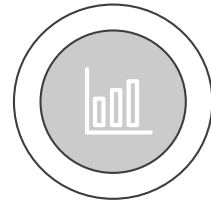
OBJETIVOS



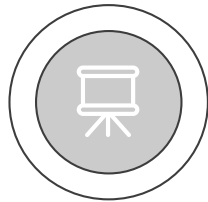
HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



OBJETIVO GENERAL

Evaluar *in silico* el acoplamiento molecular entre metabolitos secundarios del cacao fino de aroma y proteínas blanco del virus SARS-CoV-2



OBJETIVOS ESPECÍFICOS



Identificar bibliográficamente metabolitos secundarios del cacao fino de aroma con potencial actividad antiviral.



Estimar la energía de enlace en el acoplamiento molecular de metabolitos secundarios del cacao con las proteínas blanco del virus



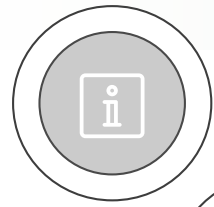
Analizar el posicionamiento de los metabolitos secundarios del cacao ocupando el sitio activo de las proteínas blanco de SARS-CoV-2



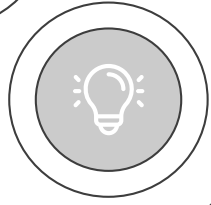
Calcular la eficiencia del ligando usando la energía de enlace del acoplamiento



Evaluar el potencial farmacológico de los metabolitos secundarios a través de la plataforma SwissADME.



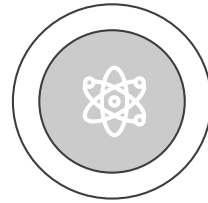
INTRODUCCIÓN



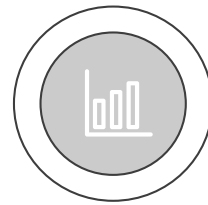
OBJETIVOS



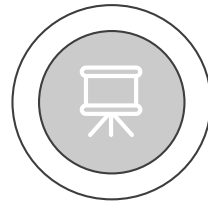
HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

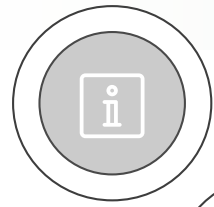


CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

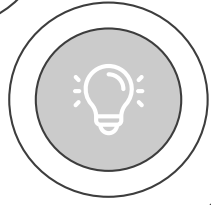


Los metabolitos secundarios del cacao fino de aroma generan acoplamiento molecular con proteínas blanco del virus SARS-CoV-2.

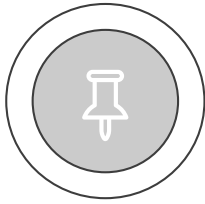




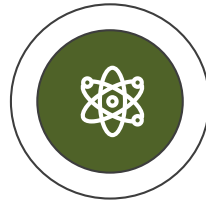
INTRODUCCIÓN



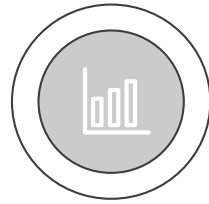
OBJETIVOS



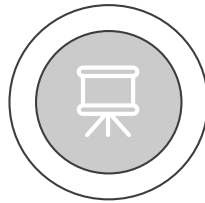
HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

