

[Comput Biol Chem](#). 2022 Ago; 99: 107692.
Publicado en línea en línea 2022 14 de mayo. doi:
PMCID:
PMID: [35640480](#)

Interacción del nuevo inhibidor paxlovid (PF-07321332) y ivermectina con el monómero de la proteasa principal SARS-CoV-2: Estudio volumétrico basado en dinámica molecular, redes elásticas, termodinámica clásica y SPT

[Ysaías José Alvarado](#), ^{a,*}[Yosmari Olivarez](#), ^B[Carla Lossada](#), ^a[Juana Vera-Villalobos](#), ^c[José Luis Paz](#), ^d[Eddy Vera](#), ^b[Bb Loroño](#), ^c[Alejandro Vivas](#), ^b[Fernando Javier Torres](#), ^{f,g}[Laura N. Jeffreys](#), ^h[María Laura Hurtado-León](#), ⁱ y [Lenin González-Paz](#) ^{ij,**}
[Autor Notas del artículo](#) [Información de Derechos y Licencia](#) [PMC Descarga de responsabilidad](#)
[Ir a:](#)

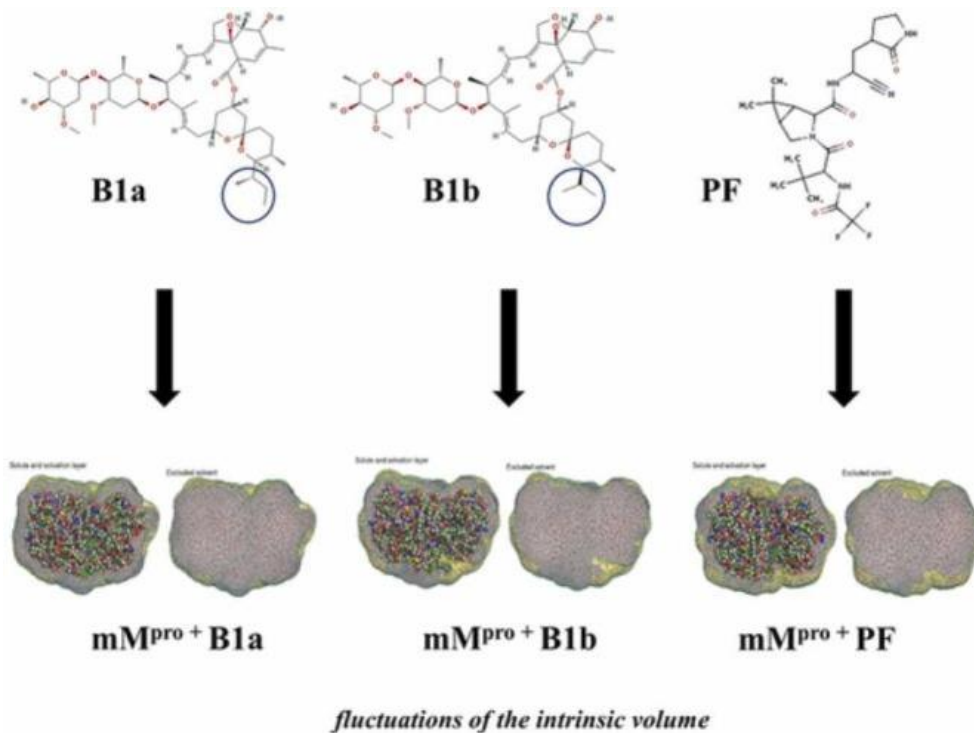
Resumen

La pandemia COVID-19 ha acelerado el estudio de los fármacos, sobre todo de ivermectina y más recientemente de Paxlovid (PF-07321332) que se encuentra en ensayos clínicos de fase III con datos experimentales que muestran una unión covalente a la proteasa viral M^{pro}. Los desarrollos teóricos del acoplamiento dirigido por el sitio catalítico apoyan la unión termodinámicamente viable no covalente a M^{pro}. Aquí mostramos que Paxlovid se une de forma no covalente en regiones distintas a los sitios catalíticos con energías más fuertes de lo reportado y en el mismo sitio de unión que la ivermectina B1a homologue, todo a través de metodologías teóricas, incluyendo acoplamiento ciego. Caracterizamos volumétricamente la interacción no covalente de los homologados de ivermectina (avermectins B1a y B1b) y Paxlovid con el monomero mM^{pro}, a través de la dinámica molecular y la teoría de partículas escaladas (SPT). Utilizando la fluctuación-disipación teorema (FDT), estimamos las fluctuaciones del momento del dipolo eléctrico en la superficie de cada complejo involucrado en este estudio, con tendencias similares a las observadas en el volumen de interacción. El uso de fluctuaciones del volumen intrínseco y el número de fragmentos flexibles de proteínas que utilizan redes elásticas anisotrópicas y gaussianas (ANM-GNM) sugiere que los complejos con ivermectina son más dinámicos y flexibles que el monomero no conectado. En contraste, la unión de Paxlovid a mM^{pro} muestra que el ^{pro}complejo mM^{pro}-PF es el menos estructuralmente dinámico de todas las especies medidas en esta investigación. Los resultados apoyan un mecanismo molecular diferencial de las homologaciones de ivermectina y PF en el monómero ^{profesional} de mM. Por último, los resultados mostraron que Paxlovid a pesar de estar en diferentes sitios a través de formas covalentes o no covalentes se comporta de manera similar en términos de su flexibilidad estructural y comportamiento volumétrico.

Palabras clave:

[Ir a:](#)

Abstracto gráfico



[Ir a:](#)

1. Introducción

Durante el COVID-19 los investigadores de la pandemia buscaron nuevos enfoques terapéuticos para el destino SARS-CoV-2. Un enfoque común fue la recomposición de medicamentos farmacéuticos aprobados para reducir costos, riesgos y tiempo a la aprobación/adopción en entornos clínicos. Los métodos computacionales con un abordaje biofísico se pueden utilizar para descubrir diferentes interacciones y fenómenos farmacocinéticos que no se consideran y no se encuentran durante el proceso de ensayo clínico, especialmente para los medicamentos existentes que podrían ofrecer un alcance médico más amplio como la ivermectina ([Adhikari et al., 2020](#), [Aggarwal y Biswas, 2020](#)).

La Ivermectina se compone de una mezcla aproximada de 80:20 de dos homólogos, avermectina B1a (B1a) y avermectina B1b (B1b), que difieren en presencia de un secbutilo y un grupo de isopropilos, en la posición C25, respectivamente (ver [Fig. 1](#)). Se ha llevado a cabo una amplia variedad de estudios biofísicos computacionales para determinar la capacidad de la ivermectina para tratar COVID-19 debido a la actividad antiviral multimeta mostrada contra SARS-CoV-2 *in vitro* ([Aghdam et al., 2021](#), [Agrawal et al., 2019](#), [Ahmad et al., 2021](#), [Al Khoury et al., 2022](#)). La Ivermectina ha mostrado una mayor energía de unión a diferentes proteínas dianas de SARS-CoV-2 en comparación con otros medicamentos antivirales y nuevos candidatos, como el inhibidor del tipo de alfaqueamida 13b ([González-Paz et al., 2021](#)). Se ha sugerido que muchas proteínas ^{pro}interactúan con la ivermectina, como la proteasa M proteasa que es responsable de la mayoría de las modificaciones post-traduccionales de los polipéptidos SARS-CoV-2 ([Adhikari et al., 2020](#), [Aggarwal y Biswas, 2020](#), [Aghdam et al., 2021](#), [Agrawal et al., 2019](#)). A pesar de todos los esfuerzos realizados para demostrar los cambios estructurales y energéticos inducidos en M^{pro} por la unión de ivermectina ([González-Paz et al., 2021](#)), los cambios termodinámicos que acompañan este proceso desde una perspectiva volumétrica aún permanecen desconocidos. Como algunos autores ([Alvarado et al., 2018](#), [Alvarado et al., 2015](#), [Alvarado et al., 2021](#)) han demostrado de manera concluyente, este tipo de estudio proporciona información sobre el papel desempeñado por la hidratación en la modulación de la estabilidad de las proteínas y su papel en las reacciones de unión del ligando. Es importante mencionar que se ha demostrado que las interacciones proteína-proteína y proteína-ligando se producen con la pérdida o ganancia de moléculas de agua alrededor del ligando y/o la proteína (agua biológica), un fenómeno con potencial impacto farmacológico porque es clave para la actividad biológica de estas proteínas ([Antonopoulou et al., 2022](#), [Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#), [Brovchenko et al., 2010](#), [Azam et al., 2021](#), [Azam et al., 2020](#), [Ball, 2017](#) [Barletta y Fernández-Alberti, 2018](#), [Barletta et al., 2019](#), [Blake y Soliman, 2014](#)). A pesar del esfuerzo teórico realizado y los estudios *in vitro* de su actividad antiviral hasta la fecha, todavía no hay informes experimentales que confirmen la

unión y perturbación de M^{pro} por ivermectina. Por esta razón, se realizó un estudio comparativo de estos homólogos de ivermectina con el nuevo fármaco clínico de fase III llamado Paxlovid o PF-07321332 (a partir de ahora llamaremos PF-07321332) de los cuales hay datos teóricos y experimentales que muestran su unión a la proteasa M^{pro} en el sitio catalítico ([Carvallo y Hirsch, 2020](#), [Chalikian, 2016](#), [Chalikian, 2021](#), [Chalikian y Breslauser, 1996](#), [Chalikian y Filfil, 2003](#)). Teóricamente usando Docking dirigido, se ha propuesto un modelo que esta unión se produce a través de una unión no-coenta de PF en el sitio catalítico causando la formación de las especies covalentonariamente en el sitio a través de la formación de un grupo de tilato-inidazolium ([Macchiagodena et al., 2022](#)). Curiosamente esta especie es menos favorecida termodinamicamente que el complejo no covalente ([Zhao et al., 2021](#)). Este estudio, además de ser interesante, abre la posibilidad de evaluar mediante ataque ciego la posible formación de complejos con PF-07321332 por unión termodinamicamente favorable no covalente en sitios distintos al sitio catalítico que se ha reportado ([Kneller et al., 2022](#)).

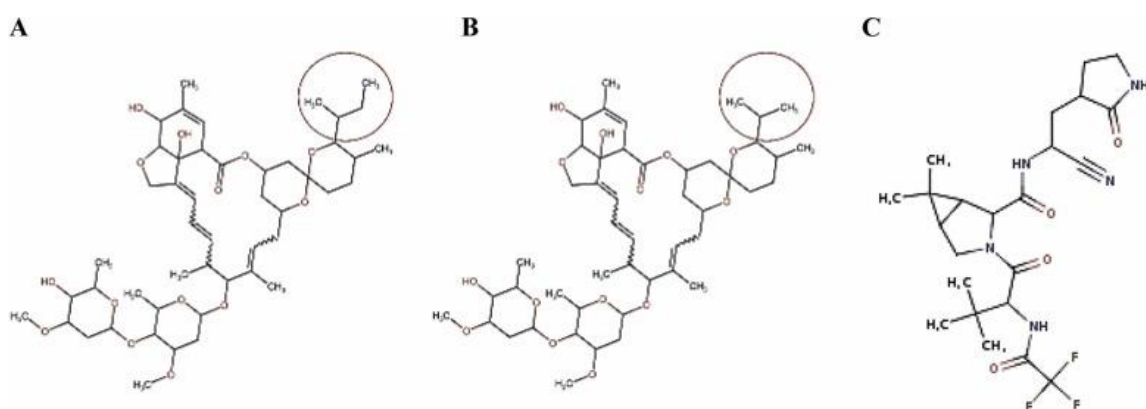


Fig. 1

Estructura molecular de las dos homologas consideradas en este estudio obtenidas de DrugBank. A) Avermectin B1a (PubChem CID: 6321424), B) Avermectina B1b (PubChem CID: 6321425), C) PF-07321332 (PubChem CID: 155903259). El grupo químico diferencial de cada homologue está indicado (para B1a es de senosbutilo y B1b es un isopropilo, respectivamente).

En este estudio nos centramos en analizar los cambios volumétricos de las estructuras utilizando la energía mínima de unión resultante de los ataques a ciegas. El acoplamiento ciego representa uno de los mayores desafíos en el campo del ataque molecular ([Agrawal et al., 2019](#)). El acoplamiento ciego ha sido descrito como un enfoque de ataque molecular imparcial mientras escanea la estructura de la proteína para localizar el sitio de unión de ligando ideal, que representa un enfoque probabilístico. Sin embargo, el acoplamiento a ciegas representa uno de los mayores desafíos en el campo del ataque molecular ([Agrawal et al., 2019](#)). Además, se ha sugerido para el estudio de posibles agentes terapéuticos contra los coronavirus ([Durojaye et al., 2020](#)).

A pesar de las limitaciones del acoplamiento ciego se han producido varias herramientas, como DockThor que ha sido optimizada para el acoplamiento de ligando a objetivos SARS-CoV-2 ([Guedes et al., 2021](#)) y se ha demostrado que tiene un éxito relativamente exitoso en situaciones en las que la caja de acoplamiento abarca toda la superficie del receptor ([Jofily et al., 2021](#)). Sobre todo porque, en una circunstancia virtual de cribado, este método tiene una gran ventaja: puede determinar el mejor bolsillo de unión para cada ligando candidato en una sola carrera de ataque ([Jofily et al., 2021](#)).

Se ha sugerido que, aunque algunos antivirales potentes pueden unirse fuertemente al sitio activo, no se debe descartar explorar otras regiones de la proteína con el enfoque de acoplamiento a ciegas porque se ha demostrado una preferencia por la unión a sitios objetivo ([Liang et al., 2020](#)). Especialmente desde que se han notificado inhibidores prometedores no covalentes mediante la aplicación de las estrategias de ataque molecular presentadas aquí ([Ferraz et al., 2020](#)), y que tanto las contribuciones de energía libre de unión covalentes como no co-covalente son importantes en la afinidad de un inhibidor hacia su objetivo ([Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#)).

Además, se ha sugerido que en $M^{\text{podría}}$ tener lugar la inhibición $^{\text{pro}}$ alostérica debido a la presencia de un sitio alostérico en la estructura proteica que no se encuentra en el sitio activo. De hecho, cabe destacar que residuos como el P122 se han visto implicados como claves de las interacciones en la interfaz dimer $^{\text{pro}}$ y contribuyen a la dimerización M ([Al Khoury et al., 2022](#)). Curiosamente, estos residuos son parte de aquellos involucrados en las interacciones con la homologue B1b y PF-07321332 (unicidad no covalente) descritas en nuestro estudio (ver material suplementario - Tabla S1). A la luz de estas observaciones, decidimos aplicar el enfoque de ataque ciego, para no excluir las posibles estrategias de inhibición sugeridas contra M^{pro} , tales como: (1) interacción con regiones de sitio activo/catalítico, (2) interacción con regiones de sitios alostéricos, y (3) interacción con regiones interfaseas asociadas con la formación de dimería enzimáticos ([Al Khoury et al., 2022](#)), esta última estrategia fue la más relevante para nuestra investigación, especialmente, ya que M^{pro} es conocido por depender de la homomerización por su actividad biológica ([Choudhury et al., 2021](#), [Cooper, 1984](#)).

Los resultados volumétricos obtenidos proporcionan más información sobre el posible mecanismo por el cual estos fármacos inhiban la reacción de la formación de la proteasa homodimerica M^{pro} . Para ello construimos complejos de proteína-liga (M^{pro} avermectina) y (M^{pro} PF-07321332) en los que hemos utilizado el modelo Voronoi implementado en el programa *3Vee* ([Emekli et al., 2008](#), [Ferraz et al., 2020](#)), el programa *HullRad* ([Fleming and Fleming, 2018](#)), los modelos volumétricos propuestos por Chalikian et al. al ([Azam et al., 2020](#), [Ball, 2017](#), [Fleming y Fleming, 2018](#)) y los modelos Graziano-Leeafincado en la teoría de partículas a escalada (SPT) ([Fornés, 2008](#), [Gautam et al., 2019](#), [Gekko y Hasegawa, 1986](#), [González-Paz et al., 2022](#)). Este enfoque puede traducirse a otros complejos de proteína-liga para determinar con mayor precisión las interacciones importantes para la catálisis y la actividad biológica de estas proteínas.

En este manuscrito hemos informado, por primera vez, el estudio de biofísica computacional de los cambios inducidos en las propiedades volumétricas y la hidratación del monómero de la M^{pro} proteasa (mM^{pro}) y los respectivos complejos no covalentes formados por homologaciones de ivermectina de unión y PF-07321332. En la última sección de este trabajo, también se realiza un estudio comparativo entre los complejos no covalentes y covalentes de forma termodinámica más factible entre PF y mM^{pro} detectado mediante ataque ciego y dinámica molecular.

[Ir a:](#)

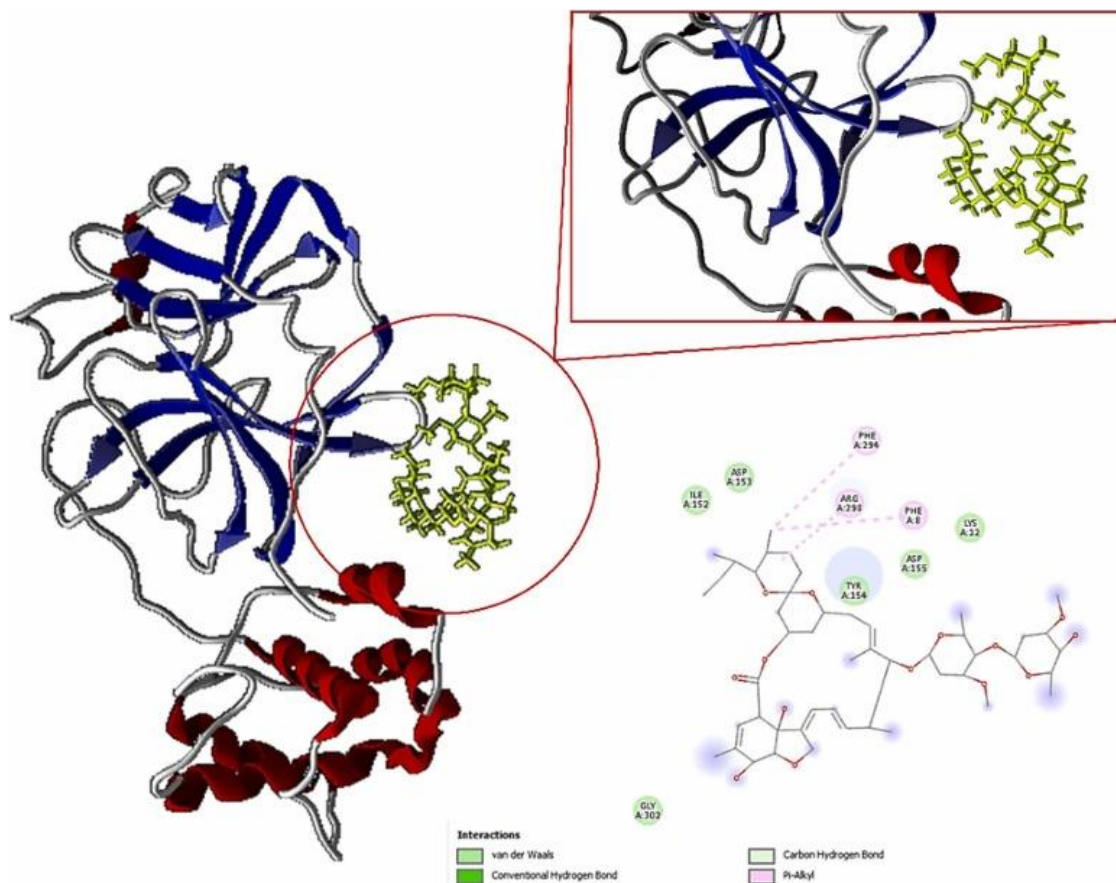
2. Detalles metodológicos

2.1. 2.1. Construcción de complejos con simulaciones de acoplamiento y dinámicas moleculares (MD)

La estructura cristalina de la proteasa principal de SARS-CoV-2 (PDB: 6LU7) se utilizó ya que es una enzima clave de los coronavirus y tiene un papel fundamental en la replicación viral y la traducción, convirtiéndola en un blanco atractivo para los fármacos ([González-Paz et al., 2021](#), [González-Paz et al., 2021](#)). Todas las estructuras se obtuvieron en formato PDB del RCSB Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Dado que la estructura de rayos X del complejo $^{\text{profesional}}$ PF-07321332-M está disponible actualmente en el Banco de Datos de Proteína, y dado que ya se ha descrito un enlace covalente, se consideró que estudiaba el enlace no covalente ya que es un enlace termodinámico muy probable. Se realizó un análisis comparativo aplicando dos algoritmos de muestreo (DockThor y AutoDock) para la predicción de la afinidad compuesta mediante la detección de la unión covalente y no co-cobella como se sugiere para múltiples objetivos, incluyendo aquellos asociados con SARS-CoV-2 ([Dinesh Kumar et al., 2021](#), [González-Paz et al., 2020](#)). El acoplamiento covalente reportado fue predicho a partir del enfoque de acoplamiento covalente del algoritmo AutoDock, que ha sido validado con varios sistemas biológicos ([González-Paz et al., 2021](#), [Goyal y Goyal, 2020](#)). Para ello, la enzima se cargó en el formato PDB y el compuesto de interés se cargó por separado como un archivo mol2. Posteriormente, el centro de unión fue asignado al marco correspondiente al residuo Cys145. Además, los cálculos del acoplamiento se realizaron siguiendo las recomendaciones de la región de muestreo de las pruebas de forma experimental ([Zhao et al., 2021](#)). Predicciones de las energías de unión covalentes y no covalentes se hicieron del algoritmo de muestreo y función de puntuación ofrecida por AutoDock, y utilizando predicciones Molegro Molecular, con el fin de calcular las contribuciones de las interacciones moleculares ofrecidas por la herramienta, tales como enlaces de hidrógeno, enlaces hidrofóbicos, enlaces electrostáticos, y también enlaces covalentes en el sitio de unión como se sugiere ([Grahl et al., 2021](#),

