

UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTO TORIBIO DE MOGROVEJO
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE MEDICINA HUMANA



**Energías mínimas de interacción en receptores
farmacológicos de Hidroxicloroquina mediante
modelamiento molecular**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

Jesus Gabriel Suclupe Farro

ASESOR

Erick Giancarlo Suclupe Farro

<https://orcid.org/0000-0002-0334-2191>

Chiclayo, 2022

Energías mínimas de interacción en receptores farmacológicos de Hidroxicloroquina mediante modelamiento molecular

PRESENTADA POR

Jesus Gabriel Suclupe Farro

A la Facultad de Medicina de la
Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
para optar el título de

MÉDICO CIRUJANO

APROBADA POR

César Armando Ñique Carbajal

PRESIDENTE

Víctor Raúl Ocaña Gutiérrez

SECRETARIO

Erick Giancarlo Suclupe Farro

VOCAL

Dedicatoria

Dedicado a mis padres Willy y Delia quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy una de las primeras metas; gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A Erick, por sentar los cimientos de mi vida profesional, a quien tomo como un ejemplo a seguir y admiro cada día más.

A Tais, por cada sugerencia, corrección y también por permanecer a mi lado durante estos primeros pasos en mi vida profesional.

A Clemente y Angela, que me miran desde el cielo.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por brindarme sabiduría, salud y constancia a lo largo de mi carrera, por ser la luz en mi camino y fortaleza para lograr mis objetivos.

A toda mi familia por apoyarme y enseñarme el significado del amor, dedicación, comprensión y paciencia.

A mis formadores, personas de gran sabiduría quienes se esforzaron para lograr esta meta con éxito.

A mis amigos, Lorena, Andrea, Abraham, Claudia y Fiorella, con quienes no podría sentirme más ameno con la confianza puesta sobre mi persona, especialmente cuando he contado con su mejor apoyo desde la primera vez que pisamos las aulas de nuestra alma mater.

Índice

Resumen	7
Abstract	8
I. Introducción.....	9
II. Marco teórico.....	11
III. Metodología	14
IV. Resultados	17
V. Discusión	23
VI. Conclusiones	24
VII.Recomendaciones	25
VIII. Referencias	26
IX. Anexos	33

Lista de tablas

Tabla 1.	Proteínas diana de Hidroxicloroquina	17
Tabla 2.	Propiedades y características físico-químicas de HCQ	18
Tabla 3.	Proteínas descritas con ensayos in vitro obtenidos de la base de datos ChEMBL	20
Tabla 4.	Funciones bioquímicas de las proteínas identificados	20
Tabla 5.	Matriz de similitud en función porcentual (%) entre secuencias de aminoácidos de las proteínas estudiadas.....	21
Tabla 6.	Datos de los cálculos de interacción obtenidos por AutodockTools.....	22
Tabla 7.	Datos de cálculos de energía libre de AutodockVina.....	22

Lista de figuras

Figura 1.	Estructura molecular de hidroxiclороquina.	18
Figura 2.	Comparación de aminoácidos entre ECA2 vs ADR2 vs ACT1 vs ACT2, extraído de Clustal W.	34
Figura 3.	Pocket determinados de las estructuras proteicas estudiadas	36

Resumen

Objetivo: Analizar las minimizaciones energéticas de interacción de los receptores homólogos para Hidroxicloroquina (HCQ). **Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio *in silico*, mediante acoplamiento molecular por ordenador local con los softwares *AutodockTools4* y *AutodockVina*, donde se evaluó la estabilidad de HCQ frente a receptores inespecíficos; las proteínas para este análisis fueron obtenidas a partir de la base de datos *ChEMBL*. Con el uso de Softwares de acoplamiento molecular, se obtuvo datos teóricos de las interacciones ligando – receptor, para luego ser analizadas en función de sus energías libres. **Resultados:** Las proteínas analizadas para este estudio fueron cuatro; estas presentan muy baja similitud en la cadena de aminoácidos con la proteína modelo para HCQ, la Enzima convertidora de angiotensina-2. Los análisis de acoplamiento indicaron que, la interacción teórica para cada uno de ellos por energía libre fue de, -6.7kcal/mol el receptor Adrenérgico α -2, -6.2kcal/mol Muscarínico M1, -6.5kcal/mol receptor Muscarínico M2, -7.4kcal/mol Transportador de glucosa 1. **Conclusión:** Los receptores para HCQ en este estudio, presentan heterogeneidad marcada, esto puede deberse al origen de las secuencias nucleotídicas y la diferencia de funciones entre sí. De los resultados obtenidos por acoplamiento molecular pueden interpretar una interacción inespecífica con las proteínas no dianas. Entendiendo que existe la posibilidad de una reacción cruzada del medicamento.