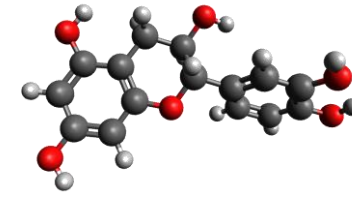


CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



METODOLOGÍA

Selección de metabolitos secundarios de cacao fino y de aroma



PubChem
Formato .sdf

Moléculas seleccionadas



Cafeína



Trans-piceido



Teobromina



Cianidin-3-O-arabinósido



Epicatequina



Cianidin-3-O-galactósido



Trans-resveratrol



Procianidina B1

Recopilación de bibliografía

Actividad antiviral
Contenido en
variedad Nacional

Moléculas volátiles



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

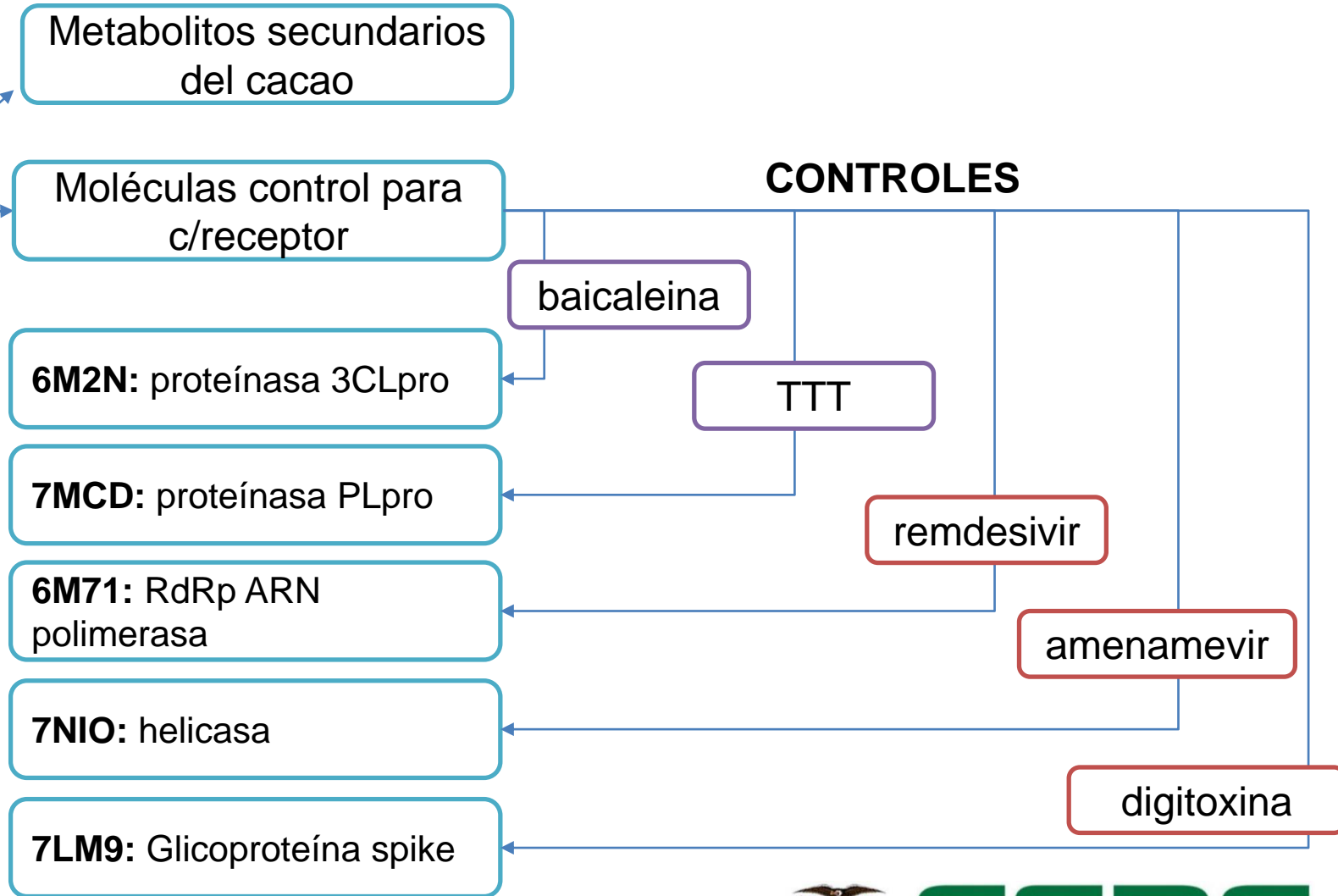
Base de datos de ligandos y receptores

PubChem

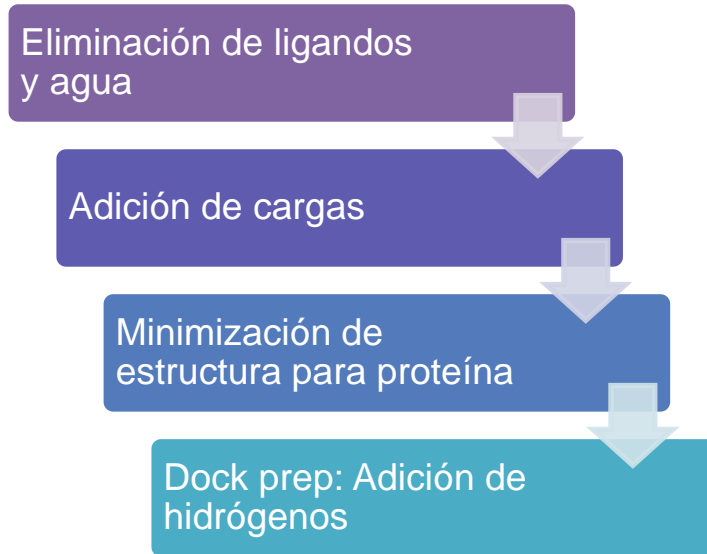
Formato .sdf

RCSB PDB
PROTEIN DATA BANK

Formato .pdb



Refinamiento de estructuras



Docking molecular

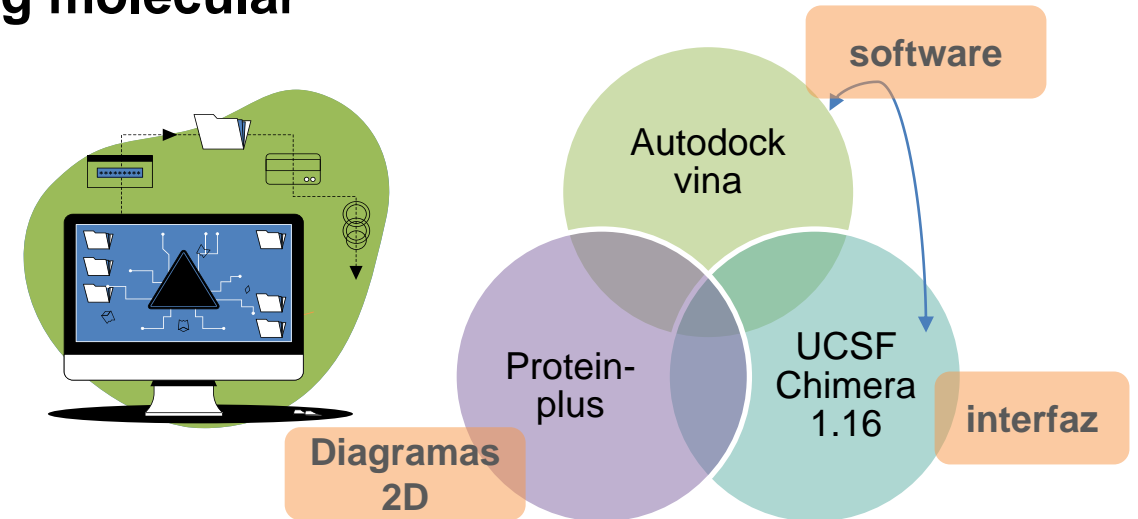
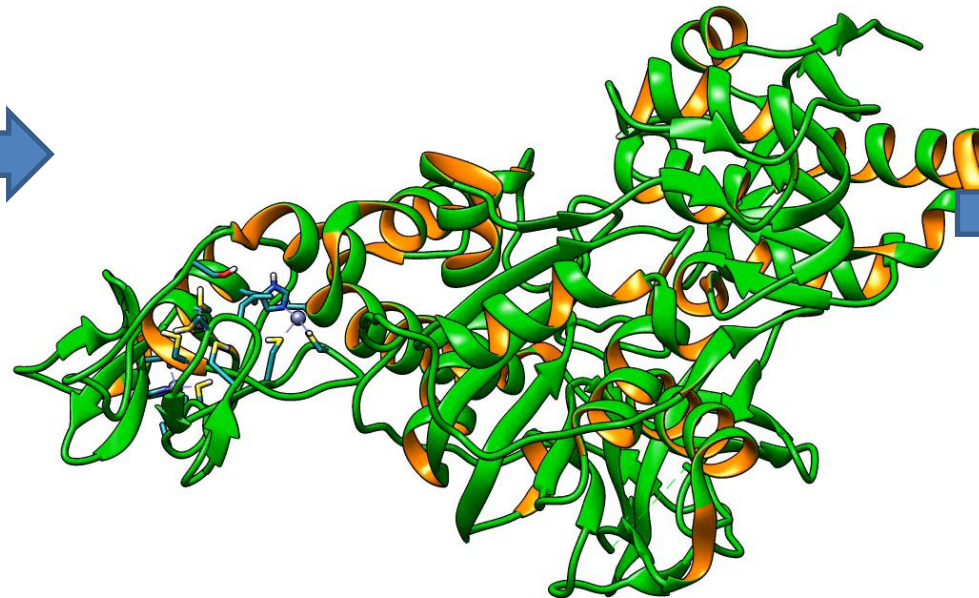
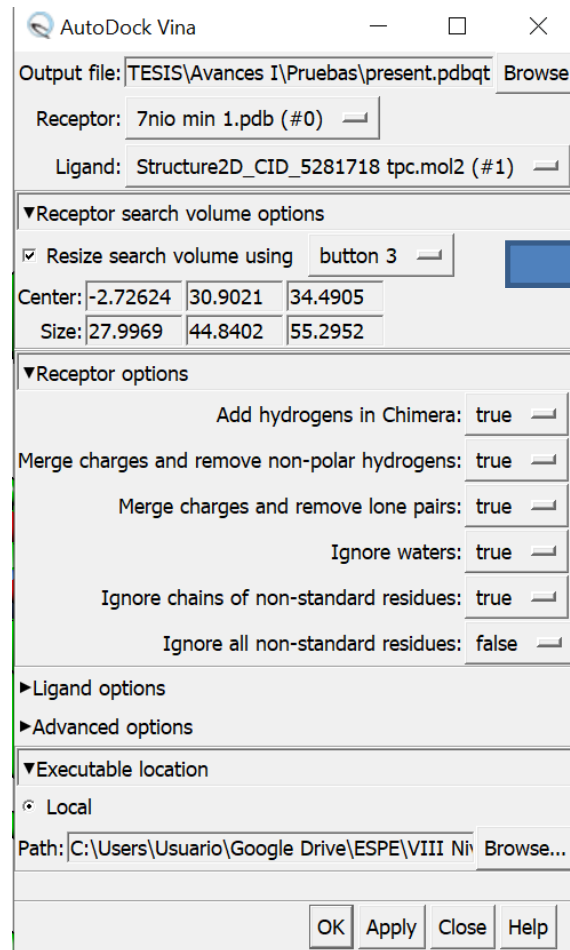


Tabla 1. Ejemplo de delimitación de caja de trabajo contenido del sitio de unión de la proteína de interés

Nombre de proteína	Dimensiones de caja (centro, X, Y, Z)	Sitios de Unión
Proteína tipo papaína (PLpro) PDB: 7CMD	-28.277 x -11.496 x -30., 30 x 30 x 30	Lys105, Trp106 , Asp108 , Lys157, Leu162 , Asp164, Glu167 , Tyr264 Asn267 , Tyr268 Gln269 , Cys270, Gly271

Docking molecular



Número de modelos: 10

Exhaustividad: 8

C:\Users\Usuario\Google Drive\ESPE\TESIS\Avances I\Pr... -

S	Score	RMSD l.b.	RMSD u.b.	HBonds (all)	HBond Ligand Atoms	HBond Receptor Atoms
V	-7.0	0.0	0.0	0	0	0
V	-6.4	2.054	2.779	0	0	0
V	-6.3	2.078	2.819	0	0	0
V	-6.3	2.744	5.588	0	0	0
V	-6.2	3.095	5.753	0	0	0
V	-6.2	24.234	26.032	0	0	0
V	-6.1	18.294	21.522	0	0	0
V	-6.0	4.11	10.833	0	0	0
V	-5.9	3.219	6.454	0	0	0
V	-5.9	24.506	26.748	0	0	0

Chimera Model #3.3

REMARK VINA RESULT: -6.3 2.078 2.819

REMARK 11 active torsions:

REMARK status: ('A' for Active; 'I' for Inactive)

REMARK 1 A between atoms: C_9 and O_2

REMARK 2 A between atoms: C_10 and O_3

REMARK 3 A between atoms: C_13 and O_4

REMARK 4 A between atoms: C_15 and O_4

REMARK 5 A between atoms: C_12 and O_5

REMARK 6 A between atoms: C_14 and O_6

REMARK 7 A between atoms: C_16 and O_7

Change Compound State

Viable Deleted Purged

Hide Quit Help

Figura 3. Proceso de docking molecular utilizando UCSF Chimera 1.16 (interfaz) y Autodock Vina (software)



Métricas de eficiencia de ligando

Constante de disociación

$$K_d = 10^{\frac{\Delta G^0}{2.3030 RT}}$$

Donde:

- $R = 1,987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
- $T = 298,15 \text{ K}$
- $\Delta G =$ Energía de Gibbs (energía de afinidad dada por ensayo de docking molecular)

Eficiencia del ligando

$$EL = -\frac{2.303 RT}{HAC} \log(K_d)$$

Donde:

- $R = 1,987 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$
- $T = 298,15 \text{ K}$
- $HAC =$ número de átomos pesados

Índice de eficiencia del ligando

$$IEL = \frac{pIC50}{PM \text{ (kDa)}}$$

Donde:

- $PM =$ peso molecular (kDa)
- $pIC50 = \Delta G =$ energía de afinidad

Índice de eficiencia de superficie

$$SEI = \frac{pIC50}{(APS/100)}$$

Donde:

- $APS =$ Área polar superficial
- $pIC50 = \Delta G =$ energía de afinidad

Eficiencia lipofílica

$$LipE = pIC50 - \log P$$

Donde:

- $\log P =$ coeficiente de partición
- $pIC50 = \Delta G =$ energía de afinidad



Predicción de características farmacológicas

Figura 5. Resultados arrojados por la plataforma SwissADME para la predicción de características farmacológicas

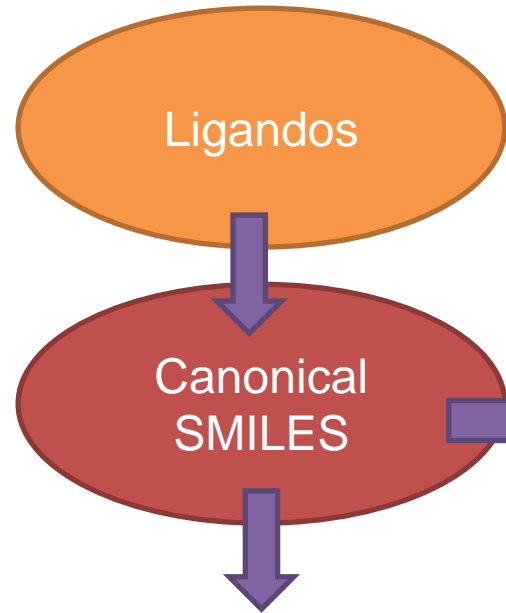
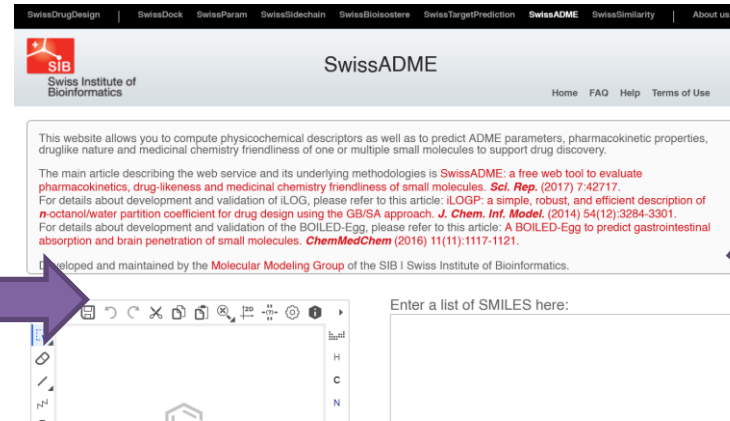