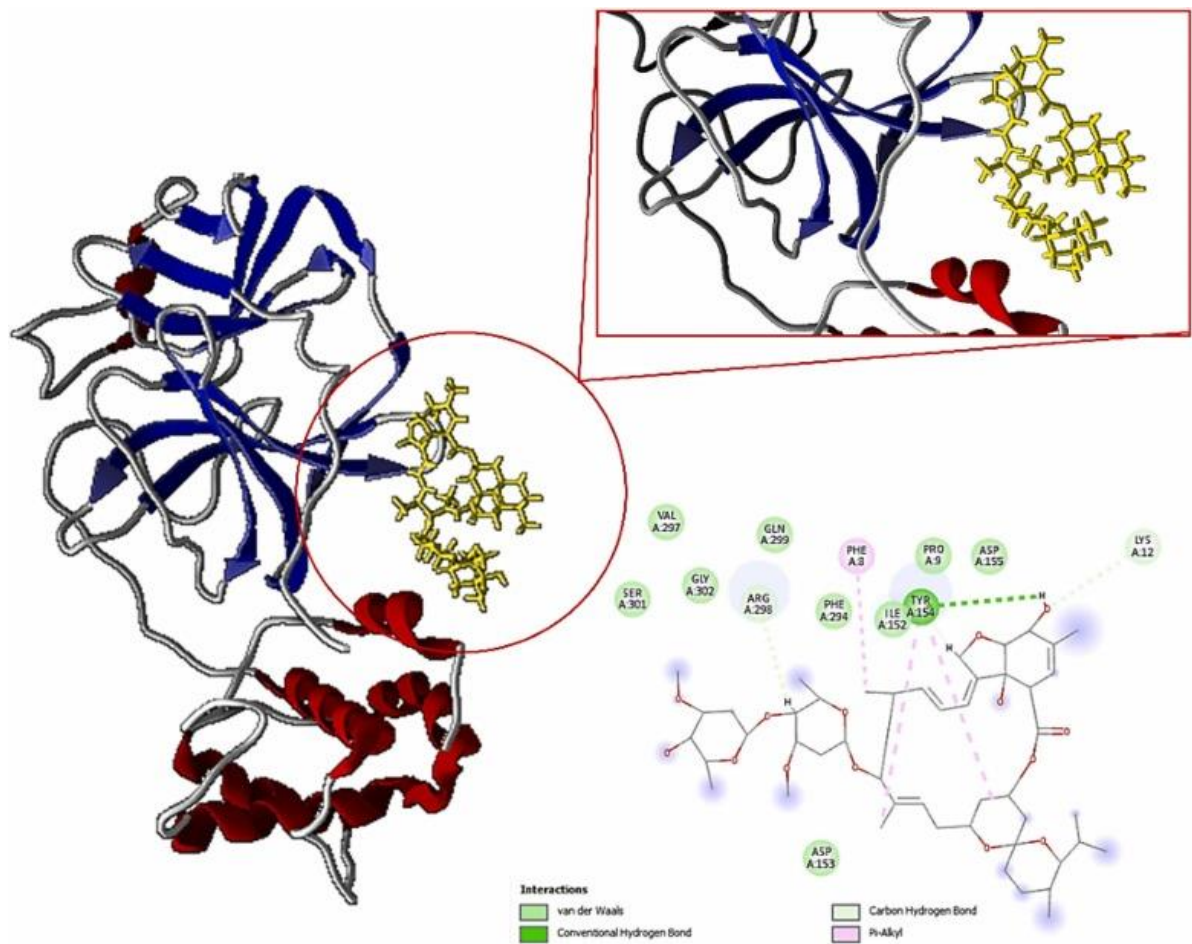
[Grau-Ex y otros, 2022](#)) (ver material suplementario - Tabla S1). Además, la unión no covalente se comparó con la covalente después de la construcción del modelo covalente como se había sugerido ([Macchiagodena et al., 2022](#)). El marco de rayos X de un inhibidor de alfa-quetoamida vinculado covalentemente a M^{pro} y estrictamente relacionado con M y estrictamente relacionado (PDB: 7BPR) se utilizó como se sugiere para la construcción del complejo y la comparación entre la unión covalente y no covalente de PF-07321332 ([Macchiagodena et al., 2022](#)). Las estructuras homologue de avermectina B1a (B1a, CID-6321424) y avermectina B1b (B1b, CID-6321425) que conforman ivermectin, así como el fármaco PF-07321332 (CID: 155903259) utilizado como control porque se trata de un compuesto notificado con afinidad e actividad inhibitoria para mM^{pro}, se obtuvieron de PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) en formato SDF y convertido a un formato PDB usando el convertidor OpenBabel-3.0 ([O-Boyle et al., 2011](#)).

Los complejos fueron construidos en el servidor web DockThor-VS (<https://dockthor.lncc.v2/>) optimizado para el diseño y reutilización de fármacos enfocados en SARS-CoV-2 (ver [Fig. 2](#), [Fig. 3](#), [Fig. 4](#), [Fig. 5](#)). La plataforma DockThor-VS utiliza un archivo topológico para el ligando y un archivo de entrada específico para la proteína que contiene los tipos de átomos y cargas parciales del campo de fuerza MMFF94S, y ambos se generan utilizando las herramientas internas MMFF Ligand y PdbThorBox. El archivo del ligando es generado por el programa MMFF Ligand, que utiliza las instalaciones de la caja de herramientas químicas Open Babel para derivar cargas parciales y tipos de átomos con el campo de fuerza MMFF94S, definiendo los enlaces rotatables y los grupos terminales hidroxilo, y calculando las propiedades necesarias para la computación de las interacciones intramoleculares. En el programa DockThor, tanto la proteína como el ligando se tratan con el mismo campo de fuerza en el experimento de ataque. Los complejos se construyeron usando el algoritmo de flexibilidad y el acoplamiento a ciegas. La predicción de la afinidad y la clasificación de ligandos distintas se realizan con el modelo lineal y la función de puntuación de DockTScore GenLin. Para aumentar la precisión se hicieron 30 carreras con 10⁶ evaluaciones por carrera. Como se suele hacer, se eliminaron todas las moléculas de agua y los archivos PDB se separaron en dos archivos diferentes, uno que contenía la proteína y otro que contenía la estructura del ligando. Todas las parametrizaciones de campo de la fuerza molecular fueron realizadas automáticamente por los programas citados. La configuración, las condiciones y los parámetros restantes ofrecidos por el programa se utilizaron en el modo predeterminado ([Guedes et al., 2021](#)).



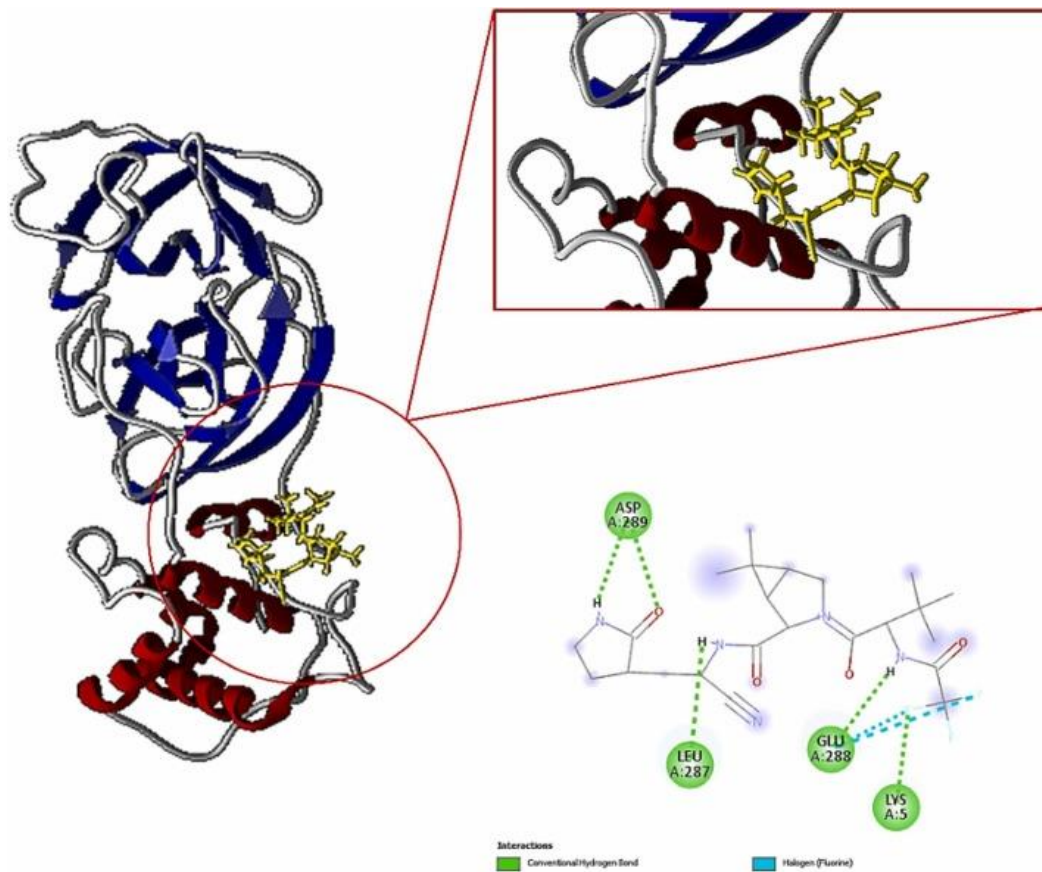
[Fig. 2](#)

La conformación más estable de avermectina B1a (PubChem CID: 6321424) se muestra en los bolsillos de unión de mM^{Pro}. La ubicación y orientación de la estructura B1a se indica en un círculo, los residuos más cercanos también se muestran en la esquina inferior derecha. Se pronosticaron interacciones de la herramienta BIOVIA Discovery Studio Visualizer.



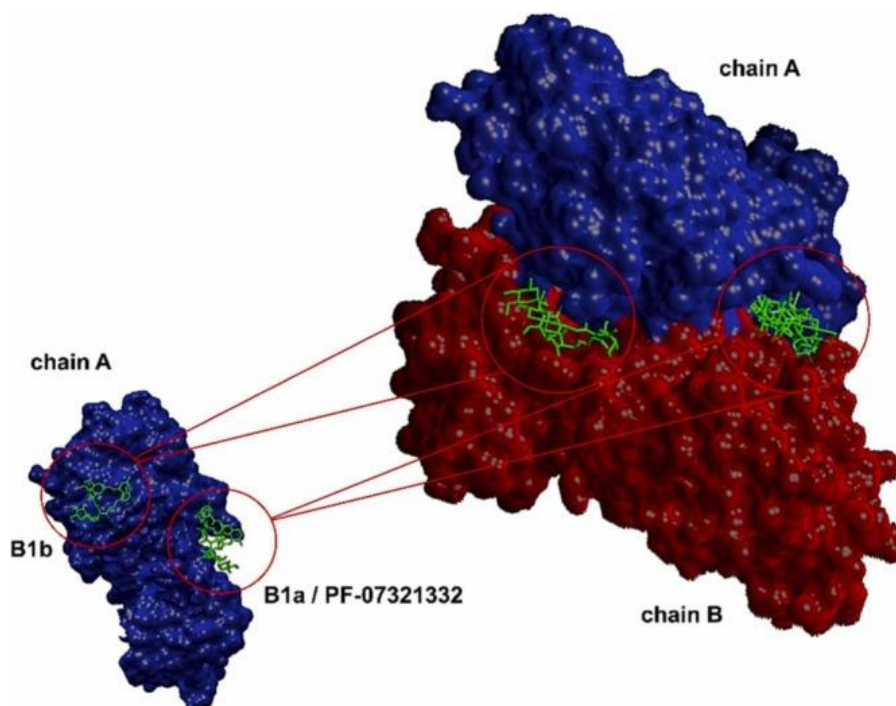
[Fig. 3](#)

La conformación más estable de avermectina B1b (PubChem CID: 6321425) se muestra en los bolsillos de unión de mM^{pro}. La ubicación y orientación de la estructura B1b se indica en un círculo, los residuos más cercanos también se muestran en la esquina inferior derecha. Se pronosticaron interacciones de la herramienta BIOVIA Discovery Studio Visualizer.



[Fig. 4](#)

La conformación más estable de PF-07321332 (PubChem CID: 155903259) se muestra en los bolsillos de unión de mM^{pro}. La ubicación y orientación de la estructura PF-073232 se indica en un círculo; los residuos más cercanos también se muestran en la esquina inferior derecha. Se pronosticaron interacciones de la herramienta BIOVIA Discovery Studio Visualizer.



[Fig. 5](#)

La conformación más estable de las avermectinas y PF-07321332 se muestra en los bolsillos de unión de la proteína dimérico M^{pro} (dM^{pro}). La ubicación y orientación de cada estructura se indica en un círculo.

Para la predicción del complejo de unión covalente, la enzima predeterminada por DockThor se utilizó para el estudio de M^{pro} y el compuesto de interés se cargó por separado como un archivo PDB. Posteriormente, el centro de encuadración fue asignado al marco correspondiente a residuos Cys145, como se ha sugerido anteriormente ([Xavier Senra y Fonseca, 2021](#)). Del mismo modo, se realizó un análisis comparativo entre el acoplamiento utilizando las funciones de puntuación incluidas en el paquete Molegro Molecular (MolDock Score, Rank Score y Plants Score). Buscamos aumentar la estremecimiento de las predicciones hechas en este estudio mediante el uso de más de una función de puntuación para determinar la mejor confirmación acoplada. En este sentido, si la mayoría de las funciones de puntuación predicen tendencias similares para la misma pose y/o ligando, la media energética de varias funciones de puntuación podría ayudar a optimizar la predicción a nivel probabilístico y clasificar correctamente los complejos acoplados de un conjunto de posibles configuraciones de unión de ligando y clasificar los diferentes conformeros basados en el modo de unión (dependiendo de los valores de puntuación de energía). De hecho, se ha sugerido realizar acoplamientos moleculares y aplicar más de una función de puntuación como las propuestas en este estudio en esfuerzos que consideran sistemas covalentes y no covalentes con el fin de mejorar aún más la precisión del atraque ([González-Paz et al., 2021](#), [Graziano, 2006](#)). En general, predecir las diferencias en las contribuciones energéticas libres de unión covalentes y no covalentes para los inhibidores podría ser una explicación plausible de sus diferencias *in vitro* en la actividad antiviral, como se observa en ensayos *in vitro*. Esto indica que las contribuciones de energía libre de unión covalentes y no covalentes son importantes en la afinidad de unión de un inhibidor hacia su objetivo ([Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#)). Por lo tanto, otros autores han aplicado más de un método de puntuación para la selección de los candidatos más prometedores durante los atraques moleculares de unión covalentes y no covalentes ([Delre et al., 2020](#)) (ver **Material suplementario** - Tabla S1).

Es importante tener en cuenta que a pesar de que las interacciones presentadas en el diagrama 2D parecen más débiles que las energías de acoplamiento relativas notificadas, las contribuciones de energía libre no covalente son importantes en la afinidad de unión de un inhibidor hacia su objetivo como se ha informado ([Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#)). Además, los diagramas 2D se hicieron de BIOVIA Discovery Studio Visualizer y a través de ilustración muestran un número limitado de interacciones. En este sentido, para compensar las limitaciones de los visualizadores en la predicción de la naturaleza de las interacciones involucradas, se hizo una búsqueda de los residuos y las interacciones involucradas utilizando las herramientas BIOVIA Discovery Studio Visualizer y Molecular Molecular Visualizer (ver **Material suplementario** - Tabla S1).

Se realizaron simulaciones para atracar para muestrear las configuraciones mínimas de energía y validar si había una alteración estructural y conformacional de los ^{pro}complejos de mM, así como la estabilidad de la unión del ligand (ver [Fig. 6](#)). Para un complejo de proteínas-liga, el sistema MD pasó por tres fases: la fase de relajación, la fase de equilibrio (compuesta de dos carreras de equilibrio), y la fase de producción para la toma de muestras de las trayectorias de interés como se había sugerido anteriormente ([González-Paz et al., 2020](#), [Grau-Expósito et al., 2022](#), [Graziano, 2017](#), [Graziano, 2013](#), [Guedes et al., 2021](#), [Gupta et al., 2015](#), [Hariyanto et al., 2022](#)). La simulación de MD de las estructuras cristalinas se llevó a cabo en un sistema de agua explícito. Específicamente, la resolución del sistema se realizó en una caja de resolución de 8.0o. Nuestro sistema MD también consistía en una copia de cada sistema de proteínas y una copia del ligando de atraque. Se aplicó un campo de fuerza Amber99SB-ILDN al complejo con el modelo de agua TIP3P. Se añadieron iones al sistema proporcionalmente tanto para neutralizar la carga neta global como para simular la condición fisiológica de 0,15 millones. Se seleccionaron iones de Na⁺ para la contribución cationica, mientras que se seleccionaron iones de Cl⁻ para el efecto aniónic. Se aplicaron condiciones límite periódicas y se adoptó el algoritmo de Berendsen para realizar el atraque molecular a temperatura y presión constantes (300 K y 1 atm).

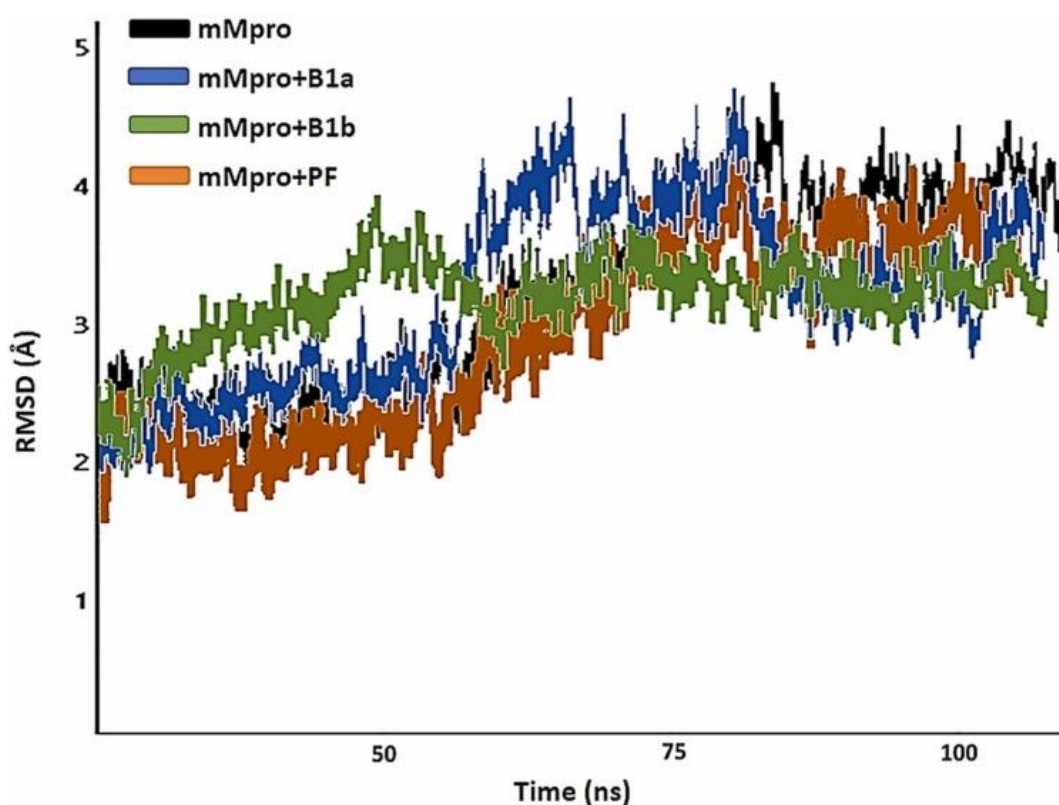


Fig. 6

Las desviaciones de raíz de la Plaza Media (RMSD) de C en relación con el marco de partida durante la simulación de 100 ns MD. mM^{pro} se muestra en presencia y ausencia de cada homologue (B1a y B1b), y PF-07321332. Las trayectorias representan la media de dos ciclos de simulación a 100 ns para cada caso.

Para ello, después de aplicar inicialmente el método de simulación basado en el descenso más empinado (5000 pasos) y luego el método de minimización de la energía de gradiente conjugado (5000 pasos) con restricciones de posición en los átomos del complejo de la proteína-liga, se llevó a cabo modelado en una simulación inicial de 100 ps con las posiciones de los átomos en el complejo de proteínas y restringidos por una fuerza constante de 10 kcal/(((((*-2) para permitir que las moléculas de agua se difundan alrededor de la proteína y alcanzaran el equilibrio con el sistema de proteína-liga. Todas las moléculas de agua del modelo fueron tratadas como cuerpos rígidos, permitiendo un paso de tiempo de simulación de 2 fs. El método Particle Mesh Ewald (PME) se utilizó para calcular la contribución electrostática a las interacciones no enclavadas con un corte de 14,00 y un paso de tiempo de 1 fs. En los sistemas proteicos, el agua TIP3P es adecuada para la PME. La distancia límite de la interacción Van der Waals fue de 14.0 . Después de aplicar el algoritmo de descenso más empinado para satisfacer la minimización de energía de todos los sistemas, el conjunto canónico NVT se aplicó para 100 ps equilibrado de todos los sistemas y térmicaizado a 300 K. A esto le siguió una segunda carrera de 100 ps en el TNP isobárico que se estableció para equilibrar el sistema a 1 atno y 300 K e impulsar progresivamente el equilibrio de cada sistema. El algoritmo SHAKE (utilizado para satisfacer las restricciones de geometría del enlace) se aplicó al sistema y el paso de tiempo se fijó en 2 fs. Finalmente, el paso de producción se llevó a cabo con la salida del conjunto del TNP, que se utilizó como la configuración inicial de una serie de producción de MD a una temperatura constante de 300 K para un tiempo de simulación total de 100 ns. Se obtuvieron estructuras mínimas de energía en formato PDB cada 10 ns como estructuras diálidas extraídas de una trayectoria de 100 ns para ser utilizada en los siguientes análisis. Todas las simulaciones de MD y ajustes adicionales se realizaron mediante cosgene/myPresto. Cosgene/myPresto, que está disponible en <https://www.mypresto5.jp/en/> (Aggarwal y Biswas, 2020, Jiang et al., 2014, Alvarado et al., 2015, Jeffreys et al., 2022).

