

## Inhibición de la proteína Niemann Pick C1 implicada en la transmisión del virus del Ébola: un estudio de acoplamiento molecular

Adolfo E. Ensuncho\*, Juana R. Robles y Juan L. Chávez

Facultad de Ciencias, Dpto. de Química, Universidad de Córdoba, Grupo de Química Computacional, Cra, 6 #76-305, Montería-Colombia. (correo-e: [aensuncho@correo.unicordoba.edu.co](mailto:aensuncho@correo.unicordoba.edu.co), [jrobles@correo.unicordoba.edu.co](mailto:jrobles@correo.unicordoba.edu.co), [juanluischavez@gmail.com](mailto:juanluischavez@gmail.com))

*Recibido Ene. 13, 2020; Aceptado Mar. 16, 2020; Versión final Abr. 11, 2020, Publicado Ago. 2020*

### Resumen

En el presente artículo, se propone una ruta para la generación de compuestos que inhiban el virus del Ébola mediante un estudio de acoplamiento molecular. El anclaje del virus del Ébola se da en la proteína Niemann Pick C1 (NPC1), la cual se encarga del transporte de colesterol en el sistema endosoma/lisosoma. Se aprovecharon moléculas que han sido reportadas experimentalmente como posibles inhibidores del virus, para evaluar una posible inhibición competitiva en estos sistemas moleculares. Se tomaron varias moléculas con energías de afinidad por los sitios activos, lo que permitió identificar el potencial farmacocinético de estas moléculas. Asimismo, se hicieron estudios de adsorción, distribución, metabolismo, y excreción. Se concluye que los resultados expuestos en este trabajo muestran el gran potencial inhibitorio de las moléculas A, B, I, J y K, del anclaje de la glicoproteína del virus del Ébola con la proteína Niemann Pick C1.

*Palabras clave: virus Ébola; Niemann Pick C1; acoplamiento molecular; farmacocinético; inhibición competitiva*

## Inhibition of the Niemann Pick C1 protein involved in the transmission of the Ebola virus: a molecular docking study

### Abstract

This research article proposes a systematic path for the generation of compounds that inhibit the Ebola virus through a molecular docking study. Ebola virus anchoring occurs in the Niemann Pick C1 (NPC1) protein, which is responsible for transporting cholesterol in the endosome/lysosome system. Molecules that have been experimentally reported as possible virus inhibitors were used to assess a possible competitive inhibition in these molecular systems. Several molecules with affinity energies were taken by the active sites, which allowed to identifying the pharmacokinetic potential of these molecules. Adsorption, distribution, metabolism, and excretion of these molecules were also examined. In conclusion, the results obtained show the great inhibitory potential of the A, B, I, J, and K molecules on the anchoring of the Ebola virus glycoprotein with the Niemann Pick C1 protein.

*Keywords: Ebola virus; Niemann Pick C1; molecular docking, pharmacokinetic, competitive inhibition*

## INTRODUCCIÓN

El género ebolavirus es un miembro de la familia de virus *Filoviridae* del orden de los mononegavirales (Feldmann, 2013), e incluye cinco especies, cada una con diferencias significativas, dado el grado de virulencia y distribución geográfica. Así, por ejemplo, *Ebolavirus reston* (RESTV) no es patógeno para los humanos, mientras que *Ebolavirus zaire* (EBOV) representa la forma más patógena para los humanos, con tasas de letalidad de hasta 90% (Feldmann, 2011). El ARN no segmentado del virus está envuelto de forma filamentosa e individual (Feldmann, 2011; Geisbert, 2010). La enfermedad por el virus del Ébola (EVE) es una enfermedad grave, a menudo mortal en el ser humano. El EVE se detectó por vez primera en dos brotes simultáneos ocurridos en Nzara (Sudán del Sur) y Yambuku (República Democrática del Congo), la aldea en que se produjo el segundo de ellos está situada cerca del río Ébola, que da nombre al virus (Trilla, 2014). El brote de EVE de 2014-2016 en África Occidental fue el más extenso y complejo desde que se descubrió el virus en 1976. Los síntomas clínicos del virus se caracterizan por la producción masiva de toxinas pro-inflamatorias en respuesta a la infección, sangrados excesivos, fiebres altas, escalofríos y problemas al respirar (Zampieri, 2007).

La entrada del virus del Ébola en las células, depende de la proteína de membrana Niemann-Pick C1 (NPC1), codificada por un gen cuya mutación causa la enfermedad de Niemann-Pick tipo C, una enfermedad lisosomal caracterizada por la acumulación de colesterol no esterificado en los glicolípidos lisosomales en las células normales. La proteína NPC1 actúa como transportadora de las moléculas grandes hidrófobas a través del sistema endosoma-lisosoma (Feldmann, 2013; Côté et al., 2011). Se observó que cuando esta proteína no es funcional, el virus del ébola no puede entrar en la célula, por lo que la célula permanece sana a pesar de la presencia de virus en el organismo (Smither et al., 2014).