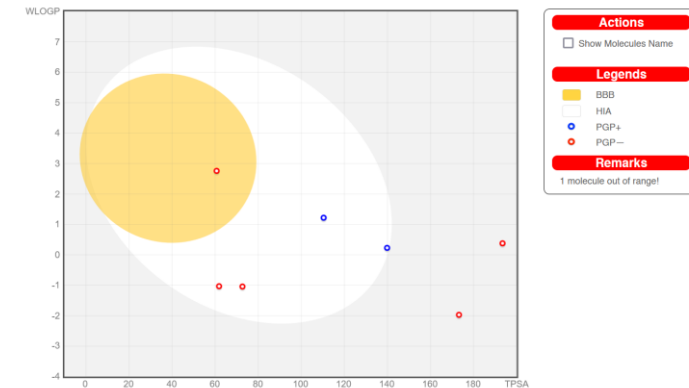
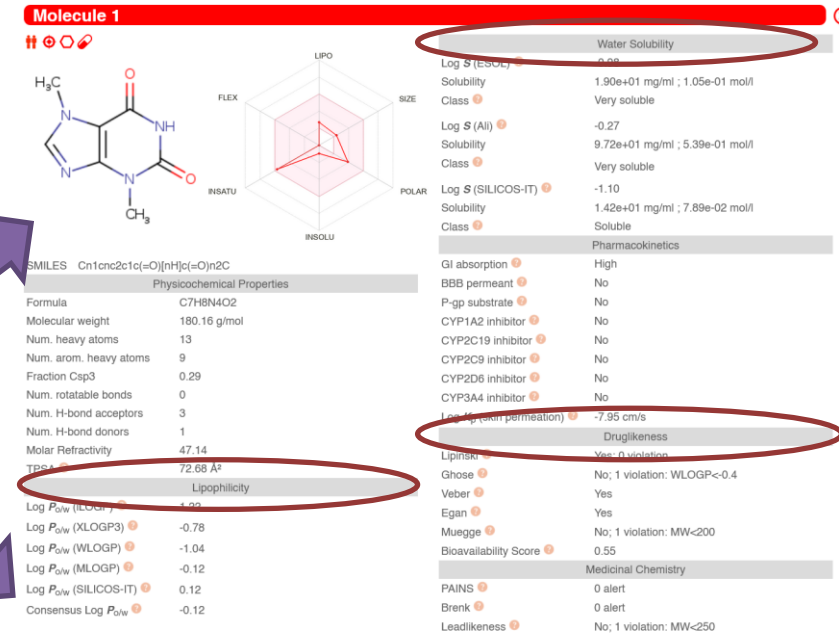
Figura 4. Plataforma SwissADME para la predicción de características farmacológicas

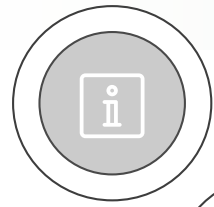


CN1C=NC2=C1C(=O)NC(=O)N2C

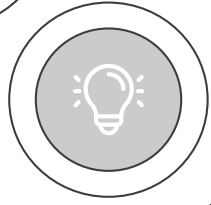
Ejemplo: teobromina

Modelo Egan Egg

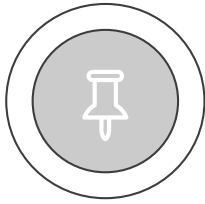




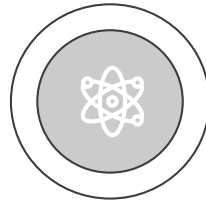
INTRODUCCIÓN



OBJETIVOS



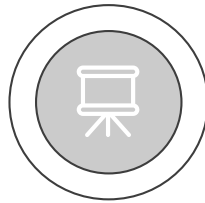
HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 2. Predicción de propiedades farmacocinéticas y de *druglikeness* de las moléculas candidatas del cacao fino de aroma.

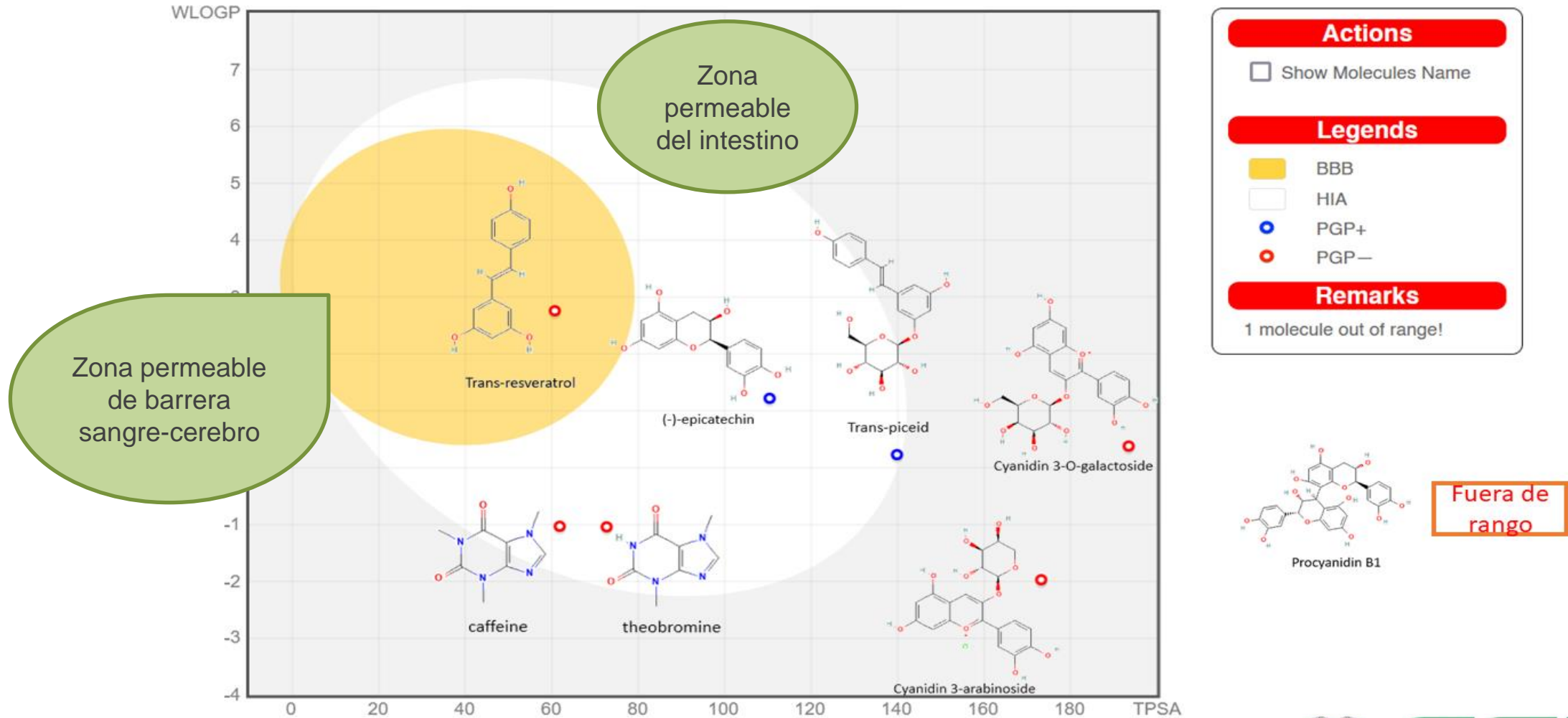
Molécula	Druglikeness				
	NHorOH \leq 5	NorO \leq 10	MW \leq 500 Da	log P \leq 5	PSA \leq 140 Å
Teobromina	X	X	X	X	X
Cafeína	X	X	X	X	X
Epicatequina	X	X	X	X	X
Trans-resveratrol	X	X	X	X	X
Trans-picéido		X	X	X	X
Cianidin-3-arabinósido			X	X	
Cianidin-3-galactósido			X	X	
Procianidina B1				X	

Más de dos violaciones



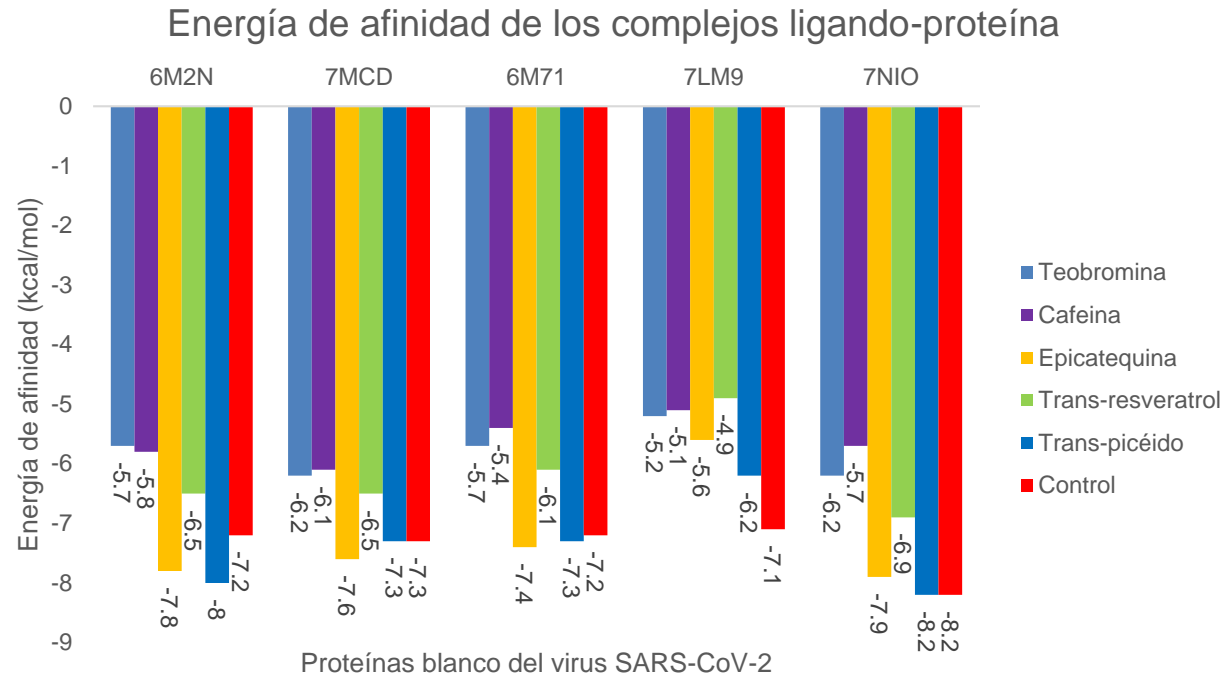
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figura 6. Diagrama BOILED Egg predictivo de la absorción gastrointestinal y permeabilización en cerebro de los metabolitos secundarios del cacao fino de aroma, obtenido de la plataforma Swiss ADME.