En este sentido, trabajamos con cada una de las homologaciones de avermectina (B1a y B1b) y mostramos que estas moléculas establecen un enfoque termodinámico favorable (G , 10 kcal/mol) y acoplamiento estable con mM^{pro} con una RMSD de 4o, observando que se predijo una fluctuación menor

del complejo mM^{pro} B1b. La energía de unión relativa del control PF-07321332 fue G de 8 kcal/mol que mostró una unión estable con mM^{pro} según lo esperado (RMSD, no 4) (véase [Fig. 6](#)).

[Ir a:](#)

3. Teoría

El volumen molar parcial de proteína V_p por definición ([Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#), [González-Paz et al., 2022](#), [Azam et al., 2021](#), [Fornés, 2008](#), [Jofily et al., 2021](#)) se considera constituido por dos contribuciones volumétricas, una contribución molecular o geométrica V_m (volumen de van der Waals V_w y volumen de vacíos internos V_v) y una contribución no intrínseca -)M_{ni} (contribución volumétrica de repulsivo v_T y interacciones atractivas V_{int}):

$$V_p = +(\Theta) m n_i + \beta_0 T R T \quad (1)$$

$$V_m = V_w + V_v \dots n_i = V_T + V_{int} \quad (2)$$

$$V_p = +V_v + V_T + V_{int} \quad (3)$$

V_w es los volúmenes van der Waals de todos los átomos constitutivos de proteínas y V_v es el volumen de cavidades dentro de la proteína del envasado atómico imperfecto, dependiente de la temperatura, proporcional a la masa molar M₀, e igual al volumen geométrico de la proteína impenetrable a las moléculas solventes circundantes ([Azam et al., 2021](#), [Azam et al., 2020](#), [Ball, 2017](#), [Barletta y Fernández-Alberti, 2018](#), [Barletta et al., 2019](#), [Brovchenko et al., 2010](#), [Fleming y Fleming, 2018](#), [González-Paz et al., 2021](#)). Mientras que el volumen térmico V_T (por definición es una cantidad positiva, es decir, -) es el volumen vacío alrededor de la proteína que se debe a las vibraciones mutuas-disolventes, embalaje intermolecular o efecto estérico, y el volumen de interacción V_{int} (por definición es una cantidad negativa, e, <0) representa la reducción del volumen de disolvente bajo la influencia de interacciones directas específicas y no específicas de agua sorbentes (interacciones atractivas) ([Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#), [González-Paz et al., 2022](#), [Azam et al., 2021](#), [Azam et al., 2020](#), [Ball, 2017](#), [Fleming y Fleming, 2018](#), [Jofily et al., 2021](#), [Kamerzell y Middaugh, 2008](#)). El último mandato en la [Ec. 1](#) es la contribución volumétrica ideal y generalmente se descuida debido a su baja magnitud (- o T R T 1 1 cm³ /) en comparación con la magnitud de V_p de proteínas.

Alternativamente, la teoría de partículas escalada (SPT) define el volumen molar parcial de un soluto como:

$$V_p = \dots \quad (4)$$

Dónde V_C es el volumen de cavidad que alberga el soluto y por definición es V_C = V_T [Chalikian y Macgregor \(2019\)](#); [Patel et al. \(2012\)](#); [Mejía-Tamayo et al. \(2018\)](#), [Kharakoz \(1992\)](#). En el modelo SPT propuesto por Lee-Graziano ([Fornés, 2008](#), [Gautam et al., 2019](#), [Gekko y Hasegawa, 1986](#), [González-Paz et al., 2022](#)), el volumen de la cavidad V_C de soluto en una mezcla binaria de esferas duras puede estimarse como

$$V_C = (y^3 + 3A + 3A^2 + A^3) / (V_0 + w C) \quad (5)$$

Dónde y, r_m es el radios de esfera dura de la proteína molécula ([Patel et al., 2012](#)) y r_w = Å es la esfera dura radius de la molécula de agua solvente, A, B, C, = =0,380 es la densidad de embalaje de disolvente (agua) a 298 K, y v_{0w} es el volumen molar de agua como disolvente. Esta ecuación se puede traducir en una expresión más simple

$$V_C = V_m + V_T \quad (6a)$$

$$V_m = k m N$$

(6 ter)

Aquí N es número de avogadro. De acuerdo a esta teoría el componente repulsivo $V T$ Depende del tamaño molecular del solúto y el disolvente, y la densidad de embalaje del agua propuesta por Lee ([Lee, 1983](#)), Graziano ([Fornés, 2008](#), [Gekko y Hasegawa, 1986](#)) y por nosotros ([Alvarado et al., 2015](#)) a través de cálculos en medio acuoso. Es importante mencionar que este modelo geométrico para sistemas moleculares no polares pequeños da valores muy cercanos al modelo termodinámico Pierotti-Kharakoz para $V T$ ([González-Paz et al., 2022](#), [Kasahara et al., 2020](#)).

$$V T = k v N r^2 m \cdot p + \dots p^2 \cdot k v N \cdot 3 p$$

7)

Aquí, Δp = es el grosor de una capa de volumen vacío que rodea la molécula de soluto (proteína). En este modelo ([Ecs. 6 y 7](#)) la constante $k m =$ para los sistemas no polares pequeños ([Ferraz et al., 2020](#), [Graziano, 2006](#)) como fue propuesto originalmente por Lee y Graziano. Para las proteínas hemos encontrado que $k m = 1.7$ y $k v = 2.4$ para las proteínas (ver material suplementario Tabla S2 y S3). Hay otra expresión aproximada para $V T$ propuesto por Chalikian y Mcgregor ([Chalikian y Macgregor, 2019](#)).

$$V T = p p$$

8)

Dónde $S A$ es superficie solvente accesible de la proteína y $- P$ definido en la [Ec. 7](#).

Es importante mencionar que este modelo, aunque descriptivo, tiene limitaciones debido a la dificultad de separar exactamente el borde entre la superficie de la proteína y el disolvente (región interfacial). Este modelo ha sido muy útil para entender procesos importantes como la hidratación/deshidratación de proteínas implicadas en la unión de proteínas y la unión, la unión a proteínas-proteína y el despliegue inducido por químicos ([Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021](#), [Azam et al., 2020](#), [Ball, 2017](#), [Fleming and Fleming, 2018](#), [Kamerzell y Middaugh, 2008](#), [Kapoor y Winter, 2016](#), [Kaur et al., 2021](#)).

En estudios de biofísica computacional, el volumen molecular en un fluido se determina utilizando el modelo Voronoi-Delaunay y esta cantidad es un 15% mayor que el volumen molecular $V m$ previamente definida en [Ec. 1](#) y [2](#) ([Filfil et al., 2004](#)). Esta cantidad termodinámica es equivalente al volumen de una cavidad seca o anhidro (sabe como volumen de Voronoi) ([Voloshin et al., 2015](#)) en solución donde se ha colocado la molécula proteica ([Fleming y Fleming, 2018](#), [Kamerzell y Middaugh, 2008](#), [Kaur et al., 2018](#)). Este volumen anhidro se definirá aquí después de $V n h p$ de proteínas, que se ajusta y por definición, es igual a

$$V n h p = w V V$$

9)

dónde $V M$ vacía es el volumen vacío interno de la proteína y $V M B$ es la parte del espacio vacío de límites asignado al soluto ([Voloshin et al., 2015](#)). Si asumimos que la división de interfaz proteico-agua es la misma en ambos modelos, entonces los tres primeros componentes de la [Eq](#) volumétrica_3, y la ecuación geométrica 6 basada en la dinámica molecular se puede aproximar empíricamente como

$$V n h p = V + V V B \cong V w V V V V v V T = V T =$$

10)

Y el volumen molar parcial de una proteína se puede escribir como [ver [\(3\)](#)(3), [\(9\)](#)]

$$V p = V i n t$$

11)

El volumen de interacción $V i n t$ es el único término de $-)M n i$ que contiene información sobre la redistribución de moléculas de agua entre la capa de hidratación y la fase a granel ([Ball, 2017](#), [Kharakoz, 1992](#)). Por otro lado, en la dinámica molecular ([Kamerzell y Middaugh, 2008](#), [Kharakoz y Sarvazyan, 1993](#)) la contribución $V i n t$ se define como la diferencia entre el volumen de la cáscara de hidratación

alrededor de soluto V_{hyd} y el volumen ocupado $n_{hyd} \rho_{0en}$ el grueso por el mismo número de moléculas de agua ([Kamerzell y Middaugh, 2008](#), [Kharakoz y Sarvazyan, 1993](#), [Khoury et al., 2022](#)).

$$V_{int} = \dots \quad (12)$$

O alternativamente

$$V_{int} = p \dots \quad (13)$$

Si en el enfoque de Voronoi-Delaunay, la frontera se define como la superficie de Voronoi de la molécula de soluto, el [\(12\)](#), [\(13\)](#) son equivalentes. También, el hecho de que en los estudios volumétricos el término V_{int} tiene una definición analógica de [Eq. 12](#) es muy interesante.

$$V_{int} = (V_{sw} \dots) \quad (14)$$

Donde el número de moléculas de agua alrededor de la proteína es n_w , V_{sw} son los volúmenes molares parciales de hidratación y agua a granel, respectivamente ([Ball, 2017](#), [Fleming y Fleming, 2018](#)). Por lo tanto, la [Ecádita empírica, 11](#) es una buena aproximación. De hecho, estudios recientes han demostrado que $- \Delta M_{ni}$ y $V_{MB} + \Delta V$ son iguales ([Voloshin et al., 2015](#)).

En el régimen de alta dilución, la teoría termodinámica conduce a la siguiente expresión para el volumen molecular parcial de proteínas ([Richards, 1993](#))

$$V_p = \dots h(v_{hw} \dots) \quad (15)$$

Dónde V_{nh} es el volumen seco de proteína (aquí se aproxima al volumen de Voronoi (V_{nhp})), M_p es la masa molar seca de proteína, v_{hw} es el volumen específico de agua unida a la molécula de la proteína y v_0 es el volumen específico de agua cercana. Chalikian y sus compañeros de trabajo ([Kaur et al., 2018](#)) han propuesto que $v_{hw} v_0 = 0,09$, mientras que H es la cantidad de gramos de agua asociada con la proteína por gramo de proteína, es una medida del grado de hidratación de proteínas y no depende de la temperatura y concentración de soluto ([Kneller et al., 2022](#), [Knight y Hub, 2015](#), [Koulgi et al., 2021](#)).

Una comparación de [\(11\)](#), [\(15\)](#) muestra que el segundo término en ambas ecuaciones es:

$$V_{int} = p \dots h(v_{hw} \dots) \quad (16)$$

En los estudios hidrodinámicos ([Kneller et al., 2022](#), [Knight and Hub, 2015](#), [Koulgi et al., 2021](#)) el volumen de una partícula en solución se llama volumen hidrodinámico V_h y contiene dos componentes, uno correspondiente al volumen molar parcial de la proteína seca (también definido aquí como V_{np} para mantener la misma nomenclatura) y el otro debido al volumen de la capa de hidratación V_{sh} ([Kneller et al., 2022](#), [Knight y Hub, 2015](#)).

$$V_h = V_{nhp} + V_{sh} \quad (17)$$

$$V_{sh} = p \dots h v_{hw} \quad (18)$$

[Eq. 15](#) es muy útil para estimar teóricamente H si V_h y V_{np} son conocidos.

$$h = (V_h - V_{np}) / M_p v_{hw} \quad (19)$$

A continuación, evaluando el cambio inducido en cada una de las contribuciones a los componentes V_m y $- \chi M$ del volumen molar aparente en las reacciones de unión proteico-liga y proporciona información importante sobre los cambios estructurales e hidratación que la proteína sufre en los procesos biológicos.

Las proteínas son moléculas dinámicas (Laage et al., 2017, Lee, 1983), y en equilibrio térmico, el volumen intrínseco V_{inh} (componente geométrico) y el volumen de hidratación o interacción V_{int} están fluctuando constantemente en torno a sus valores medios $\langle V \rangle$ y $\langle V_{int} \rangle$ (Laage et al., 2017, Lee, 1983, Lee, 1983, Liang et al., 2020, Lim et al., 2022, Lindow et al., 2013, Lockbaum et al., 2021). La dinámica estructural es muy importante para la función biológica de la proteína y la estabilidad (Lee, 1983, Lockbaum et al., 2021, Low et al., 2022, Luong et al., 2015, Macchiagodena et al., 2022, Madhavi et al., 2021, Mahdian et al., 2021, Marchi, 2003, Mejía-Tamayo et al., 2018, Monkos, 2013). La flexibilidad intrínseca de la proteína es relevante para la interacción con el ligando y puede contribuir al proceso de unión (Lindow et al., 2013, Lockbaum et al., 2021, Monkos, 2004, Mori et al., 2006, Morris et al., 2009, Osipiuk et al., 2021, O-Boyle et al., 2011). Las cavidades internas juegan un papel importante en la flexibilidad estructural de la proteína (Lindow et al., 2013, Marchi, 2003, Mejía-Tamayo et al., 2018, Osipiuk et al., 2021, O-Boyle et al., 2011, Panikar et al., 2021, Patel et al., 2012). Los estudios apoyan que los procesos de unión a proteínas ocurren con cambios importantes en la fluctuación del volumen de las cavidades internas e hidratación superficial de la proteína (Laage et al., 2017, Lee, 1983, Liang et al., 2020, Lim et al., 2022, Lindow et al., 2013, Lockbaum et al., 2021, Luong et al., 2015, Mahdian et al., de 2021, Mori et al., 2006). La teoría termodinámica estadística establece que si V_{inh} y V_{int} fluctuar independientemente entre sí, entonces la fluctuación intrínseca del volumen se relaciona posiblemente termodinámicamente con la compresibilidad intrínseca (Lindow et al., 2013, Monkos, 2013) como:

$$- \chi T = \frac{1}{2} \frac{\langle V^2 \rangle - \langle V \rangle^2}{\langle V \rangle} \quad (20)$$

Dónde $\langle V^2 \rangle$ es la fluctuación media del volumen intrínseco cuadrado, V_{inh} es el volumen intrínseco de la proteína, K es la constant Boltzmann, T la temperatura absoluta, y $- \chi T$ el coeficiente de compresibilidad intrínseca isotérmica. La fluctuación media del volumen intrínseco cuadrado se puede estimar estadísticamente a partir de V_i valores y valor medio de V_i obtenido de simulación molecular dinámica como:

$$\langle V^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (V_i)^2 \quad (21)$$

Entonces $\langle V^2 \rangle$ es una medida cuantitativa de la dinámica de las proteínas. Sin embargo, en muchos estudios la cantidad utilizada para estudios comparativos es:

$$\frac{1}{\langle V \rangle} \frac{\langle V^2 \rangle - \langle V \rangle^2}{\langle V \rangle} = \dots \quad (22)$$

Por otro lado, Fornés propuso un atractivo modelo fenomenológico basado en el Teorema de Fluctuación-Disipación (FDT) que permite estimar las fluctuaciones térmicas del momento dipolo eléctrico en unidades del momento dipole de la molécula de agua dipole $-\mu_R$ en la superficie de la proteína del volumen molecular hidrodinámico V_{mh} (Fornés (2008)).

$$\frac{1}{\langle V_{mh} \rangle} \frac{\langle V_{mh}^2 \rangle - \langle V_{mh} \rangle^2}{\langle V_{mh} \rangle} = \dots \quad (23)$$

Dónde $V_{mh} = \frac{V_{inh}}{w}$, $w \geq 2.5$ es el factor Simha y $w = 1.84 D$ es la molécula de agua permanente momento dipolo eléctrico. Fornés observó que el momento eléctrico fluctuaciones del momento dipolo $-\mu_R$ en función del peso molecular osciló entre 15 y 115, aumentando con el tamaño de la molécula proteica.

Como volumen hidrodinámico V_h , Factor Simha w y volumen de hidromasaje V_{np} (Volumero de Voronoi) se puede estimar utilizando diferentes metodologías como los programas *HullRad* (Fleming y Fleming, 2018) y *3Vee* (Emekli et al., 2008, Ferraz et al., 2020), todos los parámetros descritos aquí en esta sección se pueden calcular para el monómero de la proteasa M (m^{pro}) y sus respectivos complejos

no-covalentes formados por homologabsos de unión ivermec y PF-07321332 en medio fisiológico. *HullRad* (<https://hullrad.wordpress.com/>) es un algoritmo de código abierto para calcular los parámetros hidrodinámicos de las biomoléculas. Funciona para proteínas dobladas, proteínas intrínsecamente desordenadas y complejos de proteínas. Este método utiliza un modelo de casco convexo para estimar el volumen hidrodinámico de la molécula y es un orden de magnitud más rápido que los métodos comunes ([Fleming y Fleming, 2018](#)). *3Vee*, puede extraer y analizar automáticamente todos los volúmenes internos de estructuras proteicas. Rápidamente se encuentran volúmenes internos tomando la diferencia entre dos superficies excluidas de la sonda laminadora, una con un radio de sonda lo más grande posible y la otra con un radio de disolvente (típicamente 1,50 para agua) ([Emekli et al., 2008](#), [Ferraz et al., 2020](#)).

Sólo para fines de comparación, se incorporaron gráficos de la envoltura espacial simulada con el servidor WAXSiS (<http://waxsis.uni-goettingen.de/>) del monomero M^{profesional} en presencia y ausencia de cada uno de los homólogos. WAXSiS ejecuta una breve simulación de MD explícita con YASARA. Una vez finalizada la simulación, se construye una envoltura espacial que incluye la biomolécula y su caparazón de resolución a una distancia de 70 de los átomos de biomolécula. La dispersión de disolventes excluidos se calcula en base a una simulación de agua pura que se llevó a cabo anteriormente. El modelo WAXSiS permite detectar cambios en los parámetros proteicos globales, como el radio de la generación, el estado multimérico, la agregación o los cambios en la cáscara de la resolución de una simulación de dinámica molecular en la solución. Esto permite rastrear las transiciones conformacionales de los complejos a pequeña escala y permite mediciones precisas en ángulos más amplios debido al efecto de los ligandos, y su efecto incluso al nivel de la cáscara de resolución. Para más detalles del método WAXSiS recomendamos la revisión ([Paul et al., 2017](#), [Pavan et al., 2021](#)).

Para la predicción del número de fragmentos flexibles (*Nf*), se utilizó *HingeProt*, un servidor web para predecir piezas rígidas de proteínas y las regiones de bisagra flexible que las conectan en la topología nativa de la cadena de proteínas utilizando modelos de red elástica (EN). *HingeProt* utiliza modelos de celosía gaussiana (GNM) y modelos anisotrópicos de celosía (ANM) (<http://bioinfod.cs.tau.ac.il/HingeProt/>) ([Alvarado et al., 2015](#), [Peralta-García et al., 2021](#)).

[Ir a:](#)

4. Resultados y debate

4.1. Análisis comparativo entre las propiedades volumétricas de la monómerica M^{pro} (mM^{pro}) y sus complejos no covalentes formados por la unión de homologueas de ivermectina y PF-07321332 en medio fisiológico

Desde un punto de vista volumétrico, la formación de complejo por proteína un ligando se puede analizar a partir del cambio en el volumen molar parcial de proteína V_p según:

$$V_p = V_{n,p} + \Delta V_{int} \quad (24)$$

Dónde $\Delta V_p = (V_p(\text{complejo}) - V_p(\text{monomero}))$ es la diferencia en V_p entre el mM^{pro}-lig y complejo y el V_p monomero pro M sin ligando. Los ligandos estudiados son las homologaciones de ivermectina (B1a y B1b) y PF-07321332. El término $\Delta V_{n,p}$ es el cambio en el volumen Voronoi de proteínas y ΔV_{int} es el cambio en el volumen de interacción. En las siguientes secciones, analizaremos los cambios volumétricos obtenidos en cada una de las contribuciones $\Delta V_{n,p}$ y ΔV_{int} así como de cada uno de sus componentes al volumen molar parcial de proteína.

4.1.1. Cambios inducidos en volumen de Voronoi $V_{n,p}$ por unión no covalente de ivermectina y PF-07321332 al monómero M^{profesional} (mM^{pro})

[La Tabla 1](#) muestra los valores de volumen de Voronoi obtenidos por simulaciones moleculares dinámicas (MD). Una simple inspección revela que el volumen anhidro $V_{n,p}$ es de mayor magnitud cuando el monómero se encuentra en complejo con la homologue B1b (a partir de aquí hacia adelante llamada mM^{pro}-B1b) en comparación con el monomero sin ligando (mM^{pro}), el complejo monomérica mM^{pro}-PF y mM^{pro}-B1a. Esto da el orden obtenido como mM^{pro}-B1b - mM^{pro} - mM^{pro}-PF - mM^{pro}-B1a.