Ante la gran preocupación pública asociada con la infección por el virus del Ébola, es reconfortante presenciar los avances continuos realizados en el estudio de los mecanismos cruciales de la infección por el virus del Ébola y la identificación de posibles dianas terapéuticas (Smither et al., 2014; Johansen et al., 2013). Del mismo modo, los prometedores resultados preclínicos obtenidos de agentes antivirales evaluados de forma experimental (Smither et al., 2014), o medicamentos aprobados (Johansen et al., 2013; Madrid et al., 2013) en las que estas pequeñas moléculas parecen indicar oportunidades para abordar el EVE con la formulación de vacunas, productos de contrarresto biológico (Qiu et al., 2012a; Qiu et al., 2013b) e interferencia del ácido ribonucleico (ARN) (Geisber, 2010).

Actualmente, el virus Ébola no cuenta con tratamientos ni vacunas aprobadas; esto debido a la gran complejidad de trabajar en laboratorios con un patógeno tan peligroso (Trilla, 2014). La química computacional nace con la necesidad de comprender aspectos importantes que son difíciles de resolver de forma práctica (Valles-Sánchez, 2014). En consecuencia, el estudio del virus con respecto a la proteína NPC1, es de gran importancia a nivel regional, nacional y mundial, a pesar que América Latina no ha tenido casos conocidos, su prevención y estudio es de gran relevancia y debe ser de gran interés para la comunidad científica, de modo que se ha aprovechado una serie de compuestos que han sido reportados experimentalmente (Edwige, 2015; Valles-Sánchez, 2014) como posibles fármacos. En este sentido, la finalidad de este trabajo es aportar a la comunidad científica una posible ruta para la generación de compuestos que inhiban el EVE, mediante un estudio computacional de acoplamiento molecular.

## METODOLOGÍA

Se utilizó el programa computacional Avogadro (Hanwell, 2012), para la creación de los diferentes ligandos (estructuras de estudio). Además se implementó el paquete computacional Gaussian-03 (Frisch et al., 2003), para las optimizaciones geométricas de los ligandos, utilizando el funcional híbrido B3LYP como nivel de teoría, y para representación de los orbitales se utilizó el conjunto de base 6-31G(d), donde dicha base incluye seis funciones Gaussianas primitivas de segundo orden, y seguidamente de dos funciones base de diferentes tamaños, siendo una base doble de valencia dividida por polarización (d) para describir los átomos pesados de Nitrógeno (N) y Carbono (C) (Civalleri, 2008). Además, se realizó un estudio topológico de la proteína Niemann Pick C1, mediante su archivo PDB, en el programa en línea POCKET (Schmidtke, 2010), para obtener todos sus sitios reactivos, o sitios de unión, con el fin de conocer las partes de la proteína que pueden interactuar con un ligando.

### *Cálculos de energías de los acoplamientos moleculares globales*

Inicialmente se crearon las estructuras de los inhibidores investigados, usando el paquete computacional Avogadro, los cuales se optimización al nivel de teoría B3LYP/6-31G(d), por el paquete de programas Gaussian-03. La estructura de la proteína se descargó de la base de datos Protein Data Bank, (PDB, por sus siglas en inglés), con el código 5F18 (Wang et al., 2016). Posteriormente, se eliminaron las moléculas de agua

de la proteína mediante el programa PyMOL (Seeliger y de Groot, 2010). Asimismo, mediante el paquete AutoDock4 (Morris et al., 2009), se generaron los archivos PDBQT, tanto de la proteína, como de los ligandos, para su acoplamiento global. Posteriormente, una vez realizado los acoplamientos globales y puntuales, el estudio se enfocó específicamente, en las interacciones presentes en el sitio de unión 1 (tabla 1), debido a que en este sitio se encuentran los residuos de aminoácidos involucrados en el anclaje de la proteína Niemann Pick C1 y el virus del Ébola, tal como lo definió el trabajo de experimental de Wang y colaboradores (Wang et al., 2016), y corroborado mediante el servidor en línea ProteinPlus (Fährrolfes, 2017), el cual arroja una imagen de todas las interacciones presentes entre el ligando y la proteína.

#### *Cálculos de energías de los acoplamientos moleculares puntuales.*

A partir de los ligandos optimizados y de la proteína previamente tratada computacionalmente, se utilizaron los archivos PDBQT de los sistemas Proteína-Ligando, para estudiar cada uno de los cinco sitios de unión que presenta la proteína Niemann Pick C1, en los cuales se eligieron las menores energías de afinidad expresadas en kcal/mol.

#### *Evaluación de la absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME), de los ligandos.*

Se tomaron las moléculas de estudio con mejores energías de afinidad y se le realizó un estudio de ADME, mediante el servidor en línea *SwissADME* (Daina et al., 2017), para analizar cada uno de sus valores, y observar su comparación como un posible fármaco.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La proteína Niemann Pick C1 en humanos contiene 1.278 residuos, 13 hélices transmembrana y 3 grandes dominios luminales, designados como A, C, y I, como se muestra en la figura 1 (Wang et al., 2016). La estructura cristalina del dominio de primer luminal (dominio A, también llamado dominio N-terminal, que muestra un pliegue estructural helicoidal que contiene un bolsillo profundo para la unión de los esteroides, mientras que la información estructural del segundo y tercer dominio (dominios C y I, respectivamente) de NPC1, que todavía no han sido caracterizados (Wang et al., 2016). Esta proteína facilita la salida de colesterol de endosomas tardíos para la redistribución en las membranas celulares (incluyendo retículo endoplásmico y la membrana plasmática). En el trabajo de Wang et al. (2013), se muestra que los residuos de aminoácidos que interactúan con la GP2 del virus son: Y48A, Q49A, Y51A, P52, S53A, G54A, D56A, D124A, D136A, F131A, F132A, V137A, y Y134A. Ahora bien, puesto que son los residuos aromáticos Y51A, F131A, F132A, Y134A, y un residuo hidrofóbico P52A, los involucrados en el anclaje de la glicoproteína, se seleccionaron como punto de partida para el análisis de las diferentes interacciones investigadas.