Energía de afinidad entregada por Autodock Vina

Figura 7. Energía de afinidad de los complejos ligando-proteína generados por Autodock Vina



6M2N: Proteínasa 3CLpro; **7MCD:** Proteínasa tipo papaína; **6M71:** ARN polimerasa; **7NIO:** Helicasa; **7LM9:** Glicoproteína spike

Glicoproteína Spike: 7LM9
Afinidad por debajo del control

Helicasa: 7NIO y Proteínasa 3CLpro:
6M2N
Afinidad superior al control

Epicatequina, trans-piceido y trans-resveratrol: Capacidad de inhibición en las proteínasas

Métricas de eficiencia de ligando

Figura 8. Eficiencia de ligando de los complejos ligando-proteína generados por Autodock Vina

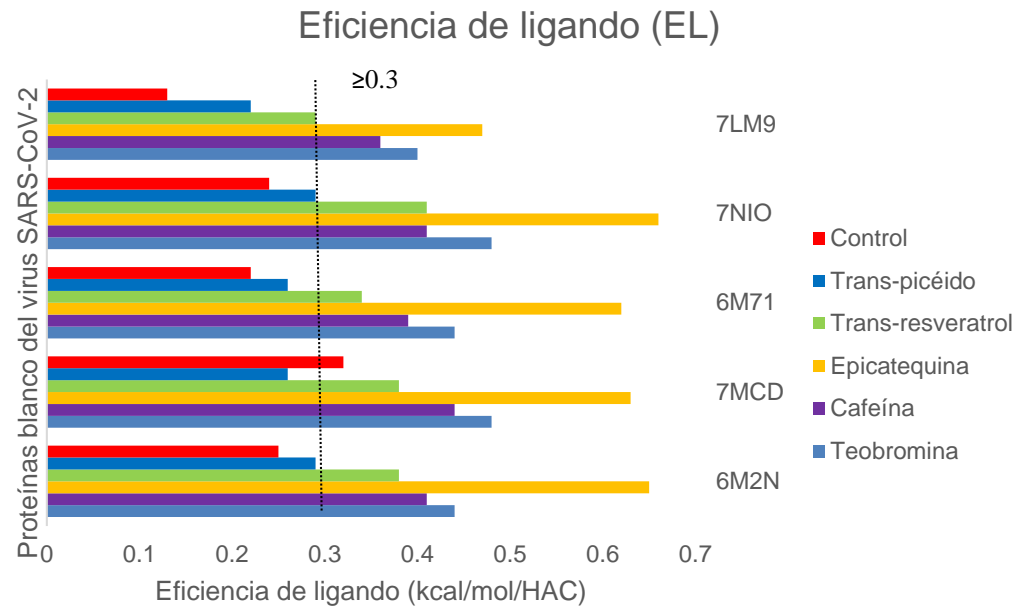
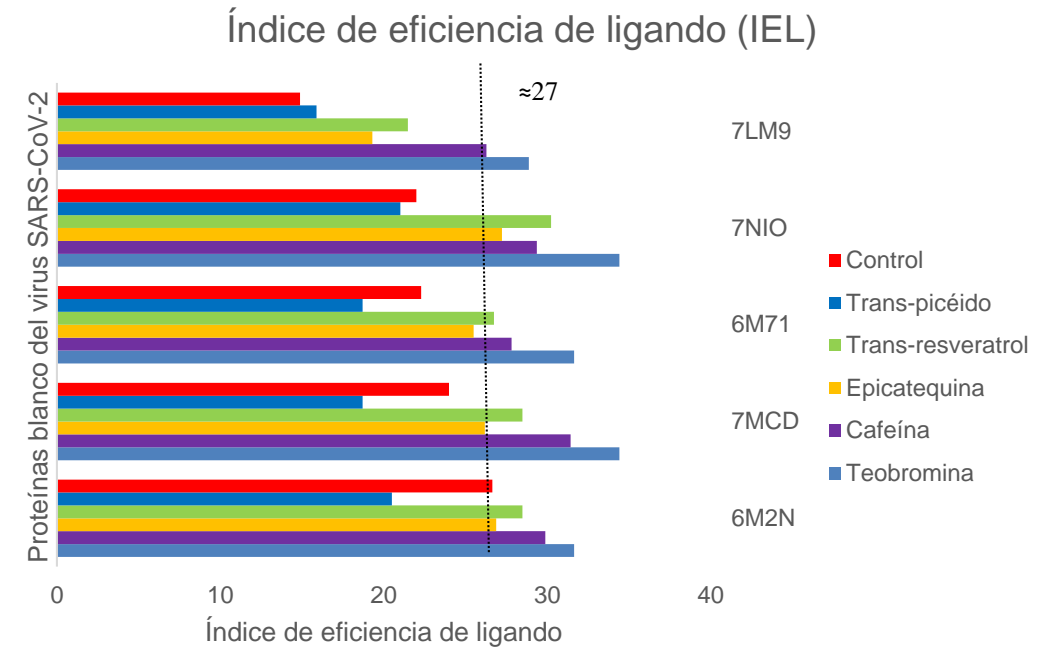


Figura 9. Índice de eficiencia de los complejos ligando-proteína generados por Autodock Vina



6M2N: Proteínasa 3CLpro; **7CMD:** Proteínasa tipo papaína; **6M71:** ARN polimerasa; **7NIO:** Helicasa; **7LM9:** Glicoproteína spike

Métricas de eficiencia de ligando

Figura 10. Índice de eficiencia de superficie de los complejos ligando-proteína generados por Autodock Vina

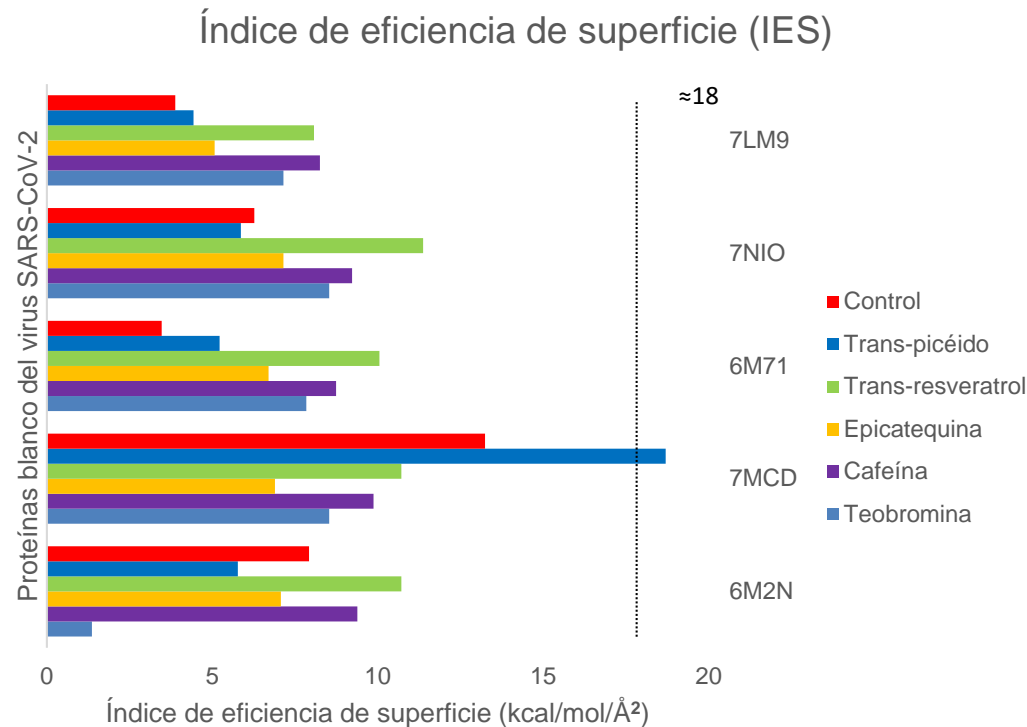
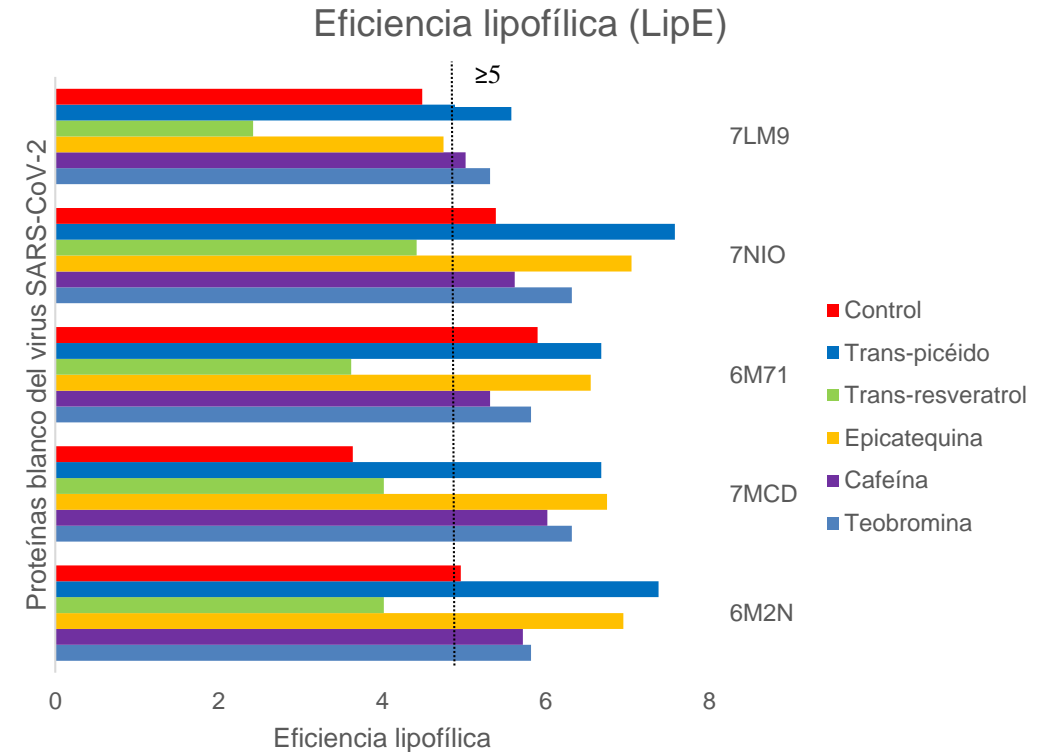