^{pro}mM^{pro}-B1a. La diferencia ΔV_{np} entre mM^{pro}-B1b y mM^{pro} era 93,35 cm³ / , -136.70 cm³ / entre el complejo mM^{pro}-B1a y mM^{pro}, y -133.08 cm³ / para el complejo mM^{pro}-PF. Aunque estas cantidades pueden parecer pequeñas, son realmente significativas. Los cambios volumétricos involucrados en el plegado o el despliegue inducidos en proteínas por unión al ligand son muy modestos ([Azam et al., 2021](#), [Azam et al., 2020](#), [Ball, 2017](#), [Persson y Halle, 2018](#), [Brovchenko et al., 2010](#), [Kaur et al., 2018](#), [Pereira et al., 2006](#), [Petsek et al., 2007](#), [Pfeiffer et al., 2008](#)). Según el cambio en el volumen de Voronoi puede calcularse como:

$$V = V_{V} + \Delta V_{v} + \Delta V_{T} \quad (25)$$

Cuadro 1

Propiedades volumétricas obtenidas de las estructuras mínimas de energía a 100 ns del monómero M^{pro} (mM^{pro}) y mM^{pro}-B1a, mM^{pro}-B1b y mM^{pro}-Complejos no covalentes de PF formados por la unión de las homologos de ivermectina (B1a y B1b) y PF-07321332.

	V _{nhp}	V _h	V _m	V _T	V _{int}	-)M _{ni}	V _p	V _v	H _h
mM ^{pro}	26960.49	44431.81	23929.08	3031.41	-1727.93	1303.48	25232.56	4443.09	0,57
mM ^{pro} B1a	26823.79	43762.61	23819.77	3004.02	-1675.27	1328.75	25148.53	4333.78	0,55
mM ^{pro} B1b	27053.84	47025.24	24033.62	3020.22	-1975.19	1045.03	25078.64	4547.63	0,65
mM ^{pro} PF	26827.41	44139.10	23852.54	2974.87	-1712.15	1262.72	25115.26	4366.55	0,56

[Abrir en una ventana separada](#)

Cantidades de volumen expresadas en cm³ /mol; H_h en g_{agua} /g_{proteína} ; van der Waals volumen de mM^{pro}(V_w): 19485.99 cm³ /mol estimado con modelo de *vete* usando prueba de sonda de 0 -.

Si el cambio en el volumen de van der Waals se considera insignificante ([Hijo et al., 2014](#)), luego la diferencia en se debe a cambios inducidos por la unión en el volumen de las cavidades internas de la mM^{pro} y la contribución de volumen que proviene de las interacciones repulsivas proteica-agua [véase [el punto 8 de la fecha 8 y 25](#)]. Es importante mencionar que el los valores son excelentemente [reproducidos](#) por [Eqs. 6 y 7](#) del modelo Lee-Graziano SPT. De hecho, la diferencia entre mM^{pro}-B1b y mM^{pro} fue de 115,19 , -120.68 entre el complejo mM^{pro}-B1a y mM^{pro} y -84.50 entre el complejo mM^{pro}-pro-F y mM^{pro}. Lo que establece que está cerca de y sostiene que las aproximaciones que intervienen en este trabajo son adecuadas.

Con esto en mente, podemos sugerir que , y utilizando los valores obtenidos para del modelo SPT (ver [Tabla 1 y \(7\), \(8\)](#)) encontramos que para la diferencia entre el complejo mM^{pro}-B1b y el mM^{pro}, un valor de para la diferencia entre el complejo mM^{pro}-B1a y mM^{pro} y para la diferencia entre el complejo mM^{pro}-PF y mM^{pro}. El valor negativo de en todos los casos refleja la disminución de áreas superficiales dentro de las interfaces ligand-proteína [Chalikian y Filfil, 2003](#). A medida que el complejo mM^{pro}-PF exhibe la mayor disminución de la superficie se hace evidente que la magnitud de está dominado por el cambio en el componente volumétrico . Este resultado es muy interesante porque nos permite sugerir que el valor de viene de cambios en la distribución de tamaño de las cavidades internas del monómero inducido por la unión de homólogos de ivermectina y PF-07321332 debido a la pequeña magnitud de en comparación con . Es importante señalar que este cambio en el componente volumétrico en el monómero ^{profesional} mM es diferente en los complejos con B1a y PF-07321332 (dV_v 0 en ambos casos) en lugar de B1b y PF-07321332 (dV_v 0 en ambos casos). Es importante mencionar que la magnitud de depende del estado con conformante de la proteína ([Chalikian y Filfil, 2003](#)). Estos resultados volumétricos a 100 ns están de acuerdo con los resultados obtenidos por simulaciones moleculares mediante modelos de Red Anisotropica (ANM) y Red Gaussian (GNM) ([Alvarado et al., 2015](#), [Peralta-García et al., 2021](#)). En la ANM y GNM, si el número de fragmentos flexibles de un complejo de proteínas-liga es mayor que en la proteína no complemental respectiva en su estado nativo, se interpreta que se dice que un desenvolvimiento inducido por el ligando ocurrió, de lo contrario, si disminuyen en la proteína-liga en relación con la proteína sin unión de ligando, compactación o pliegue que se dice que ha ocurrido ([Alvarado et al., 2015](#), [Peralta-García et al., 2021](#)). En [Fig. 7](#), se observa una tendencia similar pero con una serie de fragmentos flexibles que difieren entre los complejos a finales de 100 ns. Número de

fragmentos flexibles de complejos sugieren el comportamiento diferencial de los ligandos de los tres ligandos (B1a, B1b y PF-07321332) cuando se unen al mM^{pro}. Curiosamente, la homologue B1b indujo el despliegue mientras la homologue B1a y la compactación estructural inducida por la PF B1a y PF-073232 inducían en el mM^{pro} (ver Fig. 7).

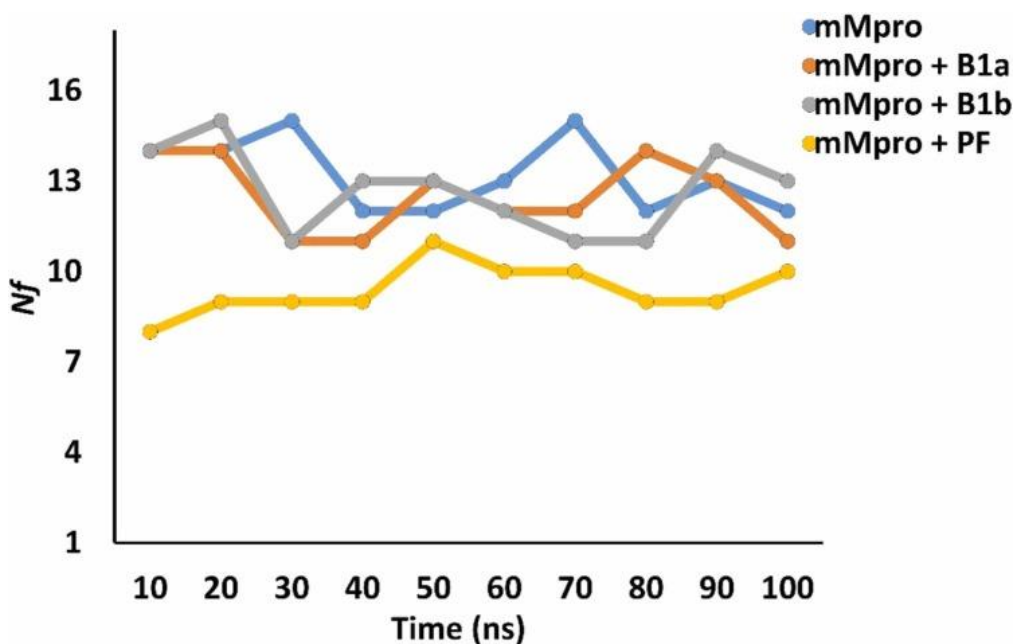


Fig. 7

Comparación entre la fluctuación del número de fragmentos flexibles de complejos no covalentes utilizando modelos de Red Anisotrópica (ANM) y modelo de red gaussiana (GNM). Las predicciones corresponden a las estructuras de energía mínima en la simulación de 100 ns MD.

Cabe mencionar que las homologueas de ivermectina interactúan con el mM^{profesional} en diferentes sitios como se muestra en la Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4 y Fig. 5. Mientras que el ligando PF-07321332 se une en el mismo sitio que la homologue B1a en el monómero M^{profesional} (ver Fig. 5).

Este análisis previo fue posible gracias al conocimiento del volumen de Voronoi V_{nhpy} el volumen térmico V_T para cada proteína involucrada en este análisis. Mientras que en el caso del segundo mandato ΔV_{int} de Eq. (24), primero debemos determinar el volumen de hidratación V_{shy} ΔV_{sh} del volumen hidrodinámico V_{hy} el volumen de Voronoi de cada especie. Una vez V_{shes} conocido, es posible determinar δ_{hy} luego estimar ambos V_{inty} ΔV_{int} en cada caso.

4.1.2. Cambios inducidos en el volumen hidrodinámico V_{hy} el volumen de la capa de hidratación v_{shpor} unión no covalente de ivermectina y PF-07321332 en M^{pro} monómero (mM^{pro})

Los valores obtenidos para el volumen hidrodinámico se muestran en la Tabla 1. El mismo patrón que se observa para el volumen de Voronoi se observa, *es decir*, mM^{pro}-B1b > mM^{pro} > mM^{pro}-PF > mM^{pro}-B1a. La diferencia en V_{entre} mM^{pro}-B1b, mM^{pro}-B1a y mM^{pro}-PF complejo con mM^{pro} fueron $\Delta V_h = +2593.43$, -669.20 cm³/mol, y -292.71 cm³/mol, respectivamente. Una mirada a Eq. 17 muestra que $\Delta V_h = \Delta V_{nhp} + \Delta V_{sh}$, y así $|\Delta V_{sh}| \gg |\Delta V_{nhp}|$ es cierto para las homoloques de la ivermectina, en cambio, en el caso de mM^{pro}-PF el valor de ΔV_{shes} sólo ligeramente más grande que ΔV_{nhp} . Después de esto, el cambio en el volumen de la capa de hidratación de monómero domina. Este resultado es muy interesante porque establece que el volumen de la capa de hidratación V_{shes} muy diferente en los tres complejos en relación con el monómero nativo, cumpliendo que $V_{sh}(mM^{pro}-B1b) 19971.40 \text{ cm}^3/\text{mol} > V_{sh}(mM^{pro}) 17471.32 \text{ cm}^3/\text{mol} > V_{sh}(mM^{pro}-B1a) 17311.69 \text{ cm}^3/\text{mol} > V_{sh}(mM^{pro}-B1a) 16938.62 \text{ cm}^3/\text{mol}$. Por lo tanto, $\Delta V_{sh}(mM^{pro}-B1b - M^{pro}) = 2500.08$ cm³/mol, $\Delta V_{sh}(mM^{pro}-B1a - M^{pro}) = -532.70$ y $(mM^{pro}-PF - M^{pro}) = -159.63$. Es decir, la capa de hidratación en el monómero es más gruesa cuando se une a la homologación B1b que cuando se une a la homologue B1a o PF-07321332,

mientras que esta capa es más delgada en el monómero cuando se une a la homologación B1a. Estos resultados sugieren que las homologaciones de ivermectina y PF-07321332 afectan la reacción de dimerización del monómero para formar el dimérico M^{pro} (dM^{pro}), un proceso que es importante para la replicación viral ([Choudhury et al., 2021](#), [Lee, 1983](#), [Carvallo y Hirsch, 2020](#), [Chalikian, 2016](#), [Chalikian, 2021](#), [Chalikian y Breslauer, 1996](#), [Chalikian y Filfil, 2003](#)). Es muy interesante ver que el PF-07321332 y B1a deshidratación mM^{pro} como la capa de hidratación de las proteínas conocidas como agua biológica se ha asociado como parte fundamental de la proteína y que juega un papel importante en la función biológica de las proteínas ([Rabie, 2021](#), [Reardon, 2021](#), [Reid et al., 2021](#)).

Se obtuvo información adicional sobre los cambios inducidos en la hidratación de las proteínas del grado de hidratación medido en gramos de agua por gramo de monómero, que se calculó con [Eq. 19](#) y los valores del volumen hidrodinámico y volumen de Voronoi (véase [el cuadro 1](#)). Los resultados obtenidos se muestran en la [Tabla 1](#). El mM^{pro} está más hidratado en comparación con el mM^{pro} nativo cuando está atado al homólogo B1b. En comparación, el monómero está menos hidratado en comparación con el complejo mM^{pro} -B1a, complejo mM^{pro} -PF y el mM^{pro} nativo desde un punto de vista hidrodinámico. Es decir, la homologación B1a y la PF-07321332 indujo la pérdida de moléculas de agua en el mM^{pro} al ser atados. Estos valores son interesantes ya que proporcionan información sobre el grado de hidratación en el monómero y su cambio durante la compleja formación por unión de ligando. Sin embargo, la información sobre la contracción de la capa de hidratación mediada por interacciones atractivas que provienen de las interacciones de la superficie de agua de la proteína se obtiene a través de la Componente volumétrico.

Otro aspecto relevante a destacar de estos resultados es que la hidratación obtenida para el mM^{pro} (0.57) es igual al valor notificado para lisozima (0.57) y cerca de la elasa porcina (0.53) utilizando otros modelos de proteasas ([Fornés, 2008](#)). De hecho, este grado de hidratación es alto y cualquier cambio en esto puede afectar significativamente los eventos de reconocimiento molecular para esta proteasa, ya que se sabe que para este tipo de reacción bioquímica en proteínas, la hidratación es una fuerza motriz extremadamente importante ([Chalikian, 2021](#)). Es muy importante señalar que no hay informes de este tipo de datos para las proteasas asociadas con SARS-CoV-2 y en particular para M^{pro} .

4.1.3. Cambios inducidos en el volumen de interacción por unión no covalente de homologamos de ivermectina y PF-07321332 en M^{pro} monómero (mM^{pro})

La interacción de las fuerzas específicas y no específicas de van der Waals de agua como disolvente con los residuos polares, no polares y de superficie cargados de la proteína se cuantifica en la atractiva contribución volumétrica (véase [\(14\)](#), [\(16\)](#)) al volumen molar parcial o aparente. Esta cantidad volumétrica Por lo tanto, es una medida de la contracción del volumen de agua como disolvente en la proximidad de los grupos cargados y polares de la proteína ([Ball, 2017](#), [Fleming y Fleming, 2018](#), [Jofily et al., 2021](#), [Kaur et al., 2021](#)). De ahí su importancia para evaluar los cambios inducidos en la hidratación de proteínas debido a la unión al ligando. [La Tabla 1](#) muestra los valores obtenidos para esta propiedad volumétrica, demostrando la siguiente tendencia (mM^{pro} -B1b) $-(mM^{pro})$ $-(mM^{pro}$ -PF) $-(mM^{pro}$ -B1a).

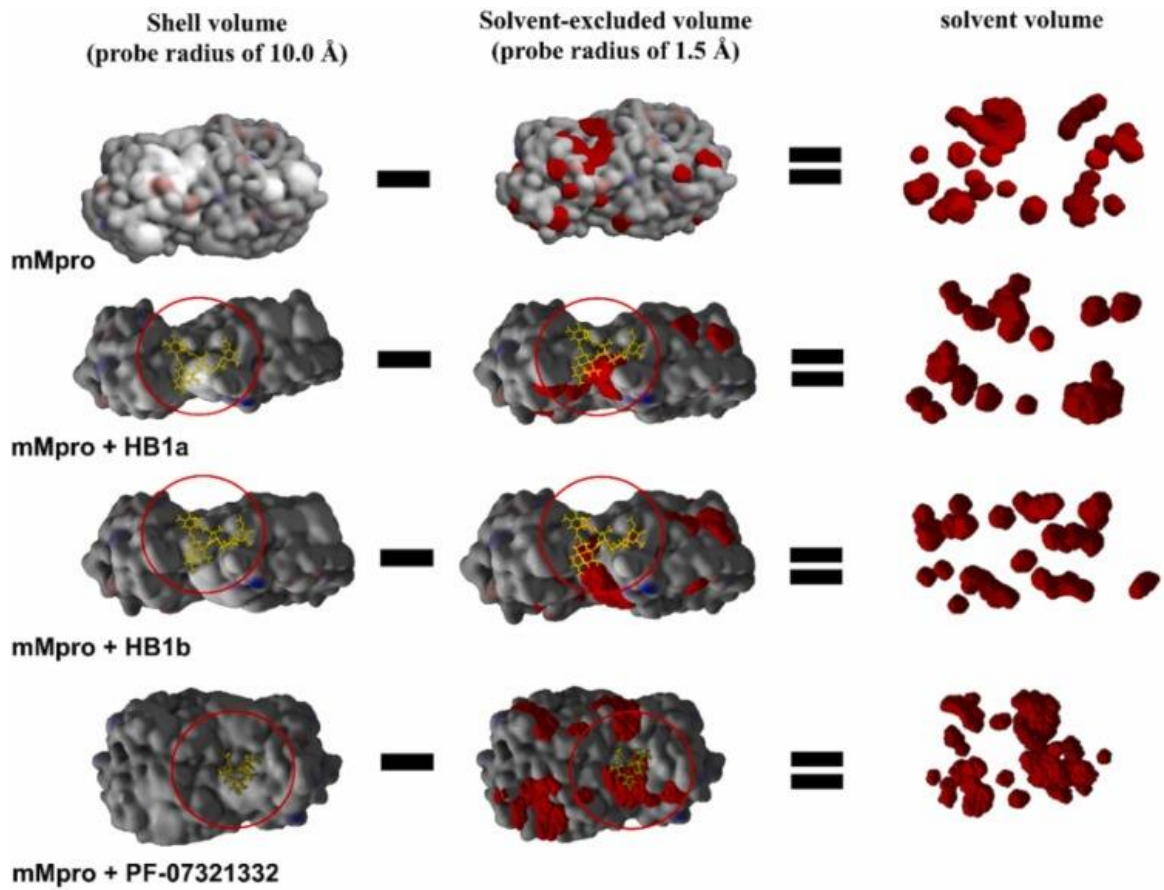
La diferencia entre mM^{pro} -B1b y mM^{pro} es -247.26, 52.66 entre mM^{pro} -B1a y mM^{pro} y -15.78 entre mM^{pro} -PF y mM^{pro} . Estos resultados sugieren que la unión de ivermectina B1b a mM^{pro} induce una redistribución de los grupos de superficie cargados y polares, favoreciendo la exposición y la población de estos a disolvente. Mientras que en el caso del complejo mM^{pro} -B1a y PF-07321332, la exposición de estos residuos de aminoácidos superficiales se desfavorece y la exposición de los no polares podría ser favorecida, lo que posiblemente afecta a la solubilidad de la proteína como ocurre con solutos hidrofóbicos que tienden a suponerse en el agua ([Remsing et al., 2018](#), [Richards, 1993](#)). Es importante ver la consistencia de estos resultados recordando que B1a y PF-07321332 se unen en el mismo sitio dentro de la proteína mM^{pro} . En cualquier caso, el poco agua que rodea la proteína o el sitio donde B1a o PF-073232 se encuadernan o están mal estructurados. Por lo tanto, afectar el grado de hidratación local podría ser importante. Se ha propuesto que el agua desempeña un papel importante en el sitio catalítico en M^{pro} ([Macchiagodena et al., 2022](#)). Estos resultados también son importantes, ya que dependiendo de qué región se produce esta hidratación o deshidratación en la proteína, la flexibilidad, la estabilidad y los mecanismos de reconocimiento de la proteína pueden verse significativamente afectados ([Kharakoz y Sarvazyan, 1993](#), [Lee, 1983](#), [Lockbaum et al., 2021](#), [Macchiagodena et al., 2022](#), [Madhavi et al., 2021](#)). La homomerización de este monómero para formar la especie biológicamente activa también podría verse

afectada ([Goyal y Goyal, 2020](#)). En esta dirección, los resultados obtenidos son interesantes como el valor negativo de observado para la formación del complejo mM^{pro}-B1b se asocia con una alta hidratación que sugiere menor tendencia de agregación, disminución de la hidrofobicidad y superficie de carga más alta en proteínas ([Aggarwal y Biswas, 2020](#)). Por el contrario, en el caso de la homologue B1a y PF-07321332, la formación del complejo mM^{pro}-B1a conduce a un valor positivo de que se asocia con una baja hidratación y como consecuencia una mayor tendencia a la agregación o a una mayor tendencia a formar agregados o cúmulos desordenados (un aumento de la hidrofobicidad y menor carga en la superficie de proteínas) ([Aggarwal y Biswas, 2020](#)). En cualquier caso, los resultados sugieren el efecto negativo sobre la reacción de la homodimerización. Es muy importante mencionar que estos resultados apoyan los informes de la inhibición de la reacción de dimerización de ^{mágico} por unión del fármaco PF-07321332 ([Carvallo y Hirsch, 2020](#), [Chalikian, 2016](#), [Chalikian, 2021](#), [Chalikian y Breslauer, 1996](#), [Chalikian y Filfil, 2003](#)). Por lo tanto, como PF-07321332 y B1a se unen en el mismo sitio, es posible proponer que esta homologue de ivermectina tenga un efecto similar.

Es muy interesante que la tendencia observada para fue similar a la obtenida para las fluctuaciones del momento dipolo eléctrico en la superficie (véase [Ec.23](#)) de la proteína mM^{pro}-B1b (55.7) -mM^{pro} (54.2) mM^{pro}-PF (54.2) -mM^{pro}-B1a (54.1), sugiriendo que esta propiedad eléctrica juega un papel importante en la contracción de la primera capa de hidratación, tal vez al afectar las interacciones de dipolo agua-agua en la interfaz proteico-agua ([Seyedi y Matyushov, 2018](#)). Cabe señalar también que los valores obtenidos para están en el orden esperado para una proteína con una masa de 33.4 kDa ([Fornés, 2008](#)).