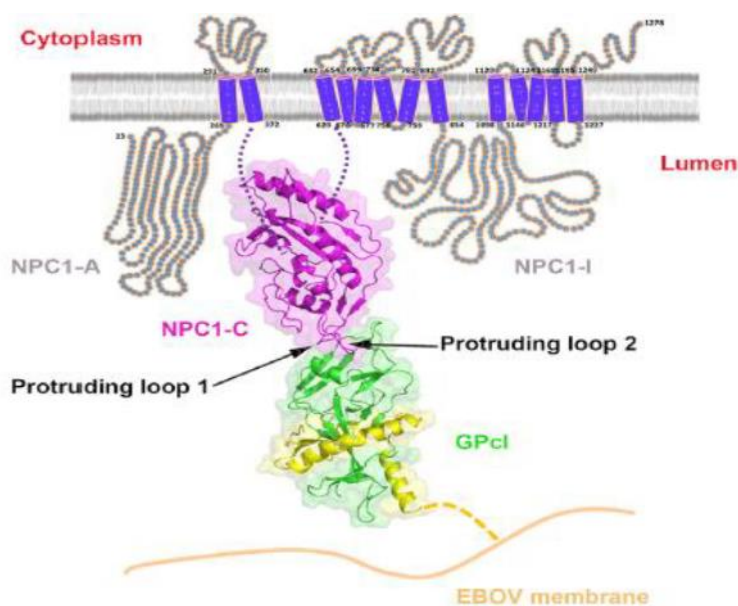


Fig. 1: Dominio C, donde se da la interacción con la Glicoproteína del virus del Ébola (GP2).

El análisis de los sitios activos se realizó mediante el programa computacional en línea POCKET, el cual arrojó cinco sitios activos en la proteína Niemann Pick C1, de los sitios de unión, es el sitio de unión 1 el principal, puesto contiene los residuos de aminoácidos involucrados en el anclaje para la transmisión del virus del Ébola mediante su glicoproteína (Wang et al., 2016), como se muestra en la Figura 2 y Tabla 1.

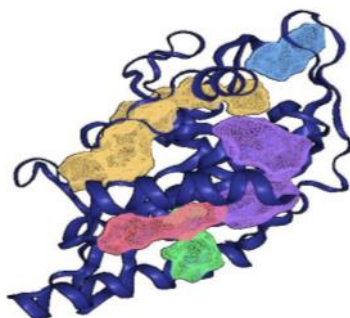

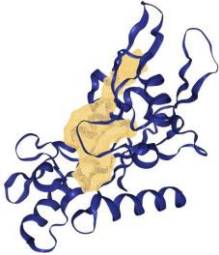
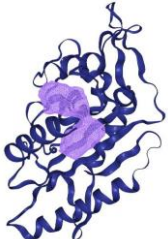

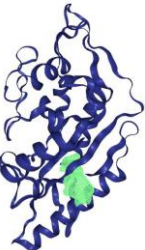


Fig. 2: Sitios de unión de la Proteína Niemann Pick C1

Tabla 1: Caracterización de los cinco sitios de unión de la proteína Niemann Pick C1, mediante el servidor en línea Proteins-Plus