Figura 11. Eficiencia lipofílica de los complejos ligando-proteína generados por Autodock Vina



6M2N: Proteinasa 3CLpro; **7CMD:** Proteinasa tipo papaína; **6M71:** ARN polimerasa; **7NIO:** Helicasa; **7LM9:** Glicoproteína spike

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Proteínasa 3CLpro

Figura 12. Esquemas 3D de las interacciones moleculares entre ligandos y la proteínasa 3CLpro

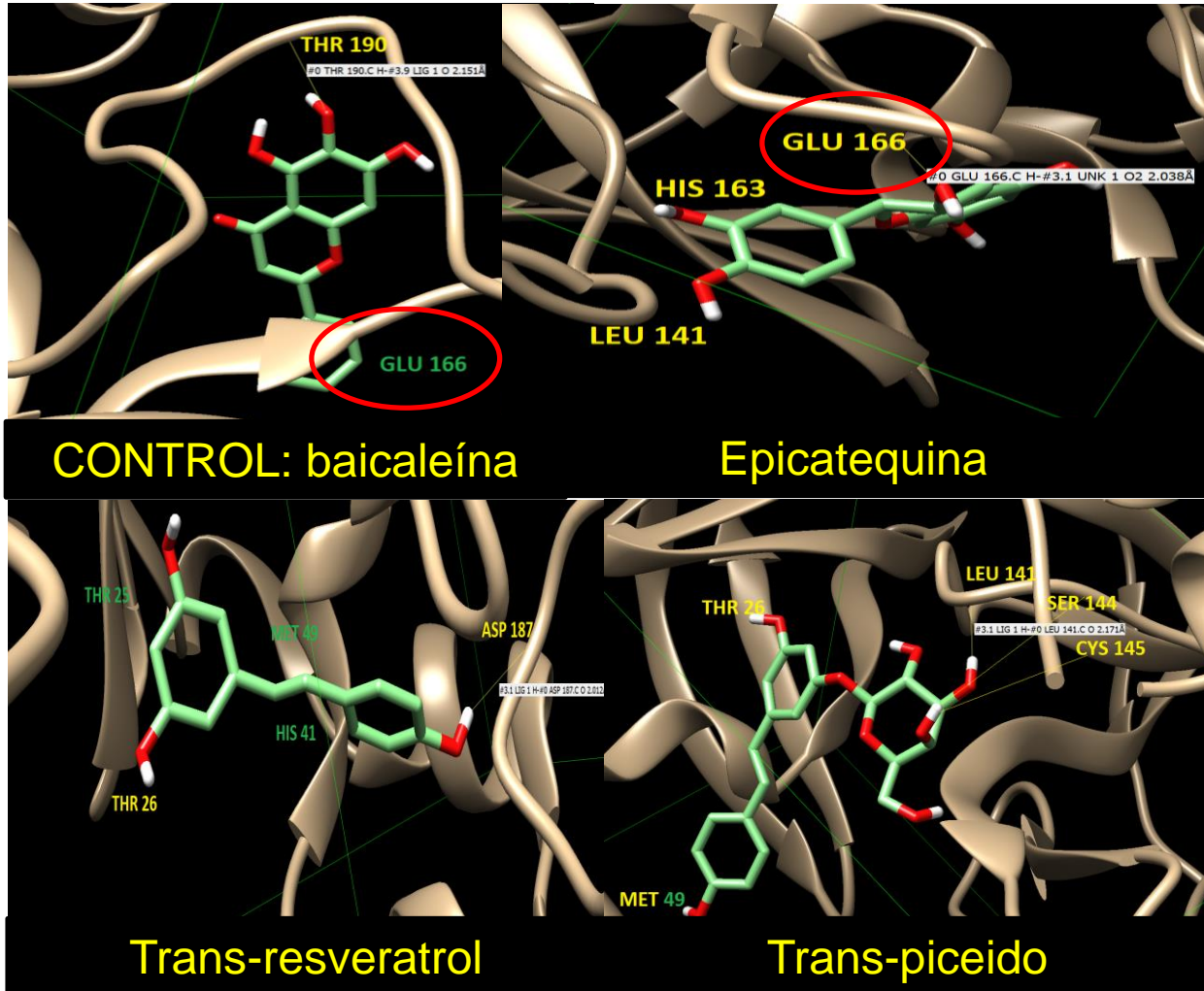
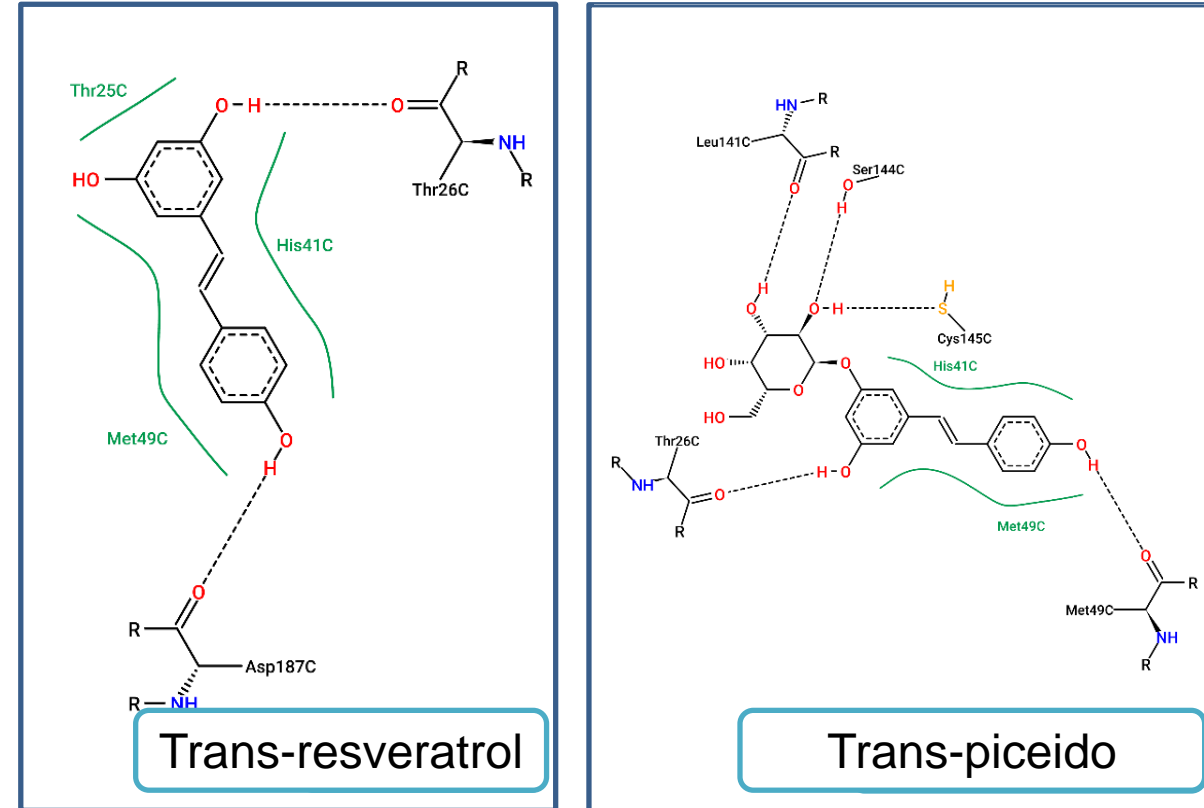


Figura 13. Esquemas 2D de las interacciones moleculares entre ligandos y la proteínasa 3CLpro



Proteinasa PLpro

Figura 14. Esquemas 3D de las interacciones moleculares entre ligandos y la proteinasa PLpro