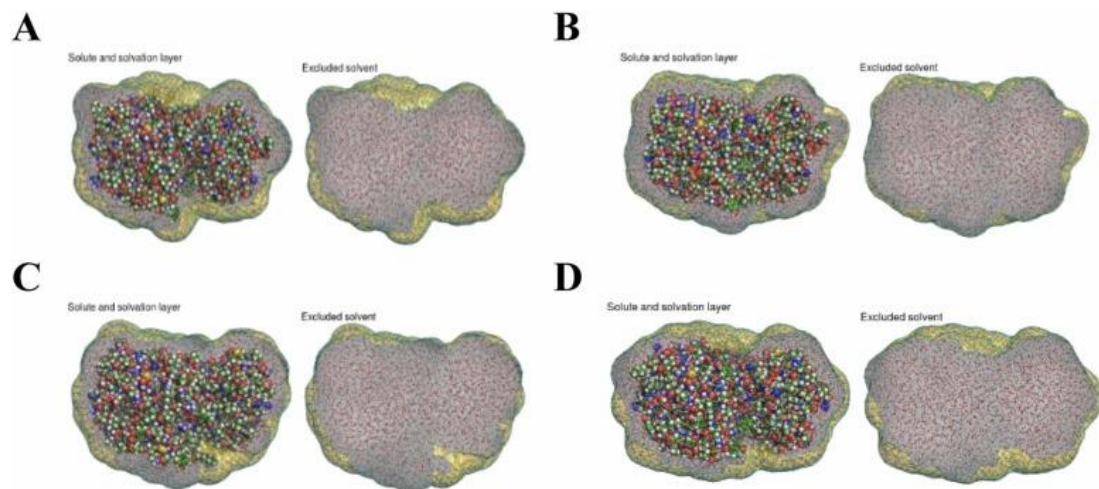
El valor del complejo mM^{pro}-B1a es 0,18% menor que el obtenido para el ^{pro}complejo mM^{pro} y mM pro-PF, mientras que es un 2,87% menor en comparación con el complejo mM^{pro}-B1b. Aunque estos porcentajes parecen ser muy pequeños, no hay otros informes de estudios comparativos entre los complejos de proteínas y las proteínas libres que permitan un análisis de esta situación. Está claro que son necesarios más estudios sobre este tema. Sin embargo, estas pequeñas diferencias entre Si se cree que está relacionado con los cambios en las poblaciones de residuos de aminoácidos polares expuestos en la superficie de la proteína uniéndose a homologues de ivermectina y PF-07321332, y se espera que estas poblaciones de residuos polares cambien en una pequeña fracción durante los cambios globales de conformación.

Estos resultados, junto con los obtenidos para y , sugieren que cada proteína-liga y complejo debe tener una diferencia tanto en el grosor de la capa de hidratación como en la distribución de las moléculas de agua en la proteína. [Fig. 8](#), [Fig. 9](#) demostrar las diferencias en las capas de hidratación, particularmente en la distribución de las moléculas de agua en las cavidades superficiales de cada especie. En el caso de [Fig. 8](#), el modelo 3Vee permite estimar el radio de la capa de hidratación (espesor de la capa de agua) de la superficie de la proteína, estimando que la distancia será de 10 -como , dónde es el radio desde el centro de la proteína hasta su superficie más una distancia de 10 -de esta superficie y es el radio intrínseco o Voronoi de proteína, ambas cantidades. y se han estimado a partir de los volúmenes respectivos. Los resultados dan la siguiente tendencia (mM^{pro}) 14.76 (mM^{pro}-B1b) 14.75 -) -(mM^{pro}-PF) 13.30 (mM^{pro}-B1a) 12.98 -. Está claro que el complejo mM^{pro}-B1a es el menos hidratado de todas las proteínas, mientras que el complejo mM^{pro}-B1b tiene una hidratación cercana o igual a la proteína nativa.



[Fig. 8](#)

Comparación entre el volumen de disolvente extraído de mM^{pro} en presencia y ausencia de cada homologue y PF-07321332 utilizando el *3vee Solvent Extraction Module* (<http://3vee.molmovdb.org/solventExtract.php>).



[Fig. 9](#)

Comparación entre la envoltura espacial simulada con el servidor WAXSiS de m profesional^{pro} en presencia y ausencia de cada homologue (<http://waxsis.uni-goettingen.de/>). A, mM^{pro} libre; B, mM^{pro} . Avermectin B1a (B1a); C, mM^{pro} . Avermectin B1b (B1b); D, mM^{pro} PF-07321332. Las predicciones corresponden a la estructura de energía mínima en la simulación de 100 ns MD. La envoltura espacial

simulada incluye la biomolécula y su capa de disolución a una distancia de 7o de los átomos de la biomolécula.

4.1.4. Cambios inducidos en la contribución de volumen no intrínseco al volumen molar parcial de complejos no covalentes en medio fisiológico

Graziano informó que la contribución volumétrica no intrínseca en una dilución infinita en el agua para mezclar esferas duras es siempre una cantidad pequeña y positiva (Graziano, 2006). Recientemente lo hemos confirmado para modelos de proteínas globulares (Awoonor-Williams y Abu-Saleh, 2021, Jofily et al., 2021). Esto se debe a que esta contribución a V_p es el resultado de un equilibrio entre el componente volumétrico repulsivo V_T y el componente atractivo V_{int} [ver Eq. 2], y siempre domina V_T . En este estudio los valores obtenidos para $\langle \Theta \rangle_{mni}$ utilizando los datos de V_T y V_{int} se muestran en la Tabla 1, dando la siguiente tendencia $\langle \Theta \rangle_{mni}(mM^{pro} - B1b) < \langle \Theta \rangle_{mni}(mM^{pro} - PF) < \langle \Theta \rangle_{mni}(mM^{pro} - B1a)$. Esto se ve más fácilmente en forma numérica como $\Delta \langle \Theta \rangle_{mni}(mM^{pro} - B1b - mM^{pro}) = -238.82 \text{ cm}^3/\text{mol}$, $\Delta \langle \Theta \rangle_{mni}(mM^{pro} - PF - mM^{pro}) = -40.76 \text{ cm}^3/\text{mol}$ y $\Delta \langle \Theta \rangle_{mni}(mM^{pro} - B1a - mM^{pro}) = 40.29 \text{ cm}^3/\text{mol}$. La diferencia en el signo de este parámetro se debe a que en los dos primeros casos donde $\Delta \langle \Theta \rangle_{mni} < 0$, el componente volumétrico repulsivo proteína de agua V_T domina en el monómero no ligado, mientras que en el último caso este componente repulsivo domina en el complejo, que refleja que el mecanismo implicado en el cambio de volumen para la formación de los complejos es diferente en cada caso. Es interesante tener en cuenta que aunque los datos sugieren que la homologue B1a y el PF-07321332 se unen en el mismo sitio en mM^{pro} (ver Fig. 5), la propiedad $\Delta \langle \Theta \rangle_{mni}$ tiene una magnitud similar pero un signo diferente.

4.1.5. Cambios inducidos en el volumen molar parcial V_p de complejos no covalentes en medio fisiológico

Basado en Eq. 11 y utilizando los datos para el volumen de Voronoi V_{nhp} volumen de interacción V_{int} de la Tabla 1, hemos determinado el volumen molar parcial en medio fisiológico mM^{pro} , los complejos $mM^{pro} - B1a$, $mM^{pro} - B1b$ y $mM^{pro} - PF$ complejos. En la misma tabla los valores obtenidos para esta propiedad se muestran siguiendo la tendencia, *es decir*, $V_p(mM^{pro}) > V_p(mM^{pro} - B1a) > V_p(mM^{pro} - PF) > V_p(mM^{pro} - B1b)$. Los homólogos de ivermectina y PF-073232 indujeron una disminución en el volumen molar aparente V_p de mM^{pro} con $\Delta V_p(mM^{pro} - B1b - mM^{pro}) = -153.91 \text{ cm}^3/\text{mol}$, $\Delta V_p(mM^{pro} - PF - mM^{pro}) = -117.30 \text{ cm}^3/\text{mol}$ y $\Delta V_p(mM^{pro} - B1a - mM^{pro}) = -84.03 \text{ cm}^3/\text{mol}$. Es importante señalar que, aunque en todos los casos ΔV_p tiene signo negativo, el mecanismo implicado en el volumen molar parcial V_p del cambio es diferente en cada caso. Para el complejo $mM^{pro} - B1b$, el cambio de volumen ΔV_p está dominado por el componente atractivo ΔV_{int} . Es decir, la atractiva interacción de los grupos cargados y polares en la superficie de la proteína con las moléculas de agua (capa de hidratación). Mientras que en el caso del $mM^{pro} - B1a$ y $mM^{pro} - PF$ complejo, el cambio en ΔV_p está dominado por la ΔV_{nhp} componente, que está dominado por cambios en la distribución del tamaño de las cavidades internas del monómero ΔV_v . Entonces podemos ver claramente con estos resultados con la estructura de la energía mínima a 100 ns que el cambio en las propiedades volumétricas del mM^{pro} producido por los homólogos de ivermectina procede por diferentes mecanismos. Pero los cambios volumétricos inducidos en mM^{pro} por B1a y PF-073232 proceden por el mismo mecanismo.

Los resultados obtenidos con la estructura de la energía mínima a los 100 ns para la formación de los complejos implican un cambio conformacional que se refleja volumétricamente en la ΔV_v componentes y en ΔV_{int} como se esperaba teórica y experimentalmente, por lo que nuestros resultados son consistentes. Aunque nuestros resultados parecen sólo cualitativos, podemos ver que se obtiene información similar si el análisis se hace de la manera tradicional utilizando el modelo empírico propuesto por Chalikian y compañeros de trabajo (Chalikian y Macgregor, 2019). Además, la metodología utilizada aquí se logró estimando el grosor del volumen térmico $\Delta p = (V_{nhp} - V_{mSA})$ de la superficie accesible de disolvente y volumen térmico como sugiere el modelo empírico de Chalikian y colaboradores. Nuestros valores estimados en cada caso eran $\sim 0,5$, que se encuentra en el rango reportado en la literatura (1o 0,5o) (Graziano, 2017, Kasahara et al., 2020). Aunque también se conocen valores más bajos (Chalikian y Macgregor, 2019). Graziano ha argumentado que el valor debería ser de 0,5o (Graziano, 2013).

El análisis presentado aquí es importante desde una perspectiva química biofísica para entender los cambios inducidos en la proteína monomérica M^{pro} por unión de homólogos de ivermectina y PF-07321332. El cambio en el volumen observado se atribuye principalmente a los componentes V_{int} en el

caso de la homologue B1b, y Vven los casos de fármaco homologue B1a y PF-07321332. Esto sugiere que para la unión B1b la contracción del volumen de disolvente puede tener el mayor efecto sobre el cambio de volumen. Mientras que, para B1a y PF-073212 unen el volumen de cavidades dentro de la proteína puede tener el mayor efecto sobre el cambio de volumen.

4.2. Comportamiento dinámico del volumen molar parcial Vpy Voronoi Volumen de complejos no covalentes

Como se ha dicho anteriormente, el componente volumétrico es el que más contribuye a ΔV_{pen} B1a/mM^{pro} y PF/mM^{pro} es el volumen de cavidad o vacíos internos Vv, mientras que el volumen de interacción Vinta 100 ns es la principal contribución a ΔV_{pen} el caso de B1b/mM^{pro}. Además, el componente geométrico Vvestá dentro de volumen intrínseco Vnhp=VI, mientras que Vintcontribuye en Vpequilibrio Vnhp.

Adelgazando los datos presentados en [Tabla 2](#) con [Eq. 22](#) para el caso del volumen y la proteína intrínsecos o Voronoi, es posible estimar el cuadrado medio de la fluctuación del volumen en cada caso ($\langle \delta V_{2p} \rangle_{1/2}$ o $\langle \delta V_{2I} \rangle_{1/2}$). La precisión de [la Ec. 22](#) depende de varios factores, uno de los cuales es tener un número significativamente grande de estructuras (insquemas) de la proteína de interés que se estudia por la dinámica molecular. Se realizó un estudio comparativo entre los resultados obtenidos para la nucleasa estafilocócica (SNase) ([Voloshin et al., 2015](#)) con 5000 estructuras (instasiadas) a 50 ns y nuestra metodología utilizando 10 estructuras a 100 ns. A través de ella, hemos encontrado que podemos reproducir la fluctuación del volumen de proteínas $\langle \delta V_{2p} \rangle_{1/2}$ y el volumen intrínseco o Voronoi $\langle \delta V_{2I} \rangle_{1/2}$. Si en [Ecá. 22](#) consideramos un factor de corrección estadística de $K_s=0.57$ asociado a esta proteína, es decir:

$$\langle \delta V_{2i} \rangle_{1/2} = K_s \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{j=1}^N (V_i(j) - \langle V_i \rangle)^2} \quad \square \sqrt{\square} \quad \square i=I \text{ or } P \quad (26)$$

con esta ecuación estimamos la fluctuación del volumen intrínseco usando el volumen Voronoi (VI=Vnhp, see [Table 2](#)). Al considerar que esto representa el volumen de geometría inaccesible al disolvente, entonces en términos de $\langle \delta V_{2I} \rangle_{1/2}$, obtuvimos la siguiente tendencia: mM^{pro}-B1b (218.74 cm³/mol) > mM^{pro}-B1a (197.47 cm³/mol) > m^{Mpro} (175.11 cm³/mol) y > m^{Mpro}-PF (160.29 cm³/mol). Este resultado establece que ambos complejos con ivermectina (B1a y B1b) son más dinámicos y/o flexibles que el monómero nativo, mientras que el complejo mM^{pro}-B1b es más dinámico que el complejo mM^{pro}-B1a. Sin embargo, el ^{pro}complejo mM pro-PF es el menos dinámico o flexible de todas las especies moleculares.

Cuadro 2

Volumen de molar Vpy volumen de Voronoi Vnhpvalores para el monómero y sus complejos no covalentes con los homólogos de ivermectina y PF-07321332 en un rango de tiempo de 10o100 ns.

Tiempo (ns)	Volumen de Voronoi (cm ³ /mol)				Volumen de molar (cm ³ /mol)			
	mM ^{pro}	mM ^{pro} B1a	mM ^{pro} B1b	mM ^{pro} PF	mM ^{pro}	mM ^{pro} B1a	mM ^{pro} B1b	mM ^{pro} PF
10	26540.76	27298.93	27327.84	26911.11	24620.19	25315.27	25338.34	25186.35
20	26718.41	26742.5	26684.08	26705.76	24886.94	24807.33	24749.51	25108.24
30	26361.31	26343.24	26227.01	26357.09	24586.37	24621.61	24539.6	24567.74
40	27046.61	26949.05	27206.19	27051.43	25225.53	25172.51	25348.04	25339.7
50	26739.49	26632.3	26863.54	26770.8	24954.09	24991.07	25028.79	25076.83
60	26201.72	26274.59	26348.66	26273.38	24558.1	24662.71	24656.52	24722.66
70	27086.96	27091.77	27233.89	27013.49	25233.07	25392.32	25253.24	25304.16
80	26734.67	26782.85	26909.31	26682.88	24919.69	25110.14	25071.43	24987.2
90	26236.65	26177.63	26355.28	26246.28	24555.11	24653.62	24669.85	24683.19

Tiempo (ns)	Volumen de Voronoi (cm ³ /mol)				Volumen de mollar (cm ³ /mol)			
	mM ^{pro}	mM ^{pro} B1a	mM ^{pro} B1b	mM ^{pro} PF	mM ^{pro}	mM ^{pro} B1a	mM ^{pro} B1b	mM ^{pro} PF
100	26960.49	26823.79	27053.84	26827.41	25232.56	25148.53	25078.64	25115.26

[Abrir en una ventana separada](#)

En el caso de $\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2}$ los resultados obtenidos fueron 160.78 cm³/mol (mM^{pro}-B1b), 153.84 cm³/mol (mM^{pro}), 152.95 cm³/mol (mM^{pro}-B1a) y 143.86 cm³/mol (mM^{pro}-PF). Los valores correspondientes de $\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2}$ están en los 300-200 cm³/mol rango reportado previamente (Persson y Halle, 2018). El complejo mM^{pro}-B1a y el complejo mM^{pro}-PF son 0.6% y 7% menos dinámicos que el monómero nativo, respectivamente, mientras que el complejo mM^{pro}-B1b es un 4,5% más dinámico que el monómero nativo. Así, la fracción de fluctuación de volumen $\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2} / V_p$ en todos los casos fue alrededor del 0,6%, lo que es cercano al reportado para otras proteínas más pequeñas que mM^{pro} (34,5 kDa) (Lindow et al., 2013, Lockbaum et al., 2021). Sin embargo, es el doble del valor medio reportado para un conjunto más grande de proteínas que incluye proteínas de mayor masa que mM^{pro} (Gekko y Hasegawa, 1986). Es muy interesante ver que los complejos con la menor fluctuación de volumen ($\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2}$, por ejemplo, los complejos mM^{pro}-PF y mM^{pro}-B1a, también tienen el más bajo V_{int} valores.

Desde entonces V_{int} una medida de la contracción de la capa de hidratación debido a las atractivas interacciones de los grupos de superficie proteica con moléculas de agua, y dado que la contribución principal proviene de la presencia de grupos cargados expuestos en la superficie proteica al disolvente (Azam et al., 2020, Bola, 2017), entonces la fracción de los grupos cargados en estos complejos debe ser baja en comparación con el monómero. Por lo tanto, la tensión interfacial γ_{pw} entre la proteína y el agua, debe ser alto en relación con el monómero nativo. Lo contrario es cierto para el pro complejo mM^{pro}-B1b, que exhibe la más alta dinámica estructural y la más alta V_{int} valor de todas las especies, sugiriendo una alta fracción de los grupos de superficie cargados expuestos al agua. En consecuencia, podemos esperar una menor tensión interfacial de proteína-agua de todos los valores. Cabe señalar que un valor bajo de γ_{pw} se asocia con un alto grado de hidratación proteica y *viceversa*, estando de acuerdo con el modelo adhesivo-cohesivo para la compresibilidad proteica, en el que las atractivas fuerzas del agua compiten con las interacciones intraproteicas que favorecen el plegado propuesto por Dadarlat y Post (Dadarlat y Post, 2001).

Para apoyar esta idea, estimamos la tensión interfacial γ_{pw} utilizando el valor de $\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2}$ y el radio medio de la proteína $\langle r_p \rangle$ (ver Tabla 1) y el modelo propuesto por Lee (Lee, 1983).

$$\gamma_{pw} = KT^2 \sigma \quad (27)$$

Aquí, $\sigma = \langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2} / \langle r_p \rangle$ y $\langle r_p \rangle = 3V_p / 4\pi N^{1/3}$, los resultados obtenidos mostraron la siguiente tendencia para γ_{pw} (cal/mol-Å⁻²), mM^{pro}-PF ($\gamma_{pw} = 26.7$) > mM^{pro}-B1a ($\gamma_{pw} = 25.1$) > mM^{pro} ($\gamma_{pw} = 24.9$) > mM^{pro}-B1b ($\gamma_{pw} = 23.8$), que apoya lo que se discutió anteriormente.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que $\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2}$, V_{int} , γ_{pw} y δ están correlacionados y están de acuerdo con el modelo Dadarlat-Post (Dadarlat y Post, 2001). Este modelo sugiere también que la alta compresibilidad, resultante de grandes fluctuaciones en el volumen molecular de la proteína, corresponde a una proteína enthalpamente menos estable (Dadarlat y Post, 2001). Otra posible conexión puede provenir de la relación inversa entre la flexibilidad y la estabilidad de las proteínas (Macchiagodena et al., 2022, Shek y Chalikian, 2013). Además, se ha informado que la hidratación de una proteína se ve favorecida a medida que aumenta su rigidez (Remsing et al., 2018). Basados en estos argumentos, proponemos que los complejos mM^{pro}-B1a y mM^{pro}-PF son más entalpicamente estables que el monómero sin conexión, mientras que el complejo mM^{pro}-B1b, es entalpicamente inestable con respecto al monómero nativo.

Los valores de $\langle \delta V_{2I} \rangle^{1/2}$ son de mayor magnitud y tienen una tendencia diferente a los valores de $\langle \delta V_{2p} \rangle^{1/2}$ revelando la importante contribución que la fluctuación de la capa de hidratación tiene en V_p y no contribuye en V_{nhp} . Se obtuvo un resultado interesante estimando el número de N_f fragmentos de cada

biomolécula entre 0 y 100 ns (ver [Fig. 9](#)) utilizando métodos ANM-GNM ([Alvarado et al., 2015](#), [Peralta-García et al., 2021](#)). Los valores obtenidos para la fluctuación del número de fragmentos flexibles $\langle \delta N^2 f \rangle^{1/2}$ con estos datos tenían la misma tendencia [mM^{pro} -B1b (1.42) - mM^{pro} -B1a (1.27) mM^{pro} (1.23) mM^{pro} -PF (0.84)] como el obtenido para la fluctuación del volumen de Voronoi $\langle \delta V^2 I \rangle^{1/2}$. Es decir, el orden en la flexibilidad estructural se correlaciona con el orden en la dinámica estructural.

Proponemos que el aumento o disminución de la dinámica estructural monómero inducida por PF-07321332 o unión a ivermectina tiene algún efecto inhibitorio sobre la formación homodímera ([Carvallo y Hirsch, 2020](#), [Chalikian, 2016](#), [Chalikian, 2021](#), [Chalikian y Filfil, 2003](#)). Como se ha demostrado, la formación compleja implica un cambio en la fluctuación del volumen. También se observa que este cambio se correlaciona con los cambios en la hidratación, la distribución interna de la cavidad, la tensión interfacial y la estabilidad de la entalpía, ya que algunos de estos factores juegan un papel importante en los procesos biológicos relevantes como el reconocimiento biológico. Es interesante considerar que estas propiedades volumétricas y termodinámicas dependen del sitio de unión en el monómero. Por ejemplo, la similitud en el mecanismo entre PF-07321332 y la homóloga B1a que se unen en el mismo sitio, en comparación con el diferente mecanismo evidenciado para B1b que une en un sitio diferente en el monómero. Si uno considera además que debido al sitio de unión, todos los ligandos involucrados aquí pueden bloquear estéricamente la unión a proteínas-proteína para formar la proteína homodímera basada en la estructura dimerica mostrada en PDB: 6LU7. Así que, dada la evidencia de efecto inhibitorio en M^{pro} por PF-07321332, nuestros resultados sugieren que los derivados de la ivermectina también deberían tener algún efecto.

4.3. Estudio comparativo del complejo covalente y no covalente de PF-07321332 con mM^{pro} : comportamiento dinámico del volumen de Voronoi V_{nhp} y el número de fragmentos flexibles N_f

Se sabe que el ligando PF-07321332 se une covalentemente en el sitio catalítico de M^{pro} ([Zhao et al., 2021](#)), estudios teóricos con ataque dirigidos sugieren que esto ocurre por un proceso de dos etapas. La primera consiste en la formación de un complejo no covalente en el mismo sitio y seguida de un acoplamiento electrofílico entre el grupo de tiol de una cisteína en el sitio catalítico y el grupo de nitrilo de la PF-07321332 una formación de un enlace de tio-inidazolium que da estabilidad al complejo covalente ([Macchiagodena et al. 2022](#)). Aunque la especie covalente unida es termodinámicamente menos estable que el complejo no covalente, este complejo covalente es la única especie detectada hasta ahora ([Zhao et al., 2021](#)). Este complejo covalente indica que el bloqueo del sitio catalítico es su principal acción perturbadora en la proteasa M^{pro} ([Carvallo y Hirsch, 2020](#), [Chalikian, 2016](#), [Chalikian, 2021](#), [Chalikian y Breslauer, 1996](#), [Chalikian y Filfil, 2003](#)). Sin embargo, en este estudio hemos encontrado a través del uso de ataque ciego que el PF-07321332 puede unirse más fuertemente a través de interacciones no covalentes en otra región distante en el monómero mM^{pro}, que a su vez es el mismo sitio donde el homólogo ivermectin B1a también se une. Un resultado interesante es que todos los métodos teóricos utilizados sugieren que esta unión es termodinámicamente más factible en ese sitio de una manera no covalente que el complejo covalente en la región catalítica (ver material suplementario - Tabla S1). No hay ningún informe que haya considerado el efecto de esto sobre las propiedades volumétricas y su posible efecto sobre la dimerización del monómero. Hemos encontrado desde un punto de vista termodinámico a través de estos resultados volumétricos que este complejo no covalente del PF-07321332 con el monómero puede afectar significativamente la reacción de dimerización, pero su comparación con el complejo covalente no es posible debido a la falta de datos.

Para superar esta dificultad, realizamos un estudio volumétrico comparativo entre el volumen Voronoi de complejo no covalente $V_{nhp}(nc)$ en el sitio de homólogo B1 de ivermectina y el complejo covalente encuadrado $V_{nhp}(c)$ en el sitio catalítico en el monómero. Curiosamente, se encontró que los volúmenes de Voronoi entre ambas especies son muy similares en todo el régimen dinámico evaluado hasta 100 ns. Para mayor claridad en [Fig. 10](#) el porcentaje de diferencia en el volumen de Voronoi $\Delta V\% = 100(V_{nhp}(nc) - V_{nhp}(c)) / V_{nhp}(nc)$ en cm³ / mol sugiere una diferencia entre -0,3% y +0,5%. Este resultado sugiere que ambas especies tienen el mismo comportamiento volumétrico y que, por lo tanto, deben inducir un efecto similar en el monómero también.

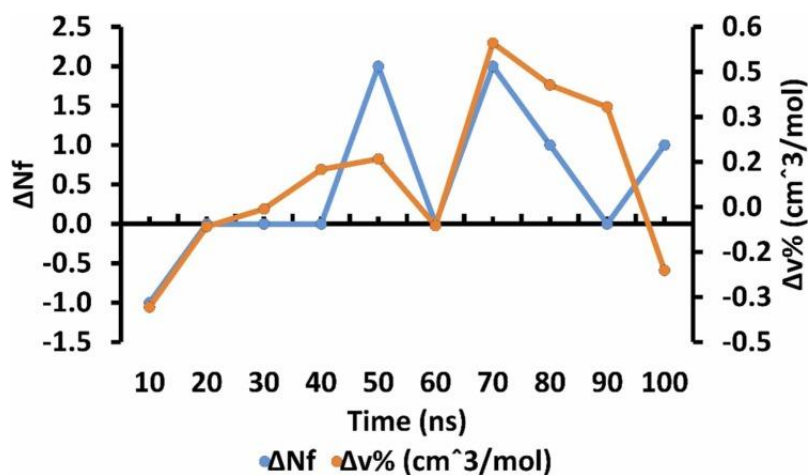


Fig. 10

Comparación entre la diferencia $\Delta Nf = N_{ncf} - N_{cf}$ número de fragmentos flexibles de complejo no covalente N_{ncf} y complejo covalente N_{cf} de PF-07321332 con mM^{pro} en el mismo sitio de B1a homologue de ivermectina y en el sitio catalítico de mM^{pro}, respectivamente, y la diferencia entre el porcentaje de cambio de volumen de Voronoi ($\Delta v\%$) de los complejos PF-07321332 (enclavamiento covalente) y PF-07321332 (unicación no covalente) con el mM^{pro}. Las predicciones corresponden a las estructuras de energía mínima en la simulación de 100 ns MD.

El comportamiento dinámico del número de fragmentos flexibles entre el complejo no covalente y complejo covalente también fue analizada y estimamos su diferencia en cada momento (t). A pesar de la diferencia en el modo de fijación y el sitio de unión en el [monómero](#), la flexibilidad estructural del monómero en cada complejo es igualmente pequeña ([Fig. 10](#)). De hecho, con excepción de los valores a 50 y 70 ns, los valores de se encuentran entre los 1, 0 y 1.

Se describe la región vinculante PF-07323 diferente de las evaluadas aquí (véase **material suplementario** - Cuadro S1). Es importante destacar que las interacciones de la PF-07321332 en el sitio vinculadas covalentemente con los residuos de aminoácidos coinciden muy bien con la reportada anteriormente ([Carvalho y Hirsch, 2020](#), [Chalikian, 2016](#), [Chalikian, 2021](#), [Chalikian y Breslauer, 1996](#), [Chalikian y Filfil, 2003](#)).

A pesar de las predicciones hechas en este estudio sobre un posible efecto teórico a nivel volumétrico de ivermectina similar al de PF-07321332 en M^{pro}, es importante señalar que la utilidad de la ivermectina en el tratamiento del COVID-19 es objeto de controversia ([Reardon, 2021](#)). Además, los datos del ensayo clínico aleatorizado de I-Tech no apoyan el uso de ivermectina para COVID-19 ([Lim et al., 2022](#)). Mientras que hay estudios que muestran la unión de ivermectina a M^{profesional}, la mayoría de ellos están *en* ensayos basados *en* acoplamiento o *in vitro* basados en la fluorescencia que son propensos a resultados falsos positivos (especialmente dado el tamaño de esta molécula de fármaco). Un estudio reciente también sugirió que esta droga no muestra ninguna actividad significativa en los modelos de células derivadas de la vía aérea humana ([Dinesh Kumar et al., 2021](#)).

Por otro lado, la controversia aumenta porque la ivermectina se ha incluido en ensayos clínicos que han mostrado resultados prometedores ([Carvalho y Hirsch, 2020](#)) ([https://ClinicalTrials.gov/termid/\"NCT04425863\"-NCT04425863](https://ClinicalTrials.gov/termid/\) - [ClinicalTrials.gov term-id/\"NCT04425863\"-NCT04425863](https://ClinicalTrials.gov/term-id/\)) y en revisiones colectivas de múltiples esfuerzos que han sugerido que la ivermectina puede tener un efecto profiláctico y sería un fuerte candidato para ensayos clínicos para tratar SARS-CoV-2 ([Low et al., 2022](#)), como también se observa en revisiones sistemáticas y metaanálisis de estudios de ensayos clínicos aleatorizados ([Hariyanto et al., 2022](#)). Además, se han proporcionado descripciones generales de los posibles mecanismos de acción sobre la base de estudios experimentales y computacionales que han sugerido un mecanismo multi-objetivo de ivermectina contra SARS-CoV-2 ([Tang and Dill, 1998](#), [Tang y Kaneko, 2020](#)). Los modelos fisiológicos incluso se han desarrollado recientemente para reproducir la infección SARS-CoV-2 usando suspensiones celulares directamente de los tejidos pulmonares humanos primarios (HLT) y han mostrado tanto prometedores ([Grau-Expósito et al., 2022](#)) como contradictorios ([Peralta-García et al., 2021](#)) resultados para la ivermectina. Este tipo de

inconsistencia en ensayos *in vitro* ha llevado incluso al estudio de varios tipos celulares a partir de datos experimentales para ofrecer modelos fisiológicos con una propensión reproducible a la infección, dependiendo de los niveles de expresión y tipo de receptores asociados con la infección SARS-CoV . 2, especialmente cuando se busca evaluar la actividad antiviral de los fármacos ([González-Paz et al., 2022](#)). Nuestro equipo está trabajando en esta dirección.

En este sentido, múltiples autores han sugerido estudios continuos de ivermectina y sus interacciones con los diversos objetivos del SARS-CoV-2 con el fin de utilizarlo como modelo para guiar los esfuerzos hacia el desarrollo de nuevos compuestos y estrategias de tratamiento ([Tang y Dill, 1998](#), [Tang y Kaneko, 2020](#), [Toleikis et al., 2016](#)) como ya se ha hecho ([Rabie, 2021](#)). De hecho, ivermectina está siendo investigada actualmente en el Reino Unido como parte del ensayo aleatorio de tratamientos en la Comunidad de Enfermedades Epidémicas y Pandémicas (PRINCIPLE), el mayor ensayo clínico mundial de posibles tratamientos COVID-19 para la recuperación en casa y en otros entornos no hospitalarios. Este ensayo cuenta con el apoyo de UKRI/DHSC (UK Research and Innovation (UKRI) - Departamento de Salud y Atención Social (DHSC) (<https://www.principletrial.org/>).

Es importante señalar que nuestro estudio no consideró la competencia entre ligandos, por lo que se recomienda realizar un estudio vinculante competitivo teniendo en cuenta la cinética inhibitoria de cada compuesto y evaluando el efecto de los mecanismos de asociación y disociación de cada ligando en los sitios de interés. Sin embargo, este estudio se centró en examinar los complejos formados por los fármacos una vez que se unieron de forma independiente contra la misma proteína diana, con el objetivo de una vez que se formaron los complejos, para poder evaluar por dinámica molecular la fuerza de la unión predicha por los atracamientos y también tomar estructuras de energía mínima cada 10 ns y a 100 ns para realizar un análisis de los cambios inducidos en las propiedades volumétricas e hidrodinámicas del M^{pro} utilizando diferentes modelos teóricos validados como HullRad ([Fleming y Fleming, 2018](#)) y 3vee.mol ([Voss y Gerstein, 2010](#)).

Específicamente, en el caso de la PF-07321332, el complejo se reprodujo como se informa en la literatura en la que se informa que su complejo con M^{pro} está mediado por un vínculo covalente y por lo tanto su unión es covalente en el sitio ([Zhao et al., 2021](#)), al mismo tiempo también se predijeron bonos no covalentes. Mientras que en el caso de la ivermectina, que es una mezcla de dos homólogos (80:20 mezclas avermectina B1a y avermectina B1b, que difieren en presencia de un secbutilo y un grupo isopropílico, en la posición C25, respectivamente), lo que se conoce en la literatura, incluyendo lo que se informó por nuestro trabajo, es que su unión establece sólo enlaces no covalentes en el M^{pro} ([Alvarado et al., 2015](#), [Filfil et al., 2004](#), [Uversky, 2020](#)).

En este sentido, nos centramos en seguir estudiando si PF-07321332 y los homólogos de ivermectina, una vez unidos a la proteína diana utilizando las mismas condiciones y grados de libertad en términos de ataque ciego, pueden inducir cambios volumétricos e hidrodinámicos en el monómero M^{pro} , con el fin de predecir el posible impacto en la homomerización debido al efecto de unión de cada uno de estos ligandos en sus respectivos sitios de unión. Esto es importante porque ya se han reportado múltiples estudios teóricos que predicen la interacción no-covalente de varios compuestos en regiones distintas del sitio activo de M^{pro} ([Vandyck y Deval, 2021](#), [Voloshin et al., 2015](#), [Voloshin et al., 2015](#), [Voss y Gerstein, 2010](#), [Whitten et al., 2005](#)).

En términos de ataque, el ataque reportado para el PF-07321332 podría ser reproducido, y se predijo un acoplamiento diferencial para los homólogos de ivermectina en $M^{profesional}$. Se encontró que el compuesto B1a y PF-07321332, aunque se unen de manera diferente en el mismo sitio, ambos inducen cambios en las propiedades volumétricas de una manera similar pero no idéntica. Mientras que el complejo formado por el monómero y el compuesto B1b, unido a un sitio diferente, llevó a cambios volumétricos e hidrodinámicos diferentes de los de B1a y PF-07321332. Estas observaciones son importantes porque en la literatura se sabe que el estudio volumétrico e hidrodinámico puede proporcionar información sobre posibles mecanismos de acción de diversos compuestos ([Uversky, 2020](#)).

De esta manera, impulsada por la controversia que existe en torno a la ivermectina, se buscó saber si al comparar los cambios volumétricos e hidrodinámicos inducidos por sus homólogos, las predicciones resultantes tenían alguna diferencia o similitud con respecto a los cambios previstos para el complejo formado por el PF-07321332, que es un fármaco autorizado y validado para el tratamiento del COVID-19 y se sabe que se une covalentemente y afectan a la homomerización ([Chalikian y Filfil, 2003](#), [Yonezawa,](#)

2013). Además, este trabajo proporciona el primer informe del efecto de la PF-07321332 en $M^{\text{profesional}}$ a nivel volumétrico e hidrodinámico.

La importancia de nuestras predicciones se basa en el hecho de que cuando se intenta un análisis termodinámico preciso de la fluctuación volumétrica para encontrar su relación con la compresibilidad de una proteína, el mayor número de estructuras posibles a lo largo del tiempo se utiliza generalmente sin discriminar entre las diferentes configuraciones energéticas. Sin embargo, decidimos considerar para la fluctuación volumétrica sólo la estructura de la energía mínima a cada grupo de configuraciones energéticas generadas cada 10 ns, para enfocarnos en un estudio con un enfoque comparativo cualitativo entre los complejos ligando-proteína.

En este sentido, una de las aportaciones de este estudio se encuentra en la sección correspondiente al estudio de la fluctuación volumétrica, en la que hemos propuesto un estudio cualitativo para observar el comportamiento volumétrico de los diferentes complejos, comparándolos con las predicciones del método red elástico. A pesar de haber considerado sólo 10 puntos para trabajar sólo con la tendencia representativa, observamos una clara relación entre la fluctuación de los fragmentos flexibles de las redes elásticas y la fluctuación volumétrica aplicando una compensación estadística en cada una de las mediciones.

Por lo tanto, para estudios futuros de la fluctuación volumétrica recomendamos tomar un mayor número de estructuras, para comparar la compensación estadística con la de los sistemas proteicos, un estudio en el que nuestro grupo está trabajando actualmente. Sobre todo porque parte del objetivo de esta investigación fue utilizar pocos puntos de estructuras energéticas mínimas para estudios hidrodinámicos y volumétricos, gracias al hecho de que pudimos determinar con pocas mediciones (sólo las de mínima energía) y con una aproximación empírica los valores reportados para estructuras proteicas diversas.

Aunque el abordaje previamente descrito no fue la parte central de este estudio y a pesar de ser un análisis cualitativo y empírico, la relación observada entre la fluctuación volumétrica con el número de fragmentos flexibles predicha por redes elásticas, y con la tendencia con respecto a la fluctuación térmica de los momentos de dipolo eléctrico superficial de la proteína es interesante.

Por otro lado, aunque el foco de este trabajo se basó en analizar la estructura mínima de energía en función de lo sugerido por los estudios estándar para fluctuaciones volumétricas, en los que sugiere la posibilidad de trabajar con simulaciones incluso por debajo de 100 ns ([Graziano, 2017](#), [Yuce et al., 2021](#), [Zhang et al., 2015](#)), sin embargo, se analizaron estructuras con energía mínima a 200 ns, y se observó una tendencia similar a la que se predijo previamente con diferencias en la hidrodinámica (R_g valores medios. (RMSD - 2.732 -) no muy significativo (ver).

Por último, al centrarnos en analizar el monómero como se ha hecho en otros estudios teóricos ([Liang et al., 2020](#)), con el fin de describir la perturbación que cada uno de estos ligandos podría inducir en el bloque principal de la proteasa principal (el monómero) del SARS-CoV-2, y cómo estas interacciones pueden causar perturbación volumétrica e hidrodinámica de la homodimerización, especialmente, ya que $M^{\text{profesional}}$ es conocido por depender de la homodimerización por su actividad biológica ([Choudhury et al., 2021](#), [Cooper, 1984](#)). Sin embargo, como el interés de varios esfuerzos es la inhibición de M^{pro} bloqueando o perturbando el sitio activo ([Liang et al., 2020](#)), recomendamos, realizar los análisis propuestos aquí en la forma dimerico de M^{pro} , ya que el bolsillo catalítico de un monómero se limita a la N-terminus de la unidad adyacente, como también se ha hecho ([Azam et al., 2021](#)).

[Ir a:](#)

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que la unión de Paxlovid (PF, PF-07321332) y la homologue B1a ocurren en el mismo sitio en el monómero, mientras que la unión del homologue B1b se produce en un sitio diferente en el mM^{pro} . Los resultados muestran que desde un punto de vista volumétrico, la unión no covalente de ivermectina B1a y Paxlovid a mM^{pro} se produce a través del mismo mecanismo, pero diferente del mecanismo involucrado en el homologue B1b. En detalle, la unión de los dos homólogos de ivermectina (B1a y B1b) y PF induce cambios en el volumen del monómero M^{M}

de manera diferente. El volumen cambia que ocurre en la formación de los ^{pro} complejos mM pro-ivermectina y mM ^{pro} -PF tienen valores negativos independientemente del ligando. Sin embargo, en el caso del ^{pro} complejo mM pro-B1b, está dominado en magnitud por el cambio volumétrico en el volumen de interacción. En cambio, en el caso del ^{pro} complejo mM ^{pro} -B1a y mM pro-PF, ΔV_{pt} también es negativa, pero está dominado por la contribución volumétrica porque el volumen de las cavidades internas ($\Delta V_v < 0$).

La correlación entre los valores obtenidos de δh_{ppw} , $\delta \mu_{ry}$ y V_{int} sugiere que la fluctuación térmica del momento dipolo en la superficie proteica tiene una relación importante con la atractiva interacción de componentes volumétricos, la hidratación de proteínas y con la tensión interfacial. Estos resultados pueden ser interpretados usando el modelo adhesivo-cohesivo de compresibilidad proteica propuesto por Dadarlat-Post (Dadarlat y Post, 2001). Estas propiedades están relacionadas en su comportamiento con la tendencia observada por la fluctuación del volumen parcial de la proteína, debido al papel del agua en las propiedades de la proteína.

Desde el punto de vista hidrodinámico, la unión no covalente del fármaco PF induce la deshidratación de mM ^{pro} como ocurre con ivermectin B1a, mientras que la ivermectina B1b induce hidratación del monómero M ^{pro}. El complejo mM ^{pro} -B1b está más hidratado que los ^{pro} complejos mM ^{pro}, mM pro-PF y mM pro-B1a, a diferencia del complejo mM ^{pro} -B1a, que está menos hidratado de todas las proteínas.

Los valores obtenidos de las fluctuaciones de la raíz cuadrada del volumen intrínseco $(\delta V_{2I})^{1/2}$ mejora la siguiente tendencia mM ^{pro} -B1b - mM ^{pro} -B1a - mM ^{pro}. mM ^{pro} -PF. Esta tendencia indica que la unión de los homólogos de ivermectina promueve cambios conformacionales de la estructura de los complejos mM ^{en} comparación con el mM ^{pro} nativos, mientras que el complejo mM ^{pro} -PF es el menos dinámico de todas las proteínas. La similitud de esta tendencia obtenida analizando la fluctuación $(\delta N_{2f})^{1/2}$ del número de fragmentos flexibles (N_f) utilizando el método de redes elásticas anisotrópicas y gaussianas (ANM y GNM), corrobora la relación entre la dinámica estructural y la flexibilidad de los fragmentos de proteínas y también demuestra que la ivermectina y la PF afectan tanto la dinámica estructural como la flexibilidad estructural de mM ^{pro}.

Los resultados volumétricos apoyan nuestras observaciones previas desde un punto de vista de perturbación termodinámica y estructural utilizando diversas herramientas computacionales basadas en la dinámica molecular que cada homólogo se une en diferentes sitios y interrumpe la conformación global de manera diferente. Además, el presente estudio apoya los informes experimentales y teóricos que previamente sugieren que PF y B1a perturban la estructura de mM ^{pro} en un mecanismo similar entre sí pero por un mecanismo diferente a B1b.

Que sepamos, no hay reportes en la literatura en los que los modelos volumétricos e hidrodinámicos junto con el Modelo de Red Elástica Anisotrópica y Gaussiana (ANM-GNM) se utilicen para proporcionar más información sobre la perturbación inducida por la ivermectina y el nuevo fármaco PF-07321332 sobre el monómero M ^M y el posible impacto en su acción biológica. Los datos obtenidos sugieren que las homologaciones de ivermectina, ivermectina B1a y PF en particular (que se unen en el mismo sitio en el monómero), deben afectar las reacciones bioquímicas pertinentes que involucran al monómero, ya que se producen cambios volumétricamente importantes en la conformación espacial, hidratación, flexibilidad y dinámica estructural de esta biomolécula (^{mpro}) de relevancia para la infección por virus.