Palabras clave: Coronavirus; SARS-CoV-2; Hidroxicloroquina; Simulación de acoplamiento molecular

Abstract

Objective: To analyze the energy minimizations of the interaction of homologous receptors for Hydroxychloroquine (HCQ). **Materials and Methods:** An *in-silico* study was performed using local computer molecular coupling with *AutodockTools4* and *AutodockVina* software, where the stability of HCQ against non-specific receptors was evaluated; proteins for this analysis were obtained from the *ChEMBL* database. With the use of molecular coupling software, theoretical data of ligand - receptor interactions were obtained and then analyzed according to their free energies. **Results:** The proteins analyzed for this study were four; they have very low similarity in the amino acid chain with the model protein for HCQ, the angiotensin-2 converting enzyme. Coupling analyses indicated that, the theoretical interaction for each of them by free energy was, -6.7kcal/mol the adrenergic receptor α -2, -6.2kcal/mol Muscarinic M1, -6.5kcal/mol Muscarinic receptor M2, -7.4kcal/mol Glucose transporter 1. **Conclusion:** HCQ receptors in this study present marked heterogeneity, this may be due to the origin of nucleotide sequences and the difference in functions between them. From the results obtained by molecular coupling a non-specific interaction with non-target proteins can be interpreted. Understanding that there is a possibility of a cross-reaction of the drug.

Keywords: Coronavirus; SARS-CoV-2; Hydroxychloroquine; Molecular Docking Simulation

I. Introducción

Hasta el año 2016 se conocían seis miembros de la familia *Coronaviridae*, encontrándose ampliamente distribuidos entre humanos, mamíferos y aves en los que causan enfermedades respiratorias, entéricas, hepáticas y neurológicas. Cuatro de ellos (HCoV-229E, OC43, NL63, y HKU1) son conocidos por ser causa de resfríos comunes en pacientes inmunocompetentes. (1) Los otros dos, SARS-CoV y MERS-CoV, fueron causantes de los brotes de síndrome respiratorio agudo severo en 2002-2003 en China y de enfermedades respiratorias graves en 2012 en el Medio Oriente, respectivamente. (2,3)

En diciembre del 2019 se reportó una nueva cepa de coronavirus, SARS-CoV-2, causante de una gran tasa de mortalidad a nivel mundial, debido a que durante los primeros meses de la pandemia no hubo estándares de tratamiento que ayuden a combatir al COVID-19. (4,5)

La unión entre SARS-CoV-2 y el huésped inicia con la absorción celular y esto se debe a la afinidad de la proteína viral Spike (S) con la Enzima convertidora de Angiotensina 2 (ECA2), que se expresa en la membrana de células pulmonares, cardiomiocitos, riñones, entre otros órganos. (6) La historia natural de COVID-19 cursa con la etapa presintomática, la infección temprana que cursa con síntomas como tos, fiebre, cefalea y/o mialgias con una media de 7-10 días, que coincide con una mayor carga viral en el tracto respiratorio, continuando con neumonía viral. (7,8)

En la búsqueda del tratamiento para COVID-19, se sugirió reutilizar medicamentos para no tardar en responder ante la enfermedad (9); estas, incluirían varios grupos farmacológicos con actividad entre la interacción SARS-CoV-2 – ECA2: como antivirales, antibióticos, agentes antivirales no específicos, inmunomoduladores y antiparasitarios (9) como lo son Ivermectina, Cloroquina y HCQ. En estos tres últimos se ha encontrado actividad *in vitro* (10,11) como también *in silico* (12,13)