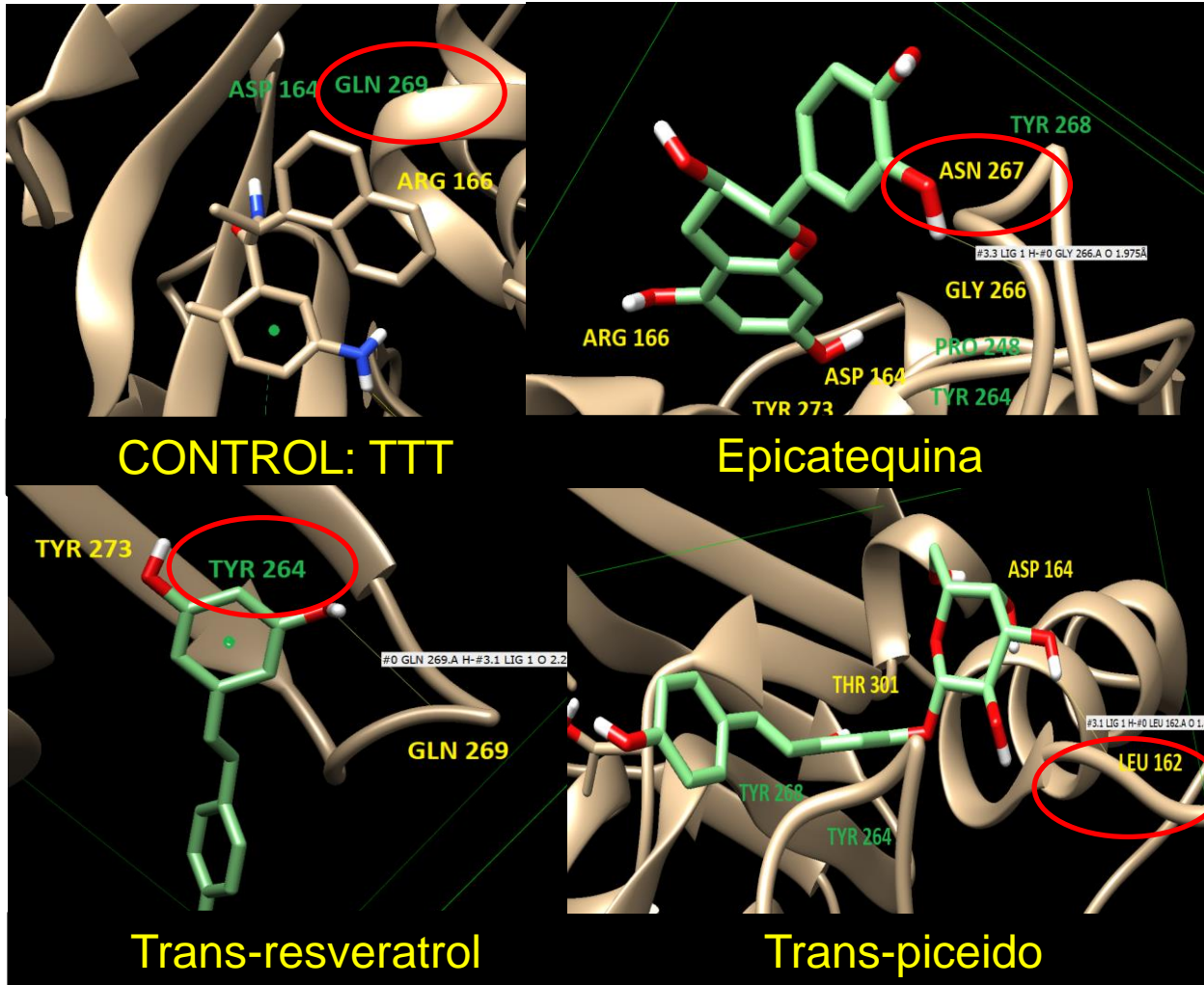
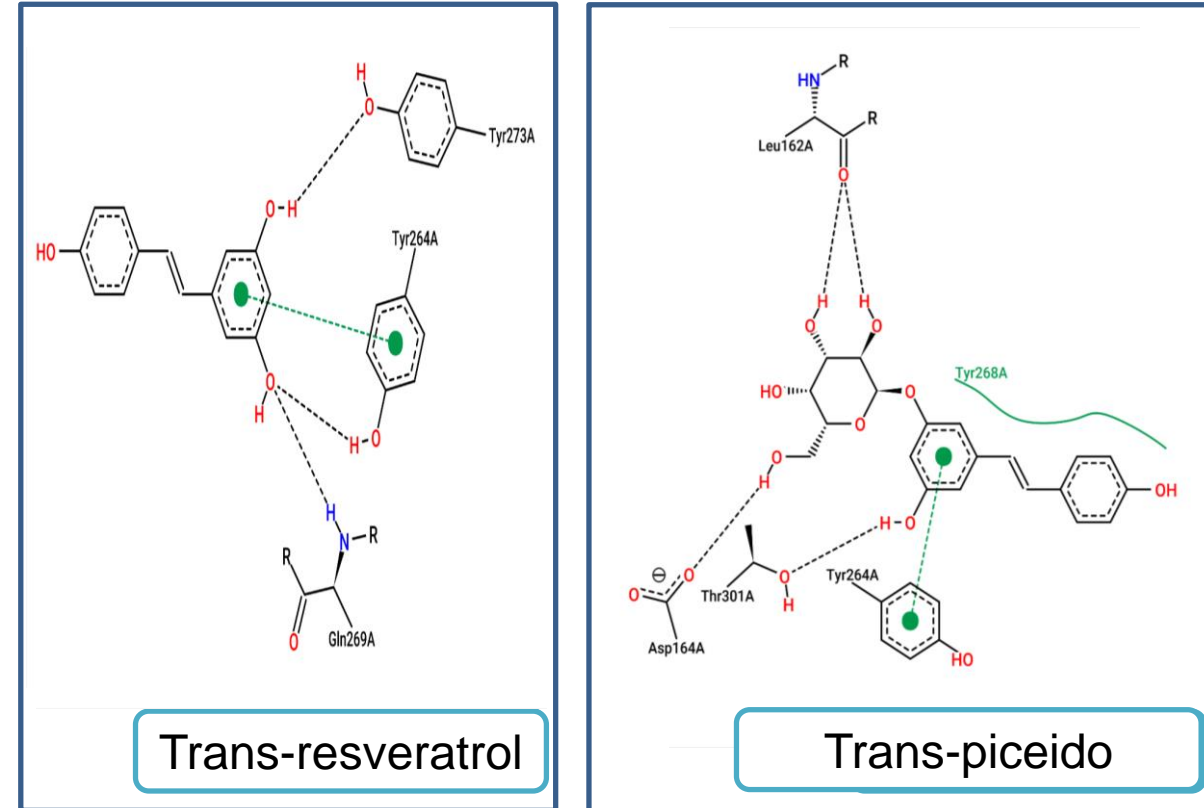


Figura 15. Esquemas 2D de las interacciones moleculares entre ligandos y la proteinasa PLpro



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

ARN polimerasa RdRp

Figura 16. Esquemas 3D de las interacciones moleculares entre ligandos y la ARN polimerasa

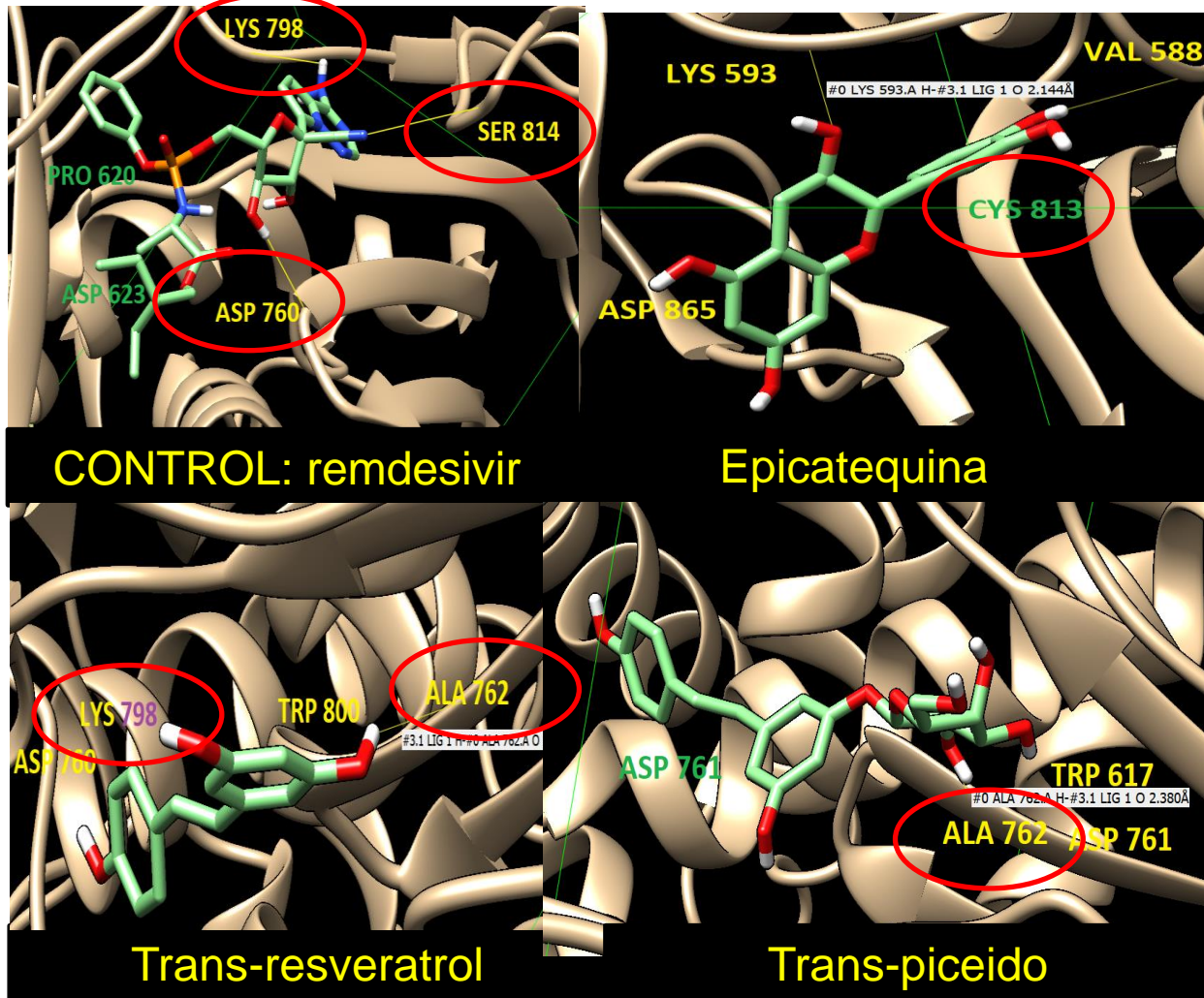
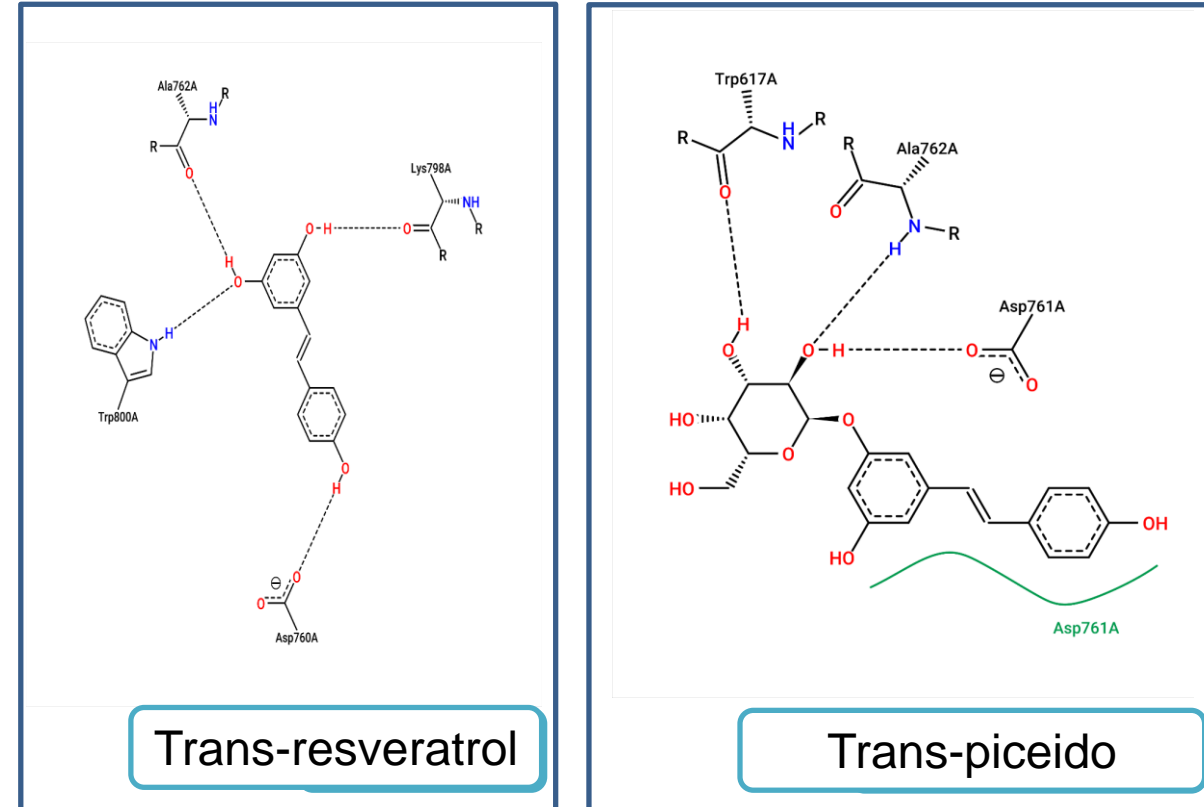