Sitio de Unión	Volumen Sitio de Unión	Aminoácidos del Sitio de Unión	Parámetros de Caracterización del Sitio de Unión
1		Tyr48A, Gln49A, Pro50A, Tyr51A, Pro52A, Phe132A, Val133A, Tyr134A, Ala135A, Asp136A, His138A, Thr139A	Volumen ( $\text{\AA}^3$ ) de 169.15 Superficie ( $\text{\AA}^2$ ) de 324.12 Número de Átomos de 62 Número de Carbonos 46 Número de Nitrógenos 9 Número de Oxígenos 7
2		Tyr22A, His26A, Ile65A, Gln75A, Glu79A, Leu97A, Pro99A, Asn104A, Asn106A, Cys107A, Thr108A, Ile109A, Leu110A, Asn114A, Tyr115A, Phe116A, Gln117A, Asn118A, Val122A, Leu123A, Asp124A, His125A, Ly126A, Val133A Asp136A, Tyr137A, His138A, His140A, Pro148A, Ala149A, Leu156A, Asp159A, Pro160A Cys161A, Leu162A, Gly163A, Thr164A, Phe165A, Gly166A, Gly167A	Volumen ( $\text{\AA}^3$ ) de 790.27 Superficie ( $\text{\AA}^2$ ) de 1139.08 Número de Átomos de 208 Número de Carbonos 146 Número de Nitrógenos 29 Número de Oxígenos 33
3		Tyr22A, His26A, Ile65A, Gln75A, Glu79A, Leu97A, Pro99A, Asn104A, Asn106A, Cys107A, Thr108A, Ile109A, Leu110A, Asn114A, Tyr115A.	Volumen ( $\text{\AA}^3$ ) de 167.74 Superficie ( $\text{\AA}^2$ ) de 274.14 Número de Átomos de 44 Número de Carbonos 32 Número de Nitrógenos 5 Número de Oxígenos 7
4		Pro12A, Ser14A, Gln15A, Ala16A, Leu18A, Glu19A, Gln35A, Ile37A, Arg39A, Trp172A, Leu175A, Gly176A, Gly177A, Tyr178A, Asp180A, Gln181A, Tyr183A, Ala188A, Val190A Thr232A	Volumen ( $\text{\AA}^3$ ) de 167.74 Superficie ( $\text{\AA}^2$ ) de 274.14 Número de Átomos de 44 Número de Carbonos 32 Número de Nitrógenos 5 Número de Oxígenos 7
5		Arg32A, Thr33A, Glu34A, Gln35A, Leu36A, Ile78A, Ile109A, Ile191A, Thr192A, Phe193A Phe215A, Ile216A, Phe231A, Thr232A	Volumen ( $\text{\AA}^3$ ) de 138.50 Superficie ( $\text{\AA}^2$ ) de 318.89 Número de Átomos de 43 Número de Carbonos 31 Número de Nitrógenos 5 Número de Oxígenos 6

Cabe notar, que la función de la proteína Niemann Pick C1, consiste en regular el tráfico de colesterol intracelular. Además, evita la acumulación lisosómica de colesterol derivado de lipoproteína de baja densidad (LDL). NPC1, es esencial para la infección del virus, ya que se une a la glucoproteína del virus (GP). La vía de entrada utilizada por los filovirus está mediada por la glicoproteína de espícula viral (GP), que une las partículas virales a la superficie celular, las transfiere a endosomas y cataliza la fusión entre las membranas virales y endosómicas (Lee, 2009). Una estrategia para evitar la entrada del virus a las células, consiste en bloquear los sitios activos de la proteína Niemann Pick C1, ya que estos sitios pueden ser ocupados por moléculas o ligandos que tengan una mayor afinidad de interacción con respecto a las glucoproteínas de filovirus, es decir, que se establezca una inhibición competitiva por los cinco sitios activos de la proteína. En la Tabla 1, se muestran los cinco sitios activos para las interacciones entre los ligandos y proteína Niemann Pick C1.

En el estudio se evidenció, que los cinco sitios activos de la proteína Niemann Pick C1, tienen gran afinidad por la molécula de colesterol, siendo el sitio de unión 1 el de mayor afinidad de toda la proteína. Aunque este sitio es uno de los más pequeños en la proteína, exhibe la mayor interacción con los ligandos (mayor acoplamiento), y por ende las mejores energías de afinidad. Si bien, el colesterol es el ligando natural por excelencia para interactuar con la NPC1, se logró encontrar otros ligandos que tienen mayor afinidad de interacción con NPC1 en todos los cinco sitios activos, lo cual permite asumir que pueden ser potenciales agentes antivirales que interfieran la unión del virus con la proteína Niemann Pick C1. En la tabla 2, se muestran los ligandos utilizados como posibles moléculas antivirales. De las doce moléculas de estudio, ocho fueron tomadas de los trabajos realizados por Côté et al. (2009), y de Picazo y Giordanetto (2015), las últimas tres moléculas fueron propuestas en este trabajo de investigación.