A pesar que la información era limitada, la población en el mundo se automedicó con HCQ, entre otros medicamentos, en dosis que superan las recomendadas por la FDA, causando intoxicaciones que llevó a algunos usuarios a áreas de cuidado críticos. (14) Por lo cual, para Enero del 2021, ya no se recomendaba la combinación de fármacos como HCQ – Azitromicina para el manejo de COVID-19, debido al incremento de riesgo de mortalidad en pacientes a quienes se le administraba (15,16) y tampoco la terapia únicamente con HCQ, porque no se observaba el beneficio sino que incrementaba el riesgo de padecer efectos adversos. (16,17)

A pesar de ello, gracias a investigaciones *in silico* e *in vitro*, se tuvo en cuenta de que HCQ actuaba sobre ECA2 y el Gangliósido M1 (GM-1), receptores de la proteína Spike del SARS-CoV-2(18).

Por lo tanto, la importancia de este estudio surge por la falta de conocimiento de otros posibles receptores celulares para HCQ, ya que, al haberse utilizado de manera indiscriminada en la pandemia, no detallan con precisión la inhibición de otras proteínas receptoras homólogas a los receptores ya mencionados. Además de contar con información insuficiente en el conocimiento de esta nueva enfermedad, COVID-19. Por lo cual el objetivo de la investigación fue analizar las minimizaciones energéticas de interacción de los receptores homólogos para HCQ.

II. Marco teórico

Antecedentes

Li et al. (2003), Vincent et al (2005) y Rolain et al (2007) describieron que los medicamentos antipalúdicos, incluyendo a HCQ, glicosilan a la ECA2 y también aumenta el pH del endosoma, limitando la replicación de SARS-CoV y otros virus ARN.(19–21) Wang (2020) y Colson (2020), describen que esta misma actividad limita el ingreso de SARS-CoV-2 hacia el intracelular, demostrándolo *in vitro*. (22,23)

White et al (2007), detalla que la falta de selectividad farmacológica de Cloroquina y HCQ, está relacionado a efectos adversos cardiológicos, tal como Ericksen (2020) menciona que el uso de HCQ, aumenta el riesgo de padecer alguna complicación cardiológica. (14) Esto explica que HCQ – hERG, inhibe al transportador de canal de K⁺ ubicado en los cardiomiocitos, produciendo la prolongación del intervalo QT provocando alteraciones electrocardiográficas; esto se propuso *in silico* por Gordon (2020)(24) e *in vitro* por Szendrey (2021).(25)

Fantini et al (2020) mencionaron la interacción teórica entre el dominio N terminal de la proteína S de SARS-CoV-2 con 9-O-acetil-N-acetilneuramínico (9-O-SIA) del GM-1, receptor de membrana distribuido en pulmones y otros órganos, en el que HCQ inhibe por competición el ingreso del virus a la célula al ligarse con 9-O-SIA.(12)

En un estudio *in silico*, Braz et al (2020), además de detallar teóricamente la actividad antiviral a causa de HCQ – ECA2, también mencionó la acción con Catepsina L, proteína presente en los endosomas; donde podría romper las cadenas proteicas virales, previo a su liberación al citosol.(26)

Debido que hasta el momento se desconoce información sobre interacciones inespecíficas del fármaco cuando se administran a dosis elevadas o tóxicas, el presente estudio analiza la interacción de HCQ con ligandos inespecíficos, mediante la interacción con los mínimos energéticos, llevándose a cabo el uso de modelamiento molecular, método informático predictivo, que estudiará si la interacción fármaco-receptor ocurrirá o no, a través de programas que representan la estructura molecular y su comportamiento durante la interacción, permitiendo predecir las interacciones fármaco-receptor fuera de su medio natural (seres vivos). (27)

Bases teóricas

Para realizar el presente trabajo de investigación fueron empleados bases de datos de acceso libre (*on-line*), así como software de acceso público; estos son descritos a continuación:

Base de datos:

Drugbank: Recurso bio y químio-informático que contiene información sobre medicamentos y sus receptores.(28)

PubChem: información sobre estructuras químicas, identificadores, propiedades químicas y físicas, actividades biológicas, datos de toxicidad y más.(29)

ProtParam: Herramienta que permite el cálculo de los parámetros físico-químicos de una proteína o de una secuencia de la proteína ingresada por el usuario, estos parámetros incluyen el peso molecular, composición de aminoácidos, la vida media estimada, el coeficiente de extinción, entre otras propiedades. (30)

UniProt: Base de datos de proteínas de acceso libre, que contiene información sobre secuencias proteicas y sus funciones obtenidas en su mayor parte de investigaciones sobre secuenciamiento genómico. (31)

Protein Data Bank (PDB): ofrece un repositorio de estructuras 3D de macromoléculas biológicas que permite conocer su actividad a nivel atómico.(32)

ChEMBL: Base de datos que conserva moléculas estructuralmente similares a las drogas bioactivas incluyendo sus propiedades farmacológicas. (33)

Software:

Clustal W: Programa que permite la alineación de secuencias amioacídicas de diferentes proteínas, comparándolas y observando su índice de similitud o diferencia entre ellas. (34)

Pymol: Software de acceso abierto para la visualización de micro y macromoléculas determinadas por Cristalografía de rayos X o resonancia magnética, ambos métodos de obtención de estructuras atómicas que permite la observación 3D de la misma. (35)

Protein-Ligand Interaction Profiler (PLIP): Permite identificar de forma fácil y rápida las interacciones no covalentes entre macromoléculas biológicas y sus ligandos, luego proporciona datos en formatos adecuados para su posterior procesamiento.(36)

FTMAP, Cryptic binding cite queue, DoGSiteScorer: Estos 3 softwares permiten identificar los sitios de actividad farmacológicos en la extensión de la superficie proteína-proteína, combinando el mapeo de solventes de forma computacional que explora la superficie proteica con “sondas”, tomando en cuenta la flexibilidad estructural. (37–39)

AutodockTools 4.2 y AutoDock Vina: Ambas son herramientas de acoplamiento automatizado que predicen como las moléculas, como sustratos de fármacos, se ligan a un receptor de estructura 3D. (40,41)

Merck Molecular Force Field 94 (MMFF94): Campo de fuerza de dinámica molecular que reproduce con precisión las propiedades moleculares como su geometría molecular, energía conformacional y esteroisomérica, barreras torsionales y deformaciones por torsión, energías de interacción intermolecular, frecuencias vibratorias y pérdida de calor en la formación.(42)

Algoritmo genético Lamarckiano (LGA): Una variación del Algoritmo Genético tradicional, el LGA; La principal diferencia entre estos, es que el primero solo realiza búsquedas globales en el espacio de búsqueda definido, mientras que el LGA combina esta estrategia con búsquedas locales en la preoblación de oxima al individuo en cuestión. Esta estrategia brinda una mayor posibilidad de encontrar buenos resultados al final del proceso, ya que como se mencionó anteriormente, el uso de LGA brinda mejores resultados que el uso del algoritmo genético tradicional). (43)

III. Metodología

La presente investigación fue realizada mediante el uso del computador adquirido a partir del proyecto de investigación financiado por Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, VRI-USAT, Resolución-073-A-2020-USAT-RTDO.

Población, tipo de estudio y diseño

Población: Proteínas que constituyan parte del organismo humano, estudiadas y depositadas en la base de datos *ChEMBL*(33).

Muestra: El diseño de la muestra es por conveniencia, ya que solo fueron considerados aquellas proteínas que cumplen con los criterios de inclusión y exclusión para este estudio, partiendo de un total de 459 proteínas descritas en la base de datos *ChEMBL*(33).

Criterios de inclusión:

- i) Estudios de proteínas que constituyan parte del *Homo sapiens*,
- ii) Proteínas que formen parte del citoplasma celular y de la membrana (integrales y de superficie),
- iii) Ensayos experimentales con actividad IC50 (concentración de la muestra problema que produce una inhibición del 50%) de HCQ frente a la proteína receptora.

Criterios de exclusión:

- i) Secuencias de ADN,
- ii) Proteínas que se unen al ADN
- iii) Proteínas que no se haya determinado su función o que aparecen como datos inconclusos.
- iv) Estudios de proteínas donde se considere al fármaco como un sustrato y no un inhibidor.
- v) **Proteínas con actividad conocida con el fármaco**

Técnica y tipo de estudio: Técnica de estudio observacional, tipo descriptivo transversal - computacional.

Instrumentos: Los instrumentos de recolección de datos fueron: Computador de escritorio Core i7 (8 núcleos, memoria RAM 16 GB, disco duro solido de 500GB y rígido de 2TB, placa

de video RTX 2060) sistema operativo Ubuntu 20.04 – LINUX, memorias USB, paquetes de software bioinformáticos y cuadernos de apuntes.

Metodología

El logro de los objetivos planteados tuvo como base el método de estudio *in silico* propuesto por el autor, basados en los estudios actuales de bioinformática.

1. Obtención de la estructura de Hidroxicloroquina y búsqueda de moléculas diana

Para realizar el estudio *in silico*, se obtuvo la estructura del fármaco en estudio, HCQ de la base de datos *DrugBank*(28), y las características fisicoquímicas, lipofílicas e hidrofílicas de la base de datos *Pubchem*.(29) Estas dos bases de datos también fueron empleadas para la identificación de las proteínas receptoras modelo para el fármaco estudiado al que se le detalló su acción farmacológica, información que se extrajo de *UniProt*(31) y el código *PDB*(32).

2. Selección de proteínas para estudio *in silico* y análisis de secuencia de aminoácidos

La selección de las proteínas candidato se inicia en la base de datos *ChEMBL*(33), donde luego de escribir como palabra de búsqueda principal “*HYDROXYCHLOROQUINE*” se estableció el filtro de selección (criterios de inclusión y exclusión descritos anteriormente) para identificar a las proteínas que presentan estudios experimentales, donde se reporta la interacción ligando-receptor, pero que no describe la afinidad del mismo. A cada una de las proteínas seleccionadas se les asignó: abreviatura, código *UniProt* (31), *ChEMBL*(33) y *PDB*(32).

De los datos anteriores se usó el código *UniProt*(31), de donde se obtuvieron las secuencias de aminoácidos para cada uno de los casos y se realizó un análisis de secuencias por alineamiento global de los aminoácidos con el *software Clustal W*(34).

3. Selección de los espacios físicos

La selección de los espacios físicos probables donde será posible la interacción ligando-receptor, *POCKET*; fueron hallados mediante un acoplamiento ciego (*Blind Docking*), acoplamiento que se ejecuta sin conocer los lugares donde podría encajar el fármaco dentro de la proteína, para lo cual fueron usados *FTMAP*(37), *Cryptic binding site Queue*(38) y *DoGSiteScorer*(39). Para ello fueron ingresados los códigos de identificación *PDB*(32) de cada una de las proteínas seleccionadas, y los softwares mediante simulaciones de torción buscan y predicen sitios de unión usando una serie de moléculas de sus propio banco de datos.

4. Preparación de receptores y ligando para acoplamiento molecular

4.1.Receptores

La preparación de los receptores fue realizada con el programa *Pymol*(35) consistió en la eliminación del ligando y moléculas de agua además de posibles cofactores (iones metálicos o moléculas orgánicas como vitaminas) que pueden acompañar en la resolución de las estructuras cristalinas, además de la eliminación cadenas proteicas y así quedar solo una cadena (en caso la estructura sea polimérica).

4.2.Ligando

Para el tratamiento del ligando se basó en la revisión de las posiciones de sus átomos y de todos sus enlaces, tomando como referencia la estructura 2D obtenida de *DrugBank*(28), la molécula fue tratada con el programa *Avogadro* (editor y visualizador de moléculas en 2D y 3D, que en este caso se usó para la construcción de estructura molecular)(44) usando la herramienta de auto optimización y el campo de fuerza MMFF94, logrando la minimización energética