Figura 17. Esquemas 2D de las interacciones moleculares entre ligandos y la ARN polimerasa



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Helicasa

Figura 15. Esquemas 3D de las interacciones moleculares entre ligandos y la helicasa

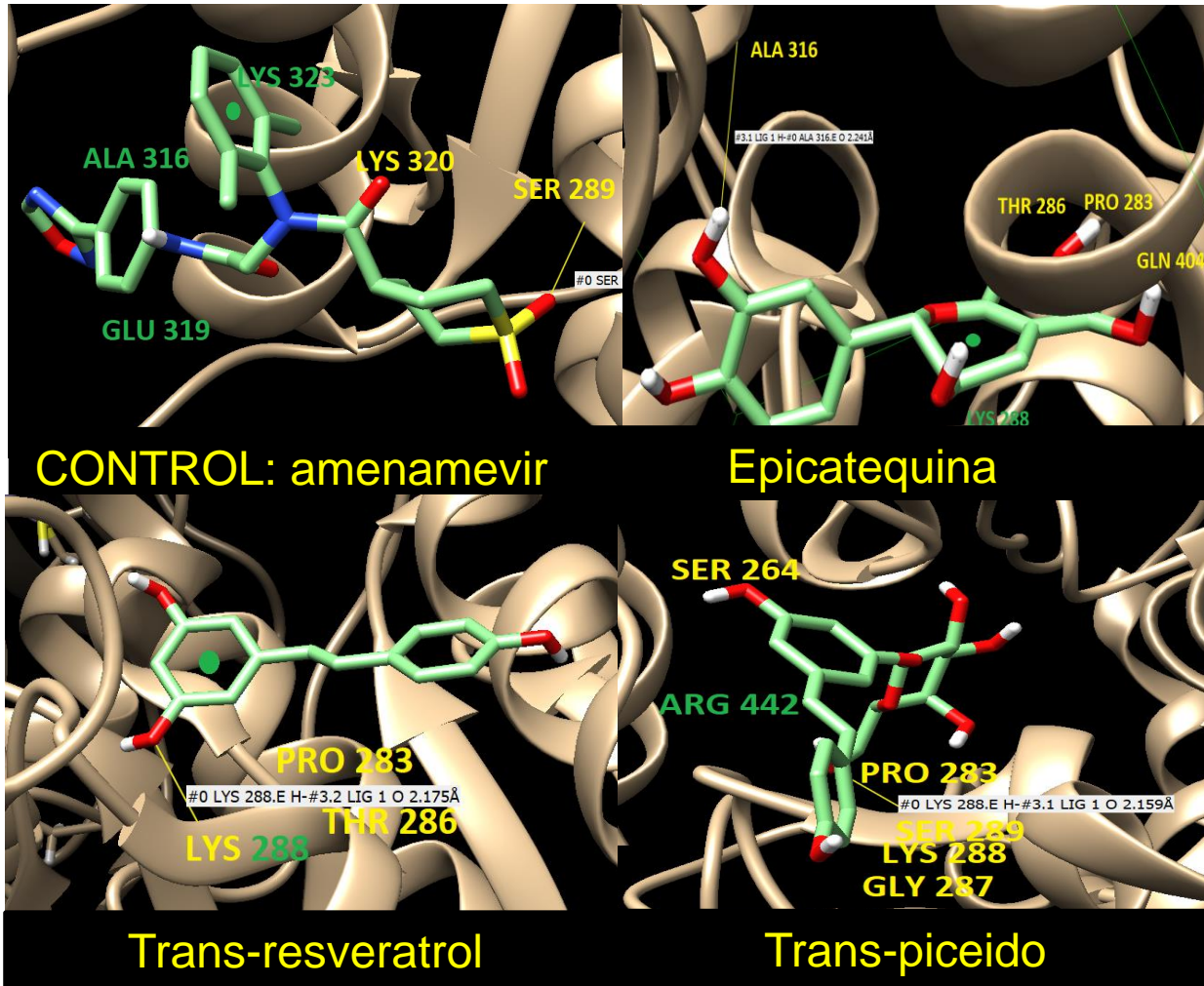
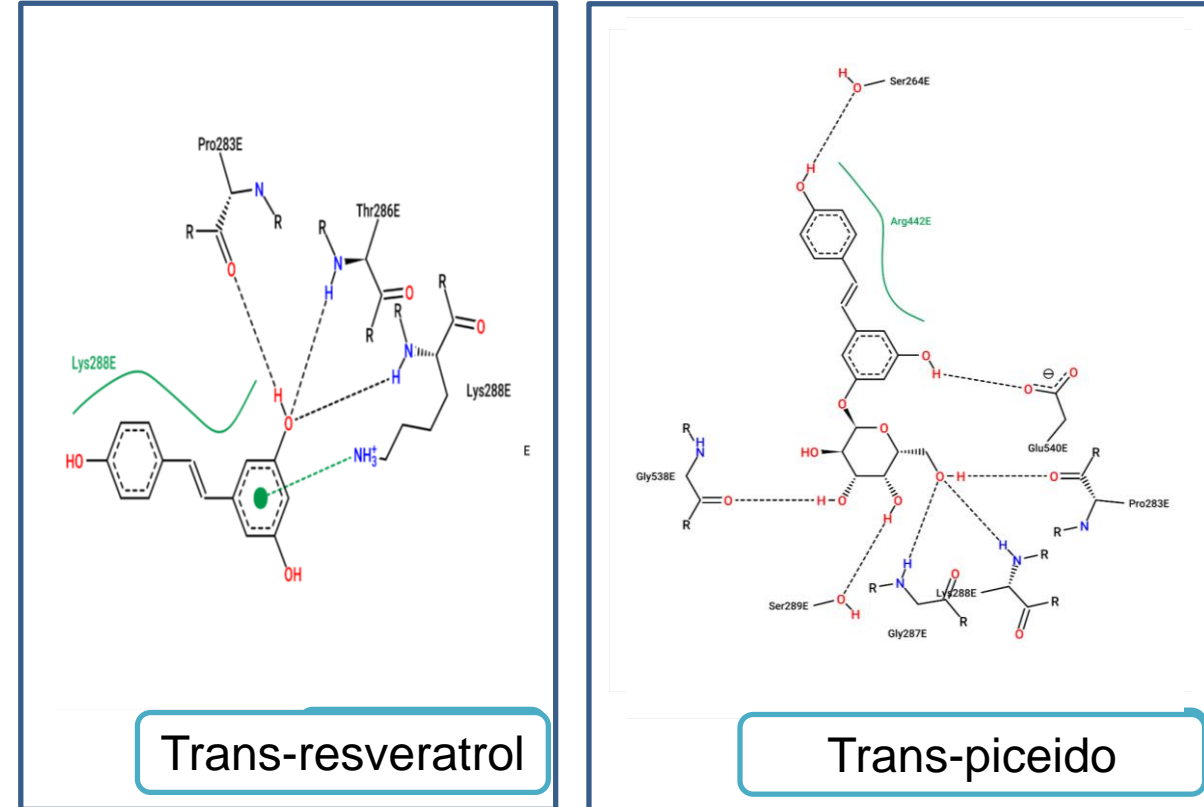