Tabla 2: Ligandos utilizados como posibles moléculas antivirales del Ébola

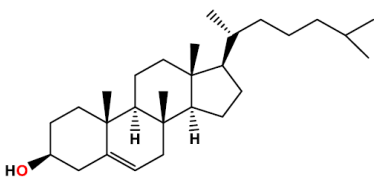
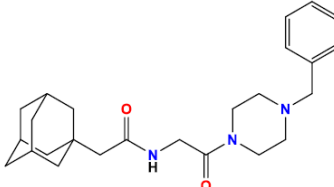
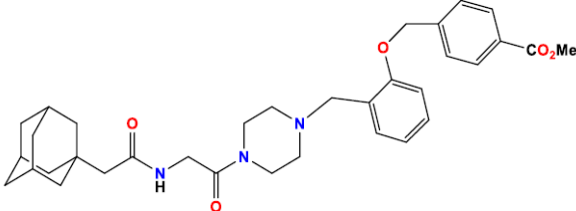
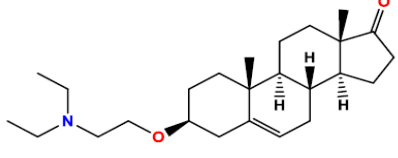
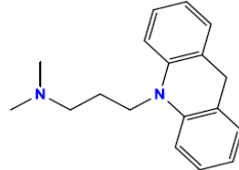
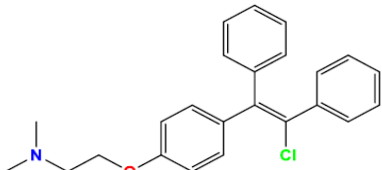
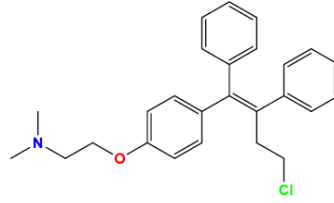
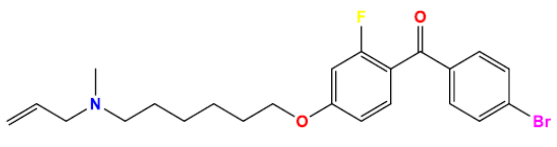
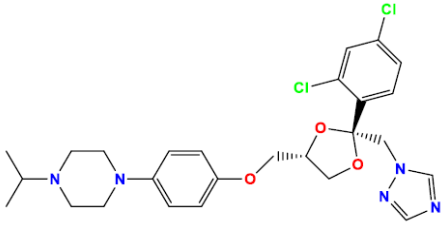
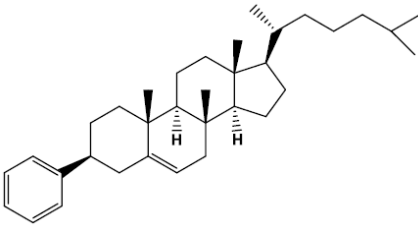
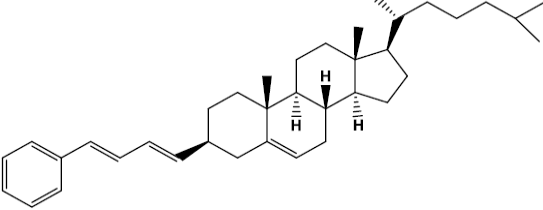
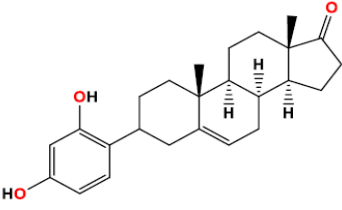
	
<p>Estructura de referencia: Colesterol, ((3β)-colest-5-en-3-ol)</p>	<p>Estructura A: 2-((3r,5r,7r)-adamantan-1-il)-N-(2-(4-bencilpiperacin-1-il)-2-oxoetil) acetamida</p>
	
<p>Estructura B: Metil 4-((2-((4-((2-((3r,5r,7r)-adamantan-1-il)acetil)glicil)piperacin-1-il)metil)fenoxi)metil)benzoato</p>	<p>Estructura C: (3S,8R,9S,10R,13S,14S)-3-(2-(dietilamino)etoxi)-10,13-dimetil 1,2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16-tetradecahidro-17H-ciclopenta[a]fenantren-17-ona</p>
	
<p>Estructura D: 3-(acridin-10(9H)-il)-N,N-dimetilpropan-1-amina</p>	<p>Estructura E: (Z)-2-(4-(2-cloro-1,2-difenilvinil)fenoxi)-N,N-dimetiletan-1-amina</p>
	
<p>Estructura F: (E)-2-(4-(4-cloro-1,2-difenilbut-1-en-1-il)fenoxi)-N,N-dimetiletan-1-amina.</p>	<p>Estructura G: 4-((6(alil(metil) amino) hexil)oxi)-2-fluorofenil(4-bromofenil) metanona</p>

Tabla 2: (Continuación)

	
<p>Estructura H: 1-(4-(((2R,4S)-2-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methyl)-2-(2,4-dichlorofenil)-1,3-dioxolan-4-yl)metoxi)fenil)-4-isopropil-piperazina</p>	<p>Estructura I: (3S,8S,9S,10R,13R,14R,17R)-8,10,13-trimetil-17-((R)-6-metilheptan-2-yl)-3-fenil-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantreno.</p>
	
<p>Estructura J: (3S,8S,9S,10R,13R,14R,17R)-8,10,13-trimetil-17-((R)-6-metilheptan-2-yl)-3-((1E,3E)-4-fenilbuta-1,3-dien-1-yl)-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahidro-1H-ciclopenta[a]fenantreno</p>	<p>Estructura K: (8S,9S,10R,13S,14S)-3-(2,4-dihroxifenil)-10,13-dimetil 1,2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16-tetradecahidro-17H-ciclopenta[a]fenantren-17-ona</p>

En la Tabla 3, se presentan los valores de energía de los acoplamientos globales y sitios activos entre cada uno de los ligandos y la proteína Niemann Pick C1. El estudio de acoplamiento molecular se llevó a cabo con el programa AutodockVina (Trott y Olsen, 2010), con cada uno de los sistemas (Proteína-Ligando) los cuales se realizaron mediante dos vías: i) un acoplamiento global (sobre toda la proteína) y ii) un acoplamiento puntual (sobre cada uno de los cinco sitios activos). Como se muestra en la Tabla 3, se obtuvieron distintas energías de afinidad para las moléculas bajo estudio con la proteína Niemann Pick C1.