Bajo esta misma estrategia de estudio, se encontró que la PF-07321332 también puede unirse covalentemente a otra región del monómero (un medicamento multi-sitio para M ^{pro}), pero ambos complejos tienen una flexibilidad estructural similar y propiedades volumétricas. Finalmente, consideramos que este tipo de estudio puede ayudar a entender el mecanismo por el cual un ligando puede bloquear la homodimerización de este importante monómero para formar la dimérica proteasa dM ^{pro} y a su vez ayudar en estudios de relaciones de actividad-estructura para el diseño de nuevos fármacos.

[Ir a:](#)

Fuentes de financiación

Esta investigación no recibió ninguna subvención específica de las agencias de financiación del sector público, comercial o sin fines de lucro.

[Ir a:](#)

Declaración de contribución de autoría de CRediT

Ysaías J. Alvarado: Conceptualización, Metodología, Investigación, Redacción y revisión. **Yosmari Olivarez:** Investigación. **Carla Lossada:** Investigación. **Eddy Vera:** Investigación. **Alejandro Vivas:** Investigación. **María Hurtado:** Investigación. **Joan Vera-Villalobos:** Revisando. **JLPaz:** Redacción y revisión y edición, Redacción y preparación de borradores. **Marcos Loroño:** Escrito de opinión y edición. **F.J. Torres:** Redacción y edición. **Laura N. Jeffeys:** Redacción y revisión y edición, Redacción y preparación de borrador original, Investigación. **Lenin González-Paz:** Redacción y edición, Conceptualización, Metodología, Investigación.

[Ir a:](#)

Declaración de Intereses Compete

Los autores declaran que no tienen conocidos intereses financieros o relaciones personales que pudieran haber parecido influir en el trabajo reporte en este trabajo.

[Ir a:](#)

Referencias

1. Adhikari A., Park W.W., Kwon O.H. Dinámica de bonos de hidrógeno y energía de agua biológica. *Chempluschem*. 2020; 85(12):2657-2665. doi: 10.1002/cplu.202000744. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Aggarwal L., Biswas P. El volumen de interacción es una medida de la propensión agregación de amistoso-- β . *El físico. Chem. - Deja*. 2020; 11(10):3993-4000. doi: 10.1021/acs.jpcl.0c00922. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Aghdam R., Habibi M., Taheri G. Utilizando características informativas en el método de aprendizaje automático para la recompra de medicamentos COVID-19. *J. Chemin*. 2021; 13 doi: 10.1186/s13321-021-00553-9. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Agrawal P., Singh H., Srivastava H., Singh S., Kishore G., Raghava G. Benchmarking de diferentes métodos de acoplamiento molecular para el ataque de péptidos de proteínas. *BMC Bioinform*. 2019; 19(13):105-124. doi: 10.1186/s12859-018-2449-y. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Ahmad B., Batoool M., Ain Q.U., Kim M.S., Choi S. Explorando el mecanismo de unión del inhibidor de la proteasa SARS-CoV-2 PF-073232 a través de la dinámica molecular y la unión de simulaciones de energía libre. *Int. J. Mol. Sci*. 2021; 22 :9124-9137. doi: 10.3390/ijms22179124. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Al Houry C., Bashir Z., Tokajian S., Nemer N., Merhi G., Nemer G. En silico evidencia de actividad antiviral de beauvericina contra SARS-CoV-2. *Comput. Biol. - Med*. 2022; 141 doi: 10.1016/j.combiomed.2021.105171. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Alvarado Y.J., Ballestas-Barrientos A., Restrepo J., Vera-Villalobos J., Ferrer-Amado G., Rodríguez-Lugo P., Ferrebuz A., Infante M., Cubillán N. Propiedades relacionadas con el volumen de tiofeno y furan-2-carboxaldehede derivados de fenilhidrazona en DMSO: una discusión sobre la contribución no intrínseca. *J. Chem. Thermodyn*. 2015; 8585:210-215. doi: 10.1016/j.jct.2015.01.016. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
8. Alvarado Y.J., Ferrebuz A., Paz J.L., Rodríguez-Lugo P., Restrepo J., Romero F., Fernández-Acuña J., Williams Y., Toro-Mendoza J. Comportamiento superficial de los sistemas BSA/agua/carbohidratos de las mediciones de polarizabilidad molecular. *J. El físico. Chem. B*. 2018; 122; 122(15):4238. doi: 10.1021/acs.jpcc.7b11998. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Alvarado Y.J., Rodríguez-Lugo P., Vera-Villalobos J., Ferrer-Amado G., Ferrebuz A., Restrepo J., Romero F. Contribución no intrínseca al limitado volumen molar parcial de proteínas

- globulares en el agua: un estudio comparativo entre una nueva estrategia refractométrica y el abordaje clásico densitométrico. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 2015; 5(1):916-925 [[Google Scholar](#)]
10. Alvarado Y.J., Vera-Parra E., Méndez A., Romero F., González-Paz L.A., Moncayo L.S., Restrepo J., Rodríguez-Lugo P., Paz J.L., Vera-Villalobos J. Cambio de conformidad de la ovalbúmina inducida por la unión de cavidad superficial de N-phthaloyl gamma-aminobutírico derivado de ácido gamma-aminobutírico: un estudio teórico y experimental. *Bioint. Res. Appl. Chem.* 2021; 11(2):9566-9586. doi: 10.33263/briac112.95669586. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 11. Antonopoulou I., Sapountzaki E., Rova U., Christakopoulos P. Inhibición de la proteasa principal de SARS-CoV-2 (Mpro) mediante la recomposición/diseñación de sustancias similares a las drogas y la utilización de la caja de herramientas de naturaleza de compuestos bioactivos. *Comput. - Struct. Biotechnol. J.* 2022 doi: 10.1016/j.csbj.2022.03.009. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 12. Awoonor-Williams E., Abu-Saleh A. Cálculos de energía libre de unión covalentes y no covalentes para inhibidores peptidomiméticos de la proteasa principal SARS-CoV-2. *El físico. Chem. Chem.* 2021; 23(11):6746-6757. doi: 10.1039/D1CP00266J. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 13. Azam F., Eid E., Almutairi A. Dirigiendo la combinación de la combinación de la combinación principal SARS-CoV-2 por teicoplanina: una visión mecanicista de acoplamiento, MM/GBSA y simulación de dinámica molecular. *J. Mol. - Struct.* 2021; 1246 doi: 10.1016/j.molstruc.2021.131124. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 14. Azam F., Taban I.M., Eid E.E.M., Iqbal M., Alam O., Khan S., Mahmood D., Anwar M.J., Khalilullah H., Khan M.U. Análisis *in-silico* de la interacción ivermectina con posibles objetivos SARS-CoV-2 y el huésped nuclear importin . *J. Biomol. - Struct. - Dyn.* 2020:1-14. doi: 10.1080/07391102.2020.201841028. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 15. Ball P. El agua es una matriz activa de la vida para la biología celular y molecular. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2017; 114(51):13327-13335. doi: 10.1073/pnas.1703781114. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 16. Barletta G.P., Fernández-Alberti S. Las fluctuaciones de proteínas y la cavidad cambian de relación. *J. Chem. Teoría Comput.* 2018; 14(2):998-1008. doi: 10.1021/acs.jctc.7b00744. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 17. Barletta G.P., Franchini G., Corsico B., Fernández-Alberti S. Ácido graso y proteína de unión retinol: cambios inusuales de conformación y cavidad de proteínas dictados por fluctuaciones de ligando. *J. Chem. Inf. Model.* 2019; 59(8):3545-3555. doi: 10.1021/acs.jcim.9b00364. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 18. Blake L., Soliman M. Identificación de inhibidores irreversibles de empalme de proteínas como posibles fármacos anti-TB: perspicacia de la detección virtual de acoplamiento híbrido no covalente/covalente y simulaciones de dinámica molecular. - *Med. Chem. Res.* 2014; 23(5):2312-2323. doi: 10.1007/s00044-013-0822-y. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 19. Brovchenko I., Andrews M.N., Oleinikova A. Propiedades volumétricas del polipéptido amiloide de islote humano en agua líquida. *El físico. Chem. Chem. El físico.* 2010; 12 :4233-4238. doi: 10.1039/B918706E. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 20. Carvallo H., Hirsch R. Ivermectina, aspirina, dexametasona y enoxaparina como tratamiento para el COVID 19. *J. - Sí. - Med. Assoc.* 2020:200. [[Google Scholar](#)]
 21. Chalikian T.V. Contribución de volumen excluida a la modulación mediada por la resolución de las reacciones doloas y encuadernación macromoleculares. *Biofófitas. Chem.* 2016; 209209:1-8 doi: 10.1016/j.bpc.2015.11.001. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 22. Chalikian T.V. La liberación de agua de hidratación viene con una contribución energética de Gibbs? *J. Chem. Thermodyn.* 2021; 158 doi: 10.1016/j.jct.2021.106409. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 23. Chalikian T.V., Breslauer K.J. Cambios de volumen que acompañan a transiciones conformativas de biopolímeros. *Biopolímeros.* 1996; 39(5):619-626. doi: 10.1002/(SICI)1097-0282(199611)39:5:619::AID-BIP1-3,0.CO;2-Z. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 24. Chalikian T.V., Filfil R. Qué tan grandes son los cambios de volumen que acompañan las transiciones de proteínas y la unión? *Biofófitas. Chem.* 2003; 104104:489-499. doi: 10.1016/s0301-4622(03)00037-1. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
 25. Chalikian T.V., Macgregor R.B., Jr. Sobre la descomposición empírica de los datos volumétricos. *Biofófitas. Chem.* 2019; 246246:8-15. doi: 10.1016/j.bpc.2018.12.005. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

26. Chalikian T.V., Totrov M., Abagyan R., Breslauer K.J. La hidratación de proteínas globulares derivadas de mediciones de volumen y compresibilidad, cruzando datos termodinámicos y estructurales. *J. Mol. Biol.* 1996; 260260:: 588-603. doi: 10.1006/jmbi.1996.0423. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
27. Chen P., Hub J. Validar conjuntos de soluciones a partir de la simulación de la dinámica molecular mediante datos de dispersión de rayos X de gran angular. *Biofófitas. J.* 2014; 107(2):435-447. doi: 10.1016/j.bpj.2014.06.006. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
28. Chhetri A., Chettri S., Rai P., Sinha B., Brahman D. Exploración de la acción inhibitoria de derivados de Azo imidazol contra la proteasa principal COVID-19 (M^{pro}): un estudio computacional. *J. Mol. - Struct.* 2021; 1224 doi: 10.1016/j.molstruc.2020.129178. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Choudhury A., Das N.C., Patra R., Bhattacharya M., Ghosh P., Patra B.C., Mukherjee S. Explorando la eficacia de unión de la ivermectina contra las proteínas clave de la patogénesis SARS-CoV-2: y en el enfoque *silico*. *Futuro Virol.* 2021; 16(4):277-291. doi: 10.2217/fvl-2020-0342. [[CrossRef](#)]
30. Cooper A. Las fluctuaciones de proteínas y el principio de incertidumbre termodinámica. - *Prog. Biofófitas. Mol. Biol.* 1984; 44(3):181-214. doi: 10.1016/0079-6107(84)90008-7. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Dadarlat V.M., Post C.B. Líquidas en la compresibilidad de proteínas a partir de simulaciones de dinámica molecular. *J. El físico. Chem. B.* 2001; 105105::715-774, doi: 10.1021/jp0024118. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
32. Delandre O., Gendrot M., Jardot P., Le Bideau M., Boxberger M., Boschi C., Pradines B. Actividad antiviral de reposicionamiento de ivermectina contra un panel de 30 cepas clínicas SARS-CoV-2 pertenecientes a 14 variantes. *Farmacéuticos.* 2022; 15(4):445. doi: 10.3390/ph15040445. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
33. Delre P., Caporuscio F., Saviano M., Mangiatori G. Repurposing medicamentos conocidos como inhibidores covalentes y no covalentes de la proteasa similar a la papaína SARS-CoV-2. *Frente. Chem.* 2020; 88:1032. doi: 10.3389/fchem.2020.594009. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Dinesh Kumar N., Ter Ellen B., Bouma E., Troost B., van de Pol D., van der Ende-Metselaar H., Smit J. Moxidectina e ivermectina inhibe la replicación SARS-CoV-2 en las células de Vero E6, pero no en las células de epitelio de las vías respiratorias primarias humanas. *Antimicb. Agentes Chemother.* 2021 doi: 10.1128/AAC.01543-21. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
35. Durojaye O., Mushiana T., Uzoeto H., Cosmas S., Udowo V., Osotuyi A., Gonlepa M. Posible identificación terapéutica de diana en el novedoso coronavirus 2019: información del modelado homologado y estudio de ataque ciego. *Egipto. J. - Med. Hum. Genet.* 2020; 21(1):1-1-17. doi: 10.1186/s43042-020-00081-5. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
36. Emekli U., Schneidman-Duhovny D., Wolfson H.J., Nussinov R., Haliloglu T. Hinge Prot: predicción automatizada de bisagras en estructuras de proteínas. *Proteínas Struct. . Bioinf.* 2008; 7(4):1219-1227. doi: 10.1002/prot.21613. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
37. Ferraz W., Gomes R., Novaes A., Goulart Trossini G. El análisis virtual basado en el ligando y la estructura se aplicó a la proteasa principal SARS-CoV-2: un estudio de recomposición en *silico*. *Futuro Med. Chem.* 2020; 1212:20:1815-1828. doi: 10.4155/fmc-2020-0165. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
38. Filfil R., Ratavosi A., Chalikian T.V. Encuadernación de inhibir inhibidor de la tripsina pancreática bovina a tripsperogen: estudios espectroscópicos y volumétricos. *Bioquímica.* 2004; 4343:1315o1322. doi: 10.1021/b030188. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Fleming P.J., Fleming K.G. HullRad: cálculos rápidos de las propiedades hidrámicas de proteínas y desordenadas y desordenadas. *Biofófitas. J.* 2018; 114 :856-869 doi: 10.1016/j.bpj.2018.01.002. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
40. Fornés J.A. Fluctuaciones eléctricas en las superficies de proteínas de datos hidrodinámicos. *J. Interfaz coloides Sci.* 2008; 323 :255o259. doi: 10.1016/j.jcis.2008.04.036. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
41. Gautam V., Chong W., Chin S., Zain S., Rahman N., Vao-soongnern V., Lee V. Dinámica de bucle detrás de la afinidad de DARPin hacia ERK2: Simulaciones de dinámica molecular (MD) y modelo de red elástica (ENM) *J. Mol. Liq.* 2019; :612-620. doi: 10.1016/j.molliq.2018.10.157. [[CrossRef](#)]

42. Gekko K., Hasegawa Y. Relación compresibilidad-estructura de proteínas globulares. *Bioquímica*. 1986; 25(21):6563-6571. doi: 10.1021/bi00369a034. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
43. González-Paz L., Alvarado M., Hurtado-León M., Lossada C., Vera-Villalobos J., Loroño M., Alvarado Y. Estudio comparativo de la infección por SARS-CoV-2 en diferentes tipos celulares: Enfoque biofísico-computacional del papel de los receptores potenciales. *Comput. Biol. - Med.* 2022 doi: 10.1016/j.compbiomed.2022.105245. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
44. González-Paz L., Hurtado-León M.L., Lossada C., Fernández-Materán F.V., Vera-Villalobos J., Loroño M., Paz J.L., Jeffreys L., Alvarado Y.J. Estudio comparativo de la interacción de la ivermectina con proteínas de interés asociadas con SARS-CoV-2: un abordaje computacional y biofísico. *Biofófitas*. *Chem.* 2021; 278 doi: 10.1016/j.bpc.2021.106677. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
45. González-Paz L., Hurtado-León M.L., Lossada C., Fernández-Materán F.V., Vera-Villalobos J., Loroño M., Paz J.L., Jeffreys L., Alvarado Y.J. Deformabilidad estructural inducida en proteínas de interés potencial asociadas con COVID-19 por unión de homólogos presentes en ivermectina: Estudio comparativo basado en modelos de redes elásticas. *J. Mol. Liq.* 2021; 340 doi: 10.1016/j.molliq.2021.117284. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
46. González-Paz L.A., Lossada C.A., Fernández-Materán F.V., Paz J.L., Vera-Villalobos J., Alvarado Y.J. Pueden los antiinflamatorios no esteroideos afectar la interacción entre el dominio de unión de los receptores de pico SARS-COV-2 y el receptor ACE2 humano? Estudio biofísico computacional. *Frente. El físico.* 2020; 88:526. doi: 10.3389/fphy.2020.587606. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
47. González-Paz L., Lossada C., Moncayo L., Romero F., Paz J., Vera-Villalobos J., Alvarado Y. Estudio bioinformático de perturbación estructural de 3CL-proteína y el dominio HR2-domain de SARS-CoV-2 inducido por la interacción sinérgica con ivermectinas. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 2021; 11((2):9813-9826. doi: 10.33263/BRIAC112.98139826. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Goyal B., Goyal D. Distinción de la dimerización de la proteasa principal de los coronavirus: Una estrategia terapéutica potencial de amplio espectro. *Comb ACS Comb. Sci.* 2020; 22((6):297-305. doi: 10.1021/acscombsci.0c00058. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
49. Grahl M., Alcará A., Perin A., Moro C., Pinto, Feltes B., Ligabue-Braun R. Evaluación del repositorio de medicamentos mediante acoplamiento molecular de recursos farmacéuticos disponibles en el sistema de salud brasileño contra SARS-CoV-2. *Infómule. - Med. Desbloqueo.* 2021; 23 doi: 10.1016/j.imu.2021.100539. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
50. Grau-Expósito J., et al. Evaluación de la entrada SARS-CoV-2, inflamación y nuevas terapias en células de tejido pulmonar humano. *PLoS Pathog.* 2022; 18(1) doi: 10.1371/journal.ppat.1010171. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
51. Graziano G. Contribución no intrínseca al volumen molar parcial de cavidades en el agua. *Chem. El físico. - Deja.* 2006; 429 :420-444 doi: 10.1016/j.cplett.2006.08.065. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
52. Graziano G. Volumen molar parcial de n-alcoholes en dilución infinita en agua calculada por medio de la teoría de partículas escalada. *J. Chem. El físico.* 2006; 124 doi: 10.1063/1.2186319. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
53. Graziano G. Dependencia de la temperatura de la asociación pareja de esferas duras en el agua. *J. El físico. Soc. Jpn.* 2016; 85 doi: 10.7566/JPSJ.85.024801. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
54. Graziano G. Energética de la configuración mínima de contacto de dos esferas duras en el agua. *Chem. El físico. - Deja.* 2017; 685 :54-59. doi: 10.1016/j.cplett.2017.07.030. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
55. Graziano G. Sobre la magnitud del grosor de borde en el volumen molar parcial de cavidades en el agua. *Chem. El físico. - Deja.* 2013; 570 :46-49. doi: 10.1016/j.cplett.2013.03.052. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
56. Guedes I.A., Costa L.S.C., dos Santos K.B., Karl A.L.M., Rocha G.K., Teixeira I.M., Galheigo M.M., Medeiros V., Krempser E., Custódio F.L., Barbosa H.J.C., Nicolás M.F., Dardenne L.E. Diseño de medicamentos y recomponer con el servidor web DockThor-VS enfocado en objetivos terapéuticos SARS-CoV-2 y sus variantes no-synonym. *Sci. Rep.* 2021; 11(1):5543. doi: 10.1038/s41598-021-84700-0. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
57. Gupta S., Jadaun A., Kumar H., Raj U., Varadwaj P., Rao A. Exploración de nuevos inhibidores similares a los medicamentos para fosfatasa de serina/treonina phosphatasasa 5 de Plasmodium

- falci-parum: un estudio de atraque y simulación. *J. Biomol. - Struct. - Dyn.* 2015; 33(11):2421-2441. doi: 10.1080/07391102.2015.1051114. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
58. Hariyanto T., Halim D., Rosalind J., Gunawan C., Kurniawan A. Ivermectina y los resultados de la neumonía de Covid19: una revisión sistemática y metaanálisis de estudios de ensayos clínicos aleatorizados. *Rev. - Med. Virol.* 2022; 32(2) doi: 10.1002/rmv.2265. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
59. Jeffreys L., Pennington S., Duggan J., Caygill C., Lopeman R., Breen A., Biagini G. La combinación Remdesivir-ivermectina muestra la interacción sinérgico con una actividad in vitro mejorada contra SARS-CoV-2. *Int. J. Antimicrob. Agentes.* 2022 doi: 10.1016/j.ijantimicag.2022.106542. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
60. Jiang Y., Kirmizialtin S., Sanchez I.C. Distribución dinámica del vacío en mioglobina y cinco mutantes. *Sci. Rep.* 2014; 44:4011. doi: 10.1038/srep04011. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
61. Jofily P., Pascutti P., Torres P. Mejorar el acoplamiento a ciegas en DOCK6 a través de una estrategia de sondeo de fragmentos preliminares automatizado. - *Moléculas.* 2021; 26(5):1224. doi: 10.3390/moléculas26051224. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
62. Kamerzell T.J., Middaugh C.R. Las complejas interrelaciones entre la flexibilidad y la estabilidad de las proteínas. *J. Pharm. Sci.* 2008; 97(9(9):3494-3517. doi: 10.1002/jps.21269. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
63. Kapoor S., Winter R. En: *Ciencia molecular de las fluctuaciones hacia las funciones biológicas.* Terazima M., Kataoka M., Ueoka R., Okamoto Y., editores. Springer; Tokio: 2016. Disturbios a presión: Una herramienta principal para estudiar subestados conformacionales y fluctuaciones de volumen de los ensamblajes biomoleculares; pp. 29-64. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
64. Kasahara K., Terazawa H., Itaya H., Goto S., Nakamura H., Takahashi T., Higo J. myPresto/omegagene 2020: un motor de simulación de dinámica molecular para el muestreo acoplado a un sistema virtual. *Biofómas. El físico.* 2020; 1717:140-146. doi: 10.2142/biophysico.BSJ-2020013. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
65. Kaur A., Kaur K., Banipal P.K., Banipal T.S. Investigaciones sobre la unión dependiente del pH de valproato de sodio con albúmina sérica bovina: un abordaje calorífico, espectroscópico y volumétrico. *J. Chem. Thermodyn.* 2021; 152 doi: 10.1016/j.jct.2020.106269. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
66. Kaur A., Sharma S., Banipal P.K., Banipal T.S. Probando la capacidad de unión de la vitamina B₁ con albúmina sérica bovina: estudios caloríficos, de dispersión de luz, espectroscópicos y volumétricos. *J. Chem. Thermodyn.* 2018; 127127:59-7. doi: 10.1016/j.jct.2018.07.009. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
67. Kharakoz D.P. Los volúmenes molar parciales de moléculas de forma arbitraria y el efecto de la unión de hidrógeno con el agua. *J. Solut. Chem.* 1992; 21((6):595. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
68. Kharakoz D.P., Sarvazyan A.P. Compresión hidratante e intrínseca de proteínas globulares. *Biopolímeros.* 1993; 3333:11-26 doi: 10.1002/bip.360330103. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
69. Khoury L., Jing Z., Cuzzolin A., Deplano A., Loco D., Sattarov B., Sabbadin D. Descubrimiento confabulado computacionalmente de inhibidores profesionales de SARS-CoV-2 M: desde el diseño hasta la validación experimental. *Chem. Sci.* 2022 doi: 10.48550/arXiv.2110.05427. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
70. Kneller D., Li H., Phillips G., Weiss K., Zhang Q., Arnould M., Kovalevsky A. Inhibidores híbridos covalentes narprevir-derivados de SARS-CoV-2 proteasa principal: radiografía de temperatura ambiente y cristalografía de neutrones, termodinámica de unión y actividad antiviral. *Res. Sq.* 2022 doi: 10.21203/rs.3.rs-1318037/v1. rs-3. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
71. Knight C., Hub J. WAXSiS: un servidor web para el cálculo de curvas SAXS/WAXS en función de la dinámica molecular explícita-solvente. *Ácidos Nucleicos Res.* 2015; 43(W1):W225-W230. doi: 10.1093/nar/gkv309. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
72. Koulgi S., Jani V., Uppuladinne M., Sonavane U., Nath A.K., Darbari H., Joshi R. Estudios de recomposición de medicamentos dirigidos al SARS-CoV-2: un enfoque de acoplamiento en la droga apunta a la proteasa 3C similar a ^{3CL}J. *Biomol. - Struct. - Dyn.* 2021; 39 :5735-5755. doi: 10.1080/07391102.2020.2020.1792344. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
73. Laage D., Elsaesser T., Hynes J.T. Dinámica de agua en las conchas de hidratación de biomoléculas. *Chem. Rev.* 2017; 117(16):10694-10725. doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00765. [[PMC libre artículo](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

74. Lee B. Volumen molar parcial del modelo de mezcla de lasfera dura. *J. El físico. Chem.* 1983; 8787:112-118. doi: 10.1021/j100224ama026. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
75. Lee B. Cálculos de fluctuaciones para modelos globulares. *Proc. Natl. Acad. Sci. UU.* 1983; 8080:622-626. doi: 10.1073/pnas.80.2.622. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
76. Liang J., Karagiannis C., Pitsillou E., Darmawan K., Ng K., Hung A., Karagiannis T. Mapeo del sitio y pequeño acoplamiento de moléculas pequeñas revelan un posible sitio de destino en la interfaz dimer de la dimer SARS-CoV-2. *Comput. Biol. Chem.* 2020; 89 doi: 10.1016/j.compbiolchem.2020.107372. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
77. Lim S., Hor C., Tay K., Jelani A., Tan W., Ker H., Ravi T. Eficacia del tratamiento con ivermectina en la progresión de la enfermedad entre adultos con COVID-19 de leve a moderado y comorbilidades: el ensayo clínico aleatorizado I-TECH. *JAMA Intern. - Med.* 2022 doi: 10.1001/jamainternmed.2022.0189. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
78. Lindow N., Baum D., Bondar A.N., Hege H.C. Explorando la dinámica de la cavidad en sistemas biomoleculares. *BMC Bioinform.* 2013; 14 doi: 10.1186/1471-2105-14-S19-S5. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
79. Lockbaum G., Reyes A., Lee J., et al. Estructura de cristal de la proteasa principal SARS-CoV-2 en complejo con el inhibidor no covalente ML188. *Virus.* 2021; 13(2):174. doi: 10.3390/v13020174. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
80. Baja Z., Yip A., Lal S. Reposicionamiento de Ivermectina para el tratamiento de Covid-19: Mecanismos de acción moleculares contra la replicación SARS-CoV-2. *Biochim. Et Biophys. Acta (BBA)-Mol. Basis Dis.* 2022; 1868(2) doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166294. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
81. Luong T.Q., Kapoor S., Winter R. Presiona gateway a la visión fundamental de la resolución de proteínas, la dinámica y la función. *Chemphyschem.* 2015; 16 :3555-3571. doi: 10.1002/cphc.201500669. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
82. Macchiagodena M., Pagliai M., Procacci P. Caracterización de la interacción no covalente entre el inhibidor PF-07321332 y la proteasa principal SARS-CoV-2. *J. Mol. Gráfico. Modelo.* 2022; 110 doi: 10.1016/j.jmglm.2021.108042. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
83. Madhavi W., Weerasinghe S., Momot K. Dinámica reorientacional de moléculas en metano líquido: estudio de simulación de la dinámica molecular. *J. Mol. Liq.* 2021; 324 doi: 10.1016/j.molliq.2020.114727. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
84. Mahdian S., Zarrabi M., Panahi Y., Dabbagh S. Repurar medicamentos aprobados por la FDA para combatir el uso de COVID-19 en métodos silico: segmentando la enzima SARS-CoV-2 RdRp y los receptores de células huéscimas (ACE2, CD147) a través de simulaciones virtuales de cribado y dinámica molecular. *Infómule. - Med. Desbloqueado.* 2021; 23 doi: 10.1016/j.imu.2021.100541. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
85. Marchi M. Compresión de cavidades y agua biológica de los volúmenes de Voronoi en proteínas hidratadas. *J. El físico. Chem. B.* 2003; 107107::6598-6602. doi: 10.1021/jp0342935. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
86. Mejía-Tamayo V., Nigen M., Apolinar-Valiente R., Doco T., Williams P., Renard D., Sanchez C. Flexibilidad e hidratación de arabinogalactana-proteína afílica de la planta exudado: Perspectiva volumétrica. *Interfaces de coloides.* 2018; 2(1) doi: 10.3390/colloids2010011. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
87. Monkos K. Un abordaje viscométrico del efecto pH sobre las propiedades hidrodinámicas de la albúmina sérica humana en la forma normal. - *Gen. Físical. Biofófimas.* 2013; 32 :67-78. doi: 10.4149/gpb-2013011. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
88. Monkos K. Sobre la hidrodinámica y la dependencia de la temperatura de la solución conformación de la albúmina sérica humana a partir del abordaje de la viscometría. *Biochim. Biofófimas. Acta.* 2004; 1700: 27-34. doi: 10.1016/j.bbapap.2004.03.006. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
89. Mori K., Seki Y., Yamada Y., Matsumoto H., Soda K. Evaluación de la compresibilidad intrínseca de proteínas mediante simulación de dinámica molecular. *J. Chem. El físico.* 2006; 125 doi: 10.1063/1.2219741. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
90. Morris G., Huey R., Lindstrom W., Sanner M., Belew R., Goodsell D., Olson A. AutoDock4 y AutoDockTools4: atraque automatizado con flexibilidad de receptores selectivos. *J. Comput. Chem.* 2009; 30(16):2785-2791. doi: 10.1002/jcc.21256. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

91. Osipiuk J., Azizi S., Dvorkin S., Endres M., Jedrzejczak R., Jones K., Joachimiak A. Estructura de la proteasa tipo papaína del SARS-CoV-2 y sus complejos con inhibidores no co-covalentes. *Nat. - Commun.* 2021; 12(1):1-9 doi: 10.1038/s41467-021-21060-3. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
92. O-Boyle N.M., Banck M., James C.A., Morley C., Vandermeersch T., Hutchinson G.R. Abrir babel: una caja de herramientas química abierta. *J. Chemin.* 2011; 3 doi: 10.1186/1758-2946-3-33. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
93. Panikar S., Shoba G., Arun M., Sahayarayan J.J., Nanthini A.U.R., Chinnathambi A., Alharbi S.A., Nasif O., Kim H.J. Aceites esenciales como una alternativa eficaz para el tratamiento de COVID-19: Análisis de la interacción molecular de proteasa (M^{pro}) con propiedades farmacocinéticas y toxicológicas. *J. Infectado. Publicado. Salud.* 2021; 14(5):601-610. doi: 10.1016/j.jiph.2020.12.037. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
94. Patel N., Dubins D.N., Pomús R., Chalikian T.V. Ataleciendo la dependencia del volumen de la cavidad: estudio de la dinámica molecular. *Biofófitas. Chem.* 2012; 161 :46-49. doi: 10.1016/j.bpc.2011.10.001. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
95. Patil V., Verma S., Masand N. Prospectiva modo de acción de Ivermectina: SARS-CoV-2. *Eur. J. - Med. Chem. Rep.* 2022; 4 doi: 10.1016/j.ejmcr.2021.100018. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
96. Paul A.B., Sapienza P.J., Zhang J., Zuo X., Petit C.M. Flucacciones de volumen del estado nativo en proteínas como mecanismo para la alosticio dinámico. *J. - Sí. Chem. Soc.* 2017; 139(10):3599-3602. doi: 10.1021/jacs.6b12058. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
97. Pavan M., Bolcato G., Bassani D., Sturlese M., Moro S. La dinámica molecular supervisada (SuMD) se percata del mecanismo de acción del inhibidor de la proteasa principal SARS-CoV-2 PF-07321332. *J. Enzym. Inhib. - Med. Chem.* 2021; 36(1):1646-1650. doi: 10.1080/14756366.2021.1954919. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
98. Peralta-García A., Torrens-Fontanals M., Stepniewski T., Grau-Expósito J., Perea D., Ayinampudi V., Selent J. Inhibir el inhibidor de Entrectinib-A SARS-CoV-2 en células del tejido pulmonar humano (HLT). *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (24):13592. doi: 10.3390/ijms222413592. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
99. Pereira B., Jain S., Garde S. Cuantificando la flexibilidad del núcleo de proteínas mediante el análisis de la formación de cavidades. *J. Chem. El físico.* 2006; 124 doi: 10.1063/1.2149848. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
100. Persson F., Halle B. Compresión de la interfaz proteico-agua. *J. Chem. El físico.* 2018; 148(21) doi: 10.1063/1.5026774. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
101. Petsek M., Kosinová P., Kosa J., Otyepka M. MOLE: un explorador de canales moleculares, poros y túneles basado en diagramas Voronoi. *Estructura.* 2007; 15(11):1357-1363. doi: 10.1016/j.str.2007.10.007. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
102. Pfeiffer H., Heremans K., Wevers M. La influencia de las fluctuaciones correlancadas del volumen de proteína-agua en la aparente compresibilidad de proteínas determinada por la velocimetría ultrasónica. *Biochim. Et Biophys. Acta.* 2008; 1784 :1546-1551. doi: 10.1016/j.bbapap.2008.08.002. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
103. Rabie A. Dos antioxidantes 2, 5-disubstituidos-1, 3, 4-oxadiazoles (CoViTris2020 y ChloViD2020): la recomposición exitosa contra COVID-19 como los primeros fármacos multiobjetivo multiobjetivo anti-SARS-CoV-2. *N. J. Chem.* 2021; 45(2):761-771. doi: 10.1039/DNj03708G. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
104. Reardon S. La preimpresión de ivermectina defectuosa destaca los retos de los estudios de medicamentos COVID. *Naturaleza.* 2021; 596(7871):173-174. doi: 10.1038/d41586-021-02081-w. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
105. Reid K.M., Yu X., Leitner D.M. Cambiar la entropía vibratoria con un cambio en el volumen de proteínas estimado con los parámetros del modo Gr-neisen. *J. Chem. El físico.* 2021; 154 doi: 10.1063/5.0039175. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
106. Remsing R.C., Xi E., Patel A.J. Termodinámica de hidratación de proteínas: La influencia de la flexibilidad y la sal en la hidratación de hidrofobina II. *J. El físico. Chem. B.* 2018; 122(13):3635-3646. doi: 10.1021/acs.jpcc.7b12060. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
107. Richards J.L. Viscosidad y las formas de las macromoléculas: un experimento de química física utilizando modelos de nivel molecular en la interpretación de datos macroscópicos obtenidos de simples mediciones. *J. Chem. - Métete.* 1993; 70(8):689. doi: 10.1021/ed070p685. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

108. Rother K., Preissner R., Goede A., Frommel C. Densidad molecular inofogénea: Densidades de embalaje de referencia y distribución de cavidades dentro de proteínas. *Bioinformática*. 2003; 19(16):2112-2121. doi: 10.1093/bioinformatics/btg292. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
109. Saikia N., Jha A., Deka R. Estudio de la dinámica molecular sobre la administración de fármaco de pirilonda mediada por grafeno en la proteína pncA. *RSC Adv*. 2014; 4(47):24944-24954. doi: 10.1039/C4RA01486C. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
110. Seyedi S., Matyushov D.V. Susceptibilidad dipolar de conchas de hidratación de proteínas. *Chem. El físico. - Deja*. 2018; 713 :210-214. doi: 10.1016/j.cplett.2018.10.045. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
111. Shek Y.L., Chalikian T.V. Interacciones de glicina betaína con proteínas: percepciones de volumen y mediciones de compresibilidad. *Bioquímica*. 2013; 52; 52:672-680. doi: 10.1021/bi301554h. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
112. Sirotkin V.A., Komissarov I.A., Khadiullina A.V. Hidratación de proteínas: exceso de volúmenes parciales de agua y proteínas. *J. El físico. Chem. B*. 2012; 116(13):4098-4105. doi: 10.1021/jp300726p. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
113. Hijo I., Chalikian T.V. Derivó voluminalmente perfil termodinámico de las interacciones de la urea con una proteína nativa. *Bioquímica*. 2016; 55(47):6475-6483. doi: 10.1021/acs.biochem.6b00805. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
114. Hijo I., Shek Y.L., Dubins D.N., Chalikian T.V. Caracterización volumétrica de la unión tri-N-acetilglucosamina a lisozima. *Bioquímica*. 2012; 5151:5784-5790. doi: 10.1021/bi3006994. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
115. Son I., Shek Y.L., Tikhomirova A., Baltasar E.H., Chalikian T.V. Interacciones de urea con proteínas nativas y desplegadas: un estudio volumétrico. *J. El físico. Chem. B*. 2014; 118118:13554-13563. doi: 10.1021/jp509356k. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
116. Stank A., Kokh D.B., Fuller J.C., Wade R.C. Dinámica de bolsillo de unión de proteínas. - *Acc. Chem. Res*. 2016; 49(5):809-815. doi: 10.1021/acs.cuentas.5b00516. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
117. Sulimov A., Kutov D., Taschilova A., Ilin I., Stolpovskaya N., Shikhaliev K., Sulimov V. En busca de inhibidores no covalentes de la proteasa principal SARS-CoV-2: diseño informático con ayuda de medicamentos mediante atraque y química cuántica. *Supercomputación. Frente. Innov*. 2020; 7(3) doi: 10.14529/jsfi200305. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
118. Surampudi L., Ashbaugh H. Evaluación directa de los volúmenes molares parciales de polipéptido en el agua mediante simulaciones de dinámica molecular. *J. Chem. Eng. Datos*. 2014; 59(10):3130-3135. doi: 10.1021/je5001999. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
119. Tang K.E.S., Dill K.A. fluctuaciones de proteínas nativas: La temperatura conformacional-moción y la correlación inversa de la flexibilidad proteica con la estabilidad de las proteínas. *J. Biomol. - Struct. - Dyn*. 1998; 16(2):397-411. doi: 10.1080/07391102.1998.10508256. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
120. Tang Q.Y., Kaneko K. Correlación de largo alcance en la dinámica de proteínas: confirmación por datos estructurales y análisis de modo normal. *Comput. Biol*. 2020; 16(2) doi: 10.1371/journal.pcbi.1007670. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
121. Tarus B., Chevalier C., Richard C., Delmas B., Di Primo C., Slama-Schwok A. Estudios de la dinámica molecular del nucleoproteína del virus de la gripe A: papel de la flexibilidad de proteínas en la unión al ARN. *PLoS One*. 2012; 7(1) doi: 10.1371/journal.pone.0030038. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
122. Tekpinar M., Yildirim A. Impacto de la dimerización y la unión N3 en la dinámica molecular de las proteasas principales SARS-CoV y SARS-CoV-2. *J. Biomol. - Struct. - Dyn*. 2021:1-12. doi: 10.1080/07391102.2021.1880481. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
123. Timasheff S.N. Interacciones preferenciales decoratinas-solventes, hidratación de proteínas y modulación de las reacciones bioquímicas por componentes solventes. *Proc. Natl. Acad. Sci. UU*. 2002; 99; 915:9721-26. doi: 10.1073/pnas.122225399. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
124. Toleikis Z., Sirotkin V.A., Skvarnaviius G., Smirnoviené J., Roumestand C., Matulis D., Petrauskas V. Volumen de Hsp90 protein-ligand binding determinado por el ensayo de cambio de presión fluorescente, la densitometría y la NMR. *J. El físico. Chem. B*. 2016; 120 :9903-9912. doi: 10.1021/acs.jpcc.6b06863. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
125. Unoh Y., Uehara S., Nakahara K., Nobori H., Yamatsu Y., Yamamoto S., Tachibana Y. Descubrimiento de S-217622, un SARS-CoV-2 3CL oral no covalente inhibidor de la proteasa candidato clínico para el tratamiento COVID-19. *J. - Med. Chem*. 2022 doi: 10.1021/acs.jmedchem.2c00117. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]

126. Uversky V. Proteínas desordenadas intrínsecas: objetivos para el futuro? - *Struct. Biol. Medicamentos Discov.: Methods Tech. Pract.* 2020:587-612. doi: 10.1002/9781118681121.ch25. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
127. Vandyck K., Deval J. Consideraciones para el descubrimiento y desarrollo de inhibidores de la cipsina de la cisteína similar a la 3 quimiotriz señas dirigidos a la infección por SARS-CoV-2. *Curr. Opin. Virol.* 2021; 4949:36-40. doi: 10.1016/j.coviro.2021.04.006. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
128. Voloshin V.P., Medvedev N.N., Smolin N., Geiger A., Winter R. Explorar los cambios de volumen, compresibilidad e hidratación de proteínas plegadas al compresión. *El físico. Chem. Chem. El físico.* 2015; 17 :8499-8508. doi: 10.1039/CC5CP00251F. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
129. Voloshin V.P., Medvedev N.N., Smolin N., Geiger A., Winter R. Desenredar las propiedades volumétricas e hidratante de las proteínas. *J. El físico. Chem.* 2015; 119 :1881-1890. doi: 10.1021/jp510891b. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
130. Voss N.R., Gerstein M. 3V: Calculadora y extractora de volumen de cavidad, canal y heladería. *Ácidos Nucleicos Res.* 2010; 3838:555-562. doi: 10.1093/nar/gkq395. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
131. Whitten S.T., García-Moreno E B., Hilser V.J. Las fluctuaciones conformacionales locales pueden modular el acoplamiento entre la unión de protones y las transiciones estructurales globales en proteínas. *Proc. Natl. Acad. Sci. UU.* 2005; 102(12):4282-4287. doi: 10.1073/pnas.0407499102. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
132. Xavier Senra M., Fonseca A. Nuevas tirosinas con medidas putas contra contaminantes de la creciente preocupación. *Proteína: Struct. . Bioinform.* 2021; 89(9):1180-1192. doi: 10.1002/prot.26139. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
133. Yonezawa Y. Propiedades electrostáticas de los modelos de agua evaluados por un potencial de largo alcance basado únicamente en la condición de lobo y neutra. *Chem. El físico. - Deja.* 2013; 556 :308-314. doi: 10.1016/j.cplett.2012.12.028. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
134. Yuce M., Cicek E., Inan T., Dag A.B., Kurkcuoglu O., Sungur F.A. Reparación de medicamentos aprobados por la FDA contra sitios activos y potenciales sitios de unión de drogas a los atemáticos de la proteasa principal COVID-19. *Proteínas Struct. . Bioinform.* 2021:1-17. doi: 10.1002/prot.26164. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
135. Zhang Z., Desdier L.E.M., Scanlon M.G. Estudios ergométricos de proteínas: Nuevos conocimientos sobre la funcionalidad de proteínas en los sistemas alimentarios. *Tendencias Food Sci. Technol.* 2015; 45((2):251-263. doi: 10.1016/j.tifs.2015.06.006. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]
136. Zhao Y., Fang C., Zhang Q., Zhang R., Zhao X., Duan Y., Wang H., Zhu Y., Feng L., Zhao J., Shao M., Yang X., Zhang L., Peng C., Yang Yang K., Ma D., Rao Z., Yang H. Estructura cristalina de la proteasa principal SARS-CoV-2 en complejo con inhibidor de la proteasa PF-07321332. *Célula de proteínas.* 2021 doi: 10.1007/s13238-021-00883-2. [[PMC libre article](#)] [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)]