Figura 15. Esquemas 2D de las interacciones moleculares entre ligandos y la helicasa



Glicoproteína spike

Figura 18. Esquemas 3D de las interacciones moleculares entre ligandos y la glicoproteína spike

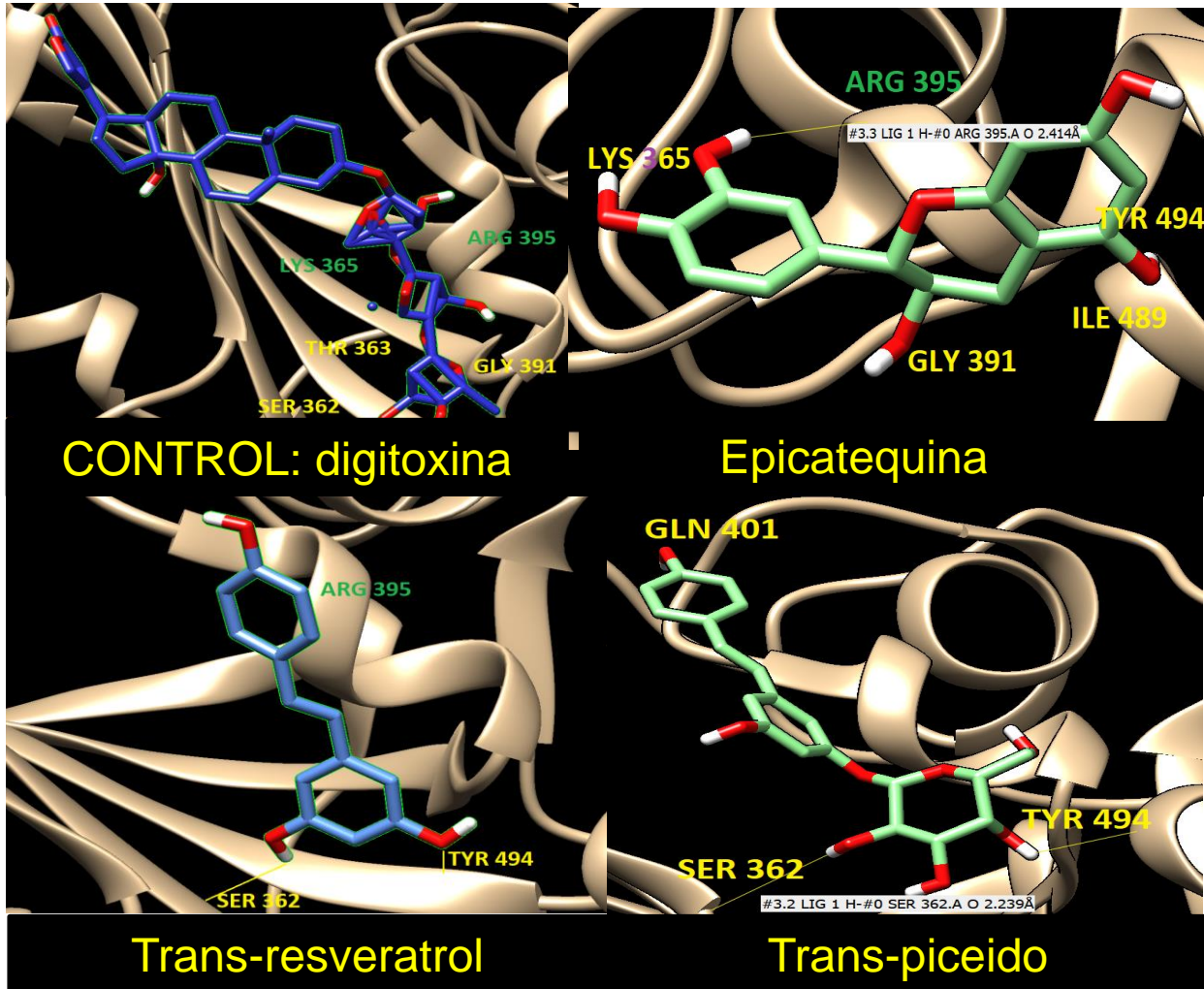
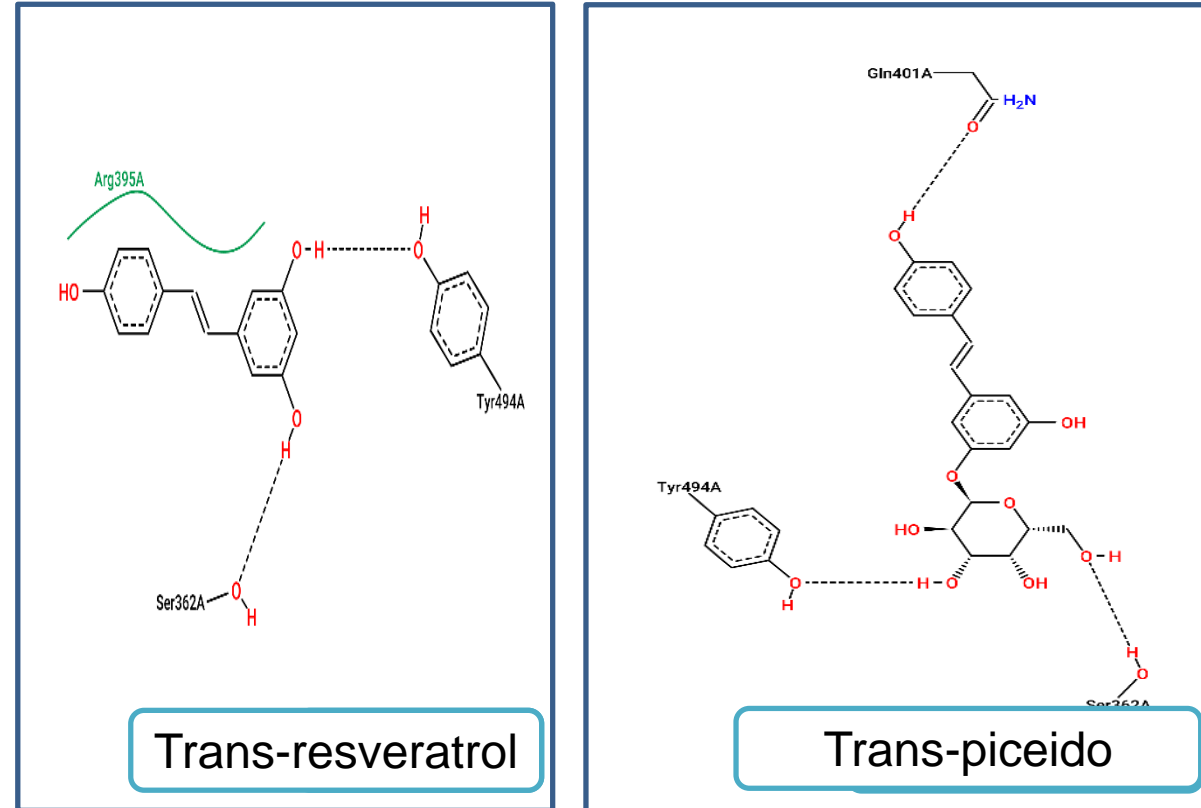
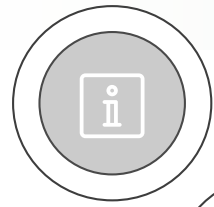
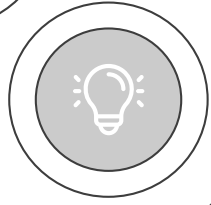


Figura 19. Esquemas 2D de las interacciones moleculares entre ligandos y la glicoproteína spike





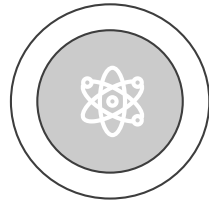
INTRODUCCIÓN



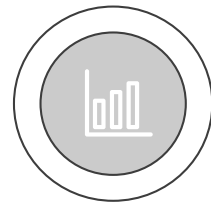
OBJETIVOS



HIPÓTESIS



METODOLOGÍA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES



CONCLUSIONES



Las moléculas de **cafeína, teobromina, epicatequina, trans-resveratrol y trans-picéido** cumplen con los parámetros de las reglas de Lipinski.



La energía de enlace de los complejos ligando-proteína mostró que el **trans-picéido** tuvo una fuerte afinidad con la **proteínasa 3CLpro**, respecto al control. Además de demostrar potencial farmacológico en métricas de eficiencia de ligando



El **trans-resveratrol** y la **epicatequina** secundan a la capacidad de acoplamiento con las proteínas blanco del virus del COVID-19 obteniendo valores en métricas de eficiencia de ligando igual de fuertes que el trans-picéido.



La **cafeína** y la **teobromina** tienen capacidad de unirse efectivamente al sitio catalítico pero no son idóneos para desempeñar la inhibición de las proteínas blanco del SARS-CoV-2 por la baja energía afinidad respecto al control.



Las proteínas blanco que lograron mejores interacciones con los metabolitos secundarios del cacao fino de aroma fueron: **helicasa, proteínasa tipo papaína y proteínasa 3CLpro.**



RECOMENDACIONES

Estudiar la **dinámica molecular** de los complejos ligando-proteína para verificar la estabilidad que existe entre las moléculas a lo largo del tiempo



Usar bibliotecas de metabolitos secundarios de plantas autóctonas aplicando **cribado para optimizar la búsqueda** de metabolitos que puedan interactuar con las proteínas blanco del SARS-CoV-2.

Aplicar ensayos de docking molecular comparando los resultados de **algoritmos diferentes** al algoritmo genético utilizado con Autodock Vina

Desarrollar **pruebas *in vitro* o *in vivo*** donde se logre validar el uso de los metabolitos secundarios del cacao fino de aroma como inhibidores de proteínas blanco de SARS-CoV-2.



AGRADECIMIENTOS



Raluca Alexandra Mihai., PhD
Director del trabajo de titulación

Familia y amigos



**Muchas gracias
por su atención!**



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA