Universidad Nacional del Nordeste

XXVIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-040 (ID: 2706)

Autor: CONTI, GERMAN

Título: ESTUDIO DEL MECANISMO DE ACCIÓN DE QUERCETINA SOBRE LA PROTEASA MPRO DEL SARS-CoV-2 Y OTROS BLANCOS MOLECULARES

Director: Angelina, Emilio Luis

Palabras clave: quercetina, SARS-CoV-2, análisis quimioinformático

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Evc - Cin Periodo: 01/09/2021 al 31/08/2022

Lugar de trabajo: Iquiba Nea - Inst. De Química Básica Y Aplicada Del Nordeste Argentino

Proyecto: (19V001) INTERACCIONES NO COVALENTE (NCI) EN EL DISEÑO RACIONAL DE FÁRMACOS Y DE NUEVOS MATERIALES.

Resumen:

La quercetina (QUE) es un fitoquímico natural con varios efectos biológicos comprobados, incluidos los efectos anticancerígenos, antidiabéticos, antiinflamatorios, antioxidantes, antienvejecimiento, antimicrobianos, antialzheimer, antiartríticos, cardiovasculares y cicatrizantes. QUE tiene la capacidad de actuar sobre una gran diversidad de proteínas asociadas a varias vías biológicas. Entre estas proteínas podemos destacar quinasas, proteasas, glucosidasas, endopeptidasas, hidrolasas, topoisomerasas, entre otras. Asimismo, ha demostrado tener actividad inhibitoria sobre la principal proteasa (Mpro) del SARS-CoV-2 en ensayos in-vitro. En nuestro laboratorio investigamos el efecto de QUE sobre diferentes blancos moleculares. Este trabajo se centró en el análisis de las interacciones de QUE sobre Mpro mediante la aplicación de un enfoque computacional apoyado en el conocimiento de la estructura de la enzima, con el fin de proporcionar una explicación a nivel molecular de la actividad inhibitoria observada en los ensayos experimentales y la posible actividad inhibitoria de los derivados glicosilados de QUE sobre la misma proteasa. Para identificar los posibles modos de unión de QUE y sus glicósidos se realizaron cálculos de docking molecular con el programa rDock.

La región activa para el muestreo conformacional se definió a partir de las coordenadas del inhibidor N3 covalentemente unido a la proteasa Mpro (PDB ID: 6YB7). Se seleccionaron 5 poses (posiciones) para cada ligando (QUE y glicósidos) basándose tanto en los "scores" asignados por el algoritmo de docking como en información previa de la interacción de otros productos naturales; las poses se anclaron correctamente en los sub-bolsillos S1, S1', S2 y S3 dentro del sitio activo de la enzima. Posteriormente, estas mismas fueron sometidas a simulaciones de DM por triplicado de 20 ns cada una, empleando la versión CUDA de Amber16. A partir de estas trayectorias, se realizaron cálculos de energía libre para determinar la estabilidad de los complejos, utilizando el protocolo MM-PBSA. Al complejo QUE-Mpro con mayor estabilidad relativa (valor promedio: -17.45 kcal/mol) se le realizó un estudio basado en densidad electrónica, usando el paquete Gaussian, sobre una estructura representativa seleccionada a partir de las simulaciones de DM. El análisis topológico de densidad electrónica (QTAIM) se realizó con ayuda del software Multiwfn. Los grafos moleculares se construyeron con Pymol. Los resultados muestran que la conformación más estable de QUE está anclada en el sub-bolsillo 1 (S1) del sitio activo de la enzima. El análisis de las interacciones revela que el principal punto de anclaje de QUE dentro de S1 son las interacciones que ésta establece a través del carbonilo del anillo benzopirano con un loop que contiene el residuo catalítico Cys 145. Estas interacciones tienen sentido, ya que este loop conforma el agujero oxi aniónico de la enzima, una estructura que está especializada para interaccionar con aceptores de hidrógeno (la función del agujero oxi aniónico es estabilizar la carga negativa que se localiza sobre el oxígeno carbonílico de la unión amida del sustrato en el estado de transición, luego del ataque nucleofílico de la Cys 145). Por otra parte, aunque los glicósidos de QUE presentaron valores de energía libre más negativos que esta misma sin glicosilar (valores promedio: qc-3-O-glc-H= -23.17 kcal/mol; qc-3-o-gal-H= -24.04 kcal/mol), éstos no son consistentes entre réplicas y al ser analizados de forma visual mediante el programa VMD, se observa que se despegan de su sitio de anclaje a lo largo de las trayectorias. Este comportamiento se atribuye a la mayor afinidad de la glicona (la parte glicosilada de la molécula) por las moléculas de agua en comparación con la QUE sin glicosilar.

En conclusión, nuestro estudio in silico apoyado en la estructura de la Mpro nos permitió entender cómo la QUE interactúa con la proteasa Mpro a nivel molecular, y cómo esta interacción logra inhibir su actividad proteolítica y afectar la replicación del virus. Por otra parte, los resultados también predicen que la glicosilación de QUE tendría un efecto detrimental sobre la inhibición de Mpro debido a las interacciones del azúcar con las moléculas de agua del medio.