Tabla 3: Valores de energías de los acoplamientos globales y sitios activos entre cada uno de los ligandos y la proteína Niemann Pick C1

Estructura/Energía (kcal mol <sup>-1</sup> )	Global	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3	Sitio 4	Sitio 5
Colesterol	-7.00	-7.50	-7.00	-7.10	-6.50	-5.30
A	-7.10	-7.80	-7.50	-6.40	-6.50	-5.60
B	-6.60	-7.60	-6.40	-7.10	-8.00	-6.70
C	-5.50	-7.00	-6.40	-7.20	-7.10	-6.20
D	-6.30	-5.80	-5.90	-6.10	-6.20	-6.20
E	-6.10	-6.50	-5.80	-6.10	-6.00	-6.00
F	-4.80	-6.00	-5.70	-6.00	-5.80	-5.60
G	-5.00	-5.10	-5.10	-5.00	-6.30	-4.80
H	-4.60	-5.30	-5.30	-5.80	-6.70	-5.20
I	-8.00	-8.00	-7.70	-7.90	-7.50	-7.90
J	-8.20	-8.30	-8.20	-8.20	-7.90	-8.20
K	-7.50	-8.00	-7.40	-7.60	-6.00	-5.60

En las Figuras 3 y 4, se muestran las diferentes interacciones entre la proteína Niemann pick C1 y el ligando descrito como estructura A, de igual forma, se hicieron los estudios con cada uno de los ligandos con la proteína Niemann Pick C1. La molécula A, interactúa con este residuo de aminoácido a través de una interacción de tipo hidrofóbico y otra de tipo  $\pi$ - $\pi$ , por lo que, esta molécula podría inhibir competitivamente el sitio de unión de la proteína Niemann Pick C1. También, hay otras interacciones de gran importancia en esa región con los residuos Asp136A y Lys126A, los cuales presentan interacciones de tipo hidrofóbico (Daina et al., 2017; Ritchie, 2011; Lovering, 2009).

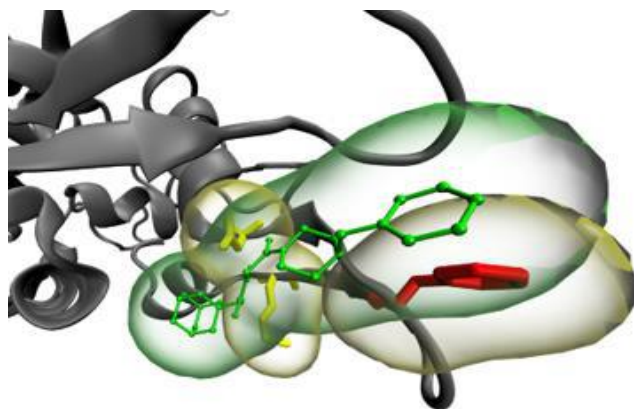


Fig. 3: Interacciones de la molécula A con los residuos de aminoácidos del sitio de unión 1 en la proteína Niemann Pick C1

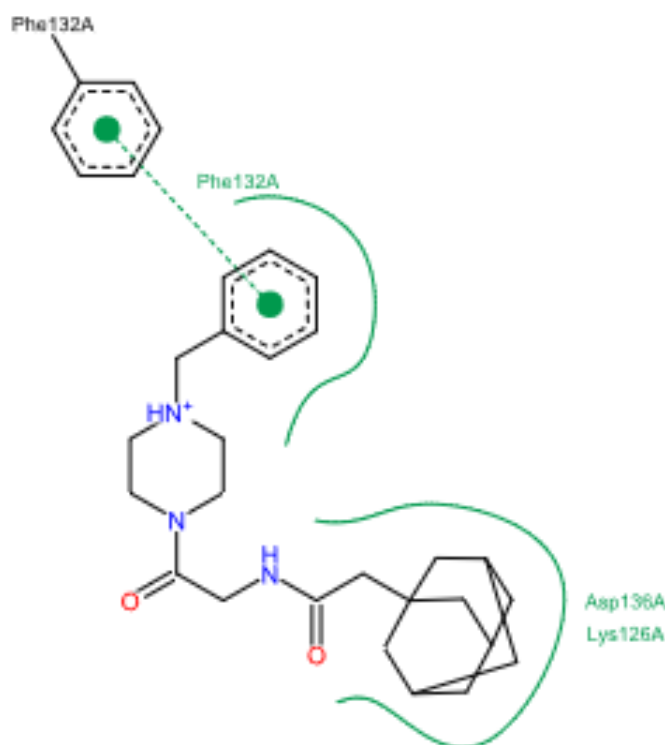


Fig. 4: Interacciones de la molécula A y algunos de los residuos de aminoácidos del sitio de unión 1 de la proteína Niemann Pick C1

De las estructuras analizadas, se tomaron aquellas más prometedoras y se hizo un estudio de Adsorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME). Para el estudio, se tuvieron en cuenta seis propiedades fisicoquímicas como son; la lipofilicidad, el tamaño, la polaridad, la solubilidad, la flexibilidad y la saturación. Los intervalos fisicoquímicos en cada eje se encuentran adaptados mediante descriptores (Ritchie, 2011), y se representan como un área de color rosado (figura 5), en la que la trama de radar de la molécula tiene que caer por completo para considerarse como similar a una droga (Daina et al., 2017). Como se observa en la Figura 5, los valores de lipofilicidad, polaridad, solubilidad, tamaño, saturación y flexibilidad, se encuentran dentro del área óptima (sombreada de color rosa) de los valores de referencia. Además, se mejoraron las propiedades ADME de lipofilicidad y solubilidad para las moléculas I y J, conservando la estructura tipo colesterol permitiéndole gran afinidad con la proteína Niemann Pick C1.

En la Tabla 4, se muestran los valores ADME para cada una de las moléculas bajo estudio con mejores energías de afinidad en el sitio activo 1, el cual está involucrado en el acople de la glicoproteína con el virus. Se muestran los principales parámetros ADME para las moléculas A, B, I, J y K, respectivamente. Las moléculas I y J superan los valores estimados para las propiedades de lipofilicidad y solubilidad, por lo que se buscó una estructura química similar que ubicará la molécula dentro del rango de referencia establecido (Daina et al., 2017). La molécula K cumple con todos los parámetros de ADME, y encaja perfectamente en el radar de biodisponibilidad que asemeja la estructura química con un fármaco.

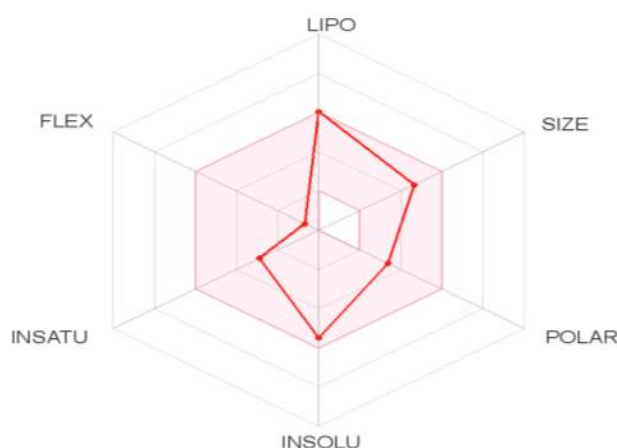


Fig. 5. Radar de biodisponibilidad para la Molécula K, estudiado mediante el servidor en línea SwissADME.

Tabla 4: Parámetros de ADME para cada uno de los ligandos con energías de afinidad en el sitio de Unión 1

ADME Parámetros	Moléculas				
	A	B	I	J	K
Lipofilicidad (XLOGP3)	2.95	3.45	11.28	12.67	5.07
Tamaño (MW), (g/mol)	395.54	359.55	446.75	498.82	380.52
Polaridad (TPSA), (A2)	52.65	29.54	0	0	57.53
Solubilidad (log S)	3.84	3.87	9.45	10.44	5.49
Saturación ( $\geq 0,25$ )	0.67	0.87	0.76	0.68	0.64
Flexibilidad (Máximo 9 enlaces rotatorios)	7	6	6	8	1
Adsorción Gastrointestinal	Alto	Alto	Bajo	Bajo	Alto
Accesibilidad Sintética (de 1 muy fácil a 10 muy difícil)	4.76	5.11	5.62	6.78	4.72

## CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1) Las mejores energías de afinidad se presentaron en mayor grado con las estructuras tipo colesterol, o aquellas donde se presentan interacciones hidrofóbicas.
- 2) Las moléculas A, B, I, J y K, fueron las estructuras más prometedoras para la inhibición de la proteína Niemann Pick C1.
- 3) Se propusieron tres estructuras nuevas, designadas como I, J y K, las cuales mejoraron considerablemente las energías de afinidad con la proteína Niemann Pick C1.
- 4) El tamaño del sitio no implica más afinidad, como se puede observar en el sitio de unión 1, que siendo uno de los más pequeños, es el que genera y recibe mejores acoples, y por ende mejores energías de afinidad.
- 5) El estudio del sitio de unión 1, mostró que las moléculas con mejores energías de afinidad tienen interacciones con los residuos de aminoácidos Y51A, F131A, F132A, Y134A y P52A, los cuales están involucrados en la transmisión del virus del Ébola.
- 6) A partir del estudio ADME se puede afirmar que moléculas con características de lipofilicidad excesiva, no favorecen los parámetros farmacocinéticos (moléculas I y J), por la cual se buscó una estructura que mejorara dichos parámetros, consiguiéndose la estructura K, que encajó perfectamente en el radar de biodisponibilidad, y que mejoró la afinidad con la proteína Niemann Pick C1.
- 7) Los resultados expuestos en este trabajo muestran el gran potencial inhibitorio de las moléculas A, B, I, J y K, del anclaje de la glicoproteína del virus del Ébola con la proteína Niemann Pick C1.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Córdoba, por el apoyo económico brindado para la realización de esta investigación.



## REFERENCIAS

- Civalleri, B., Zicovich-Wilson, C.M., Valenzano, L., y Ugliengo, P., *B3LYP augmented with an empirical dispersion term (B3LYP-D\*) as applied to molecular crystals*, Cryst. Eng. Comm, 10(4), 405-410 (2008).
- Côté, M., Misasi, J.T., Ren, A., Bruchez, K., Lee, C.M., Filone, L., Hensley, Q., Li, Q., Ory, D., Chandran, K., y Cunningham, J., *Small Molecule Inhibitors Reveal Niemann–Pick C1 Is Essential for Ebola Virus Infection*, Nature, 477, 344-348 (2011).
- Daina, A., Michielin, O., y Zoete, V., *Swiss ADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules*, Sci. Rep, 7, 42717 (2017).
- Feldmann, H., y Geisbert, T.W., *Ebola haemorrhagic fever*, The Lancet, 377, 849-862 (2011).
- Feldmann, H., Sánchez, A., y Geisbert, T., *Filoviridae: Marburg and ebola viruses*. In *Fields Virology*: 6ª ed., 1, Wolters Kluwer Health Adis, España (2013).
- Fährrolfes, R., Bietz, B., Flachsenberg, F., Meyder, A., Nittinger, E., Otto, T., Volkamer, A., y Rarey, M., *ProteinsPlus: a web portal for structure analysis of macromolecules*, Nucleic. Acids. Res., 45, W337-W343 (2017).
- Frisch, M., Trucks, G., y Schlegel, H., *Gaussian Inc*, Pittsburgh, PA, 2003.
- Geisbert T.W., Lee, A.C., Robbins, M., Geisbert, J.B., Honko, A.N., Sood, V., Johnson, J.C., de Jong, S., Tavakoli, I., Judge, A., Hensley, L.E., y Maclachlan, I., *Postexposure protection of non-human primates against a lethal Ebola virus challenge with RNA interference: a proof-of-concept study*, The Lancet, 375, 1896-1905 (2010).
- Hanwell, M.D., Curtis, D.E., Lonie, D.C., Vandermeersch, T., Urek, E., y Hutchison, G.R., *Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform*, J Cheminform, 4(1), 17 (2012).
- Johansen, L.M., Brannan, J.M., Delos, S.E., Shoemaker, Stossel, C.J., Lear, A., y Benjamin, G., *FDA-approved selective estrogen receptor modulators inhibit Ebola virus infection*, Sci. Transl. Med. 5(190), 1-15 (2013).
- Lee, J.E., y Saphire, E.O., *Ebolavirus glycoprotein structure and mechanism of entry*, Future Virol, 4, 621-635 (2009).
- Madrid, P.B., Chopra, S., Manger, I.D., Gilfillan, L., Keepers, T.R., Shurtleff, A.C., Green, C.E., Iyer, L.V., Dilks, H.H., Davey, R. A., Kolokoltsov, A.A., Carrion, R., Patterson, J.L., y Tanga, M.J., *A systematic screen of FDA-approved drugs for inhibitors of biological threat agents*, PLOS ONE, 8, e60579 (2013).
- Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S., y Olson, A.J., *Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility*, J. Comput. Chem, 16, 2785-2791 (2009).
- Picazo, E., y Giordanetto, F., *Small Molecule Inhibitors of Ebola Virus Infection*, Drug Discov. Today, 20(7), 277-286 (2015).
- Qiu, X, Audet, J., Wong, G., Pillet, S., Bello, A., Cabral, T., Strong, J.E., Plummer, F., Corbett, C.R., Alimonti, J.B., y Kobinge, G.P., *Successful treatment of ebola virus-infected Cynomolgus macaques with monoclonal antibodies*, Sci. Transl. Med. 4, 1-12 (2012).
- Qiu, X., Wong, G., Fernando, L., Ennis, J., Turner, J.D., Alimonti, JB., Yao, X., y Kobinger, G.P., *Monoclonal antibodies combined with adenovirus-vectored interferon significantly extend the treatment window in ebola virus-infected guinea pigs*, J. Virol, 87, 7754-7757 (2013).
- Ritchie, T.J., Ertl, P., y Lewis, R., *The graphical representation of ADME-related molecule properties for medicinal chemists*, Drug Discovery Today, 6, 65-72 (2011).
- Seeliger, D., y de Groot, B.L., *Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina*, J. Comput. Aided. Mol. Des, 24, 417-422 (2010).
- Smither, S.J., Eastaugh, L.S., Steward, J.A., Lenk, R.P., y Lever, M.S., *Post-exposure efficacy of Oral T-705 (Favipiravir) against inhalational Ebola virus infection in a mouse model*, Antivir. Res. 104, 153-155 (2014).
- Schmidtke, P.V., Guilloux, Le., Maupetit J., y Tuffer, T., *Fpocket: online tools for protein ensemble pocket detection and tracking*, Nucleic. Acids. Res, 38, W582-W589 (2010).
- Trilla, A., *Ébola ad portas*, Med Clin, 43 (11), 492-494 (2014).
- Trott, O., y Olson, A.J., *AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading*, J. Comput. Chem, 31, 455-461 (2010).
- Valles-Sánchez, A., Rosales-Marines, L., Serrato-Villegas, L.E., y Cepeda, L.F., *Métodos y Usos de la Química Computacional*, Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila, 6(11), 16-21 (2014).
- Wang, H., Shi, Y., Song, J., Qi, J., Lu, G., Yan, J., y Gao, G.F., *Ebola viral glycoprotein bound to its endosomal receptor Niemann-Pick C1*, Cell, 164(1-2), 258-268 (2016).
- Zampieri, C.A., Sullivan, N.J., y Nabel, G.J., *Immuno pathology of high y virulent pathogens: Insights from Ebolavirus*, Nature Immunol, 8, 1159-164 (2007).

Página en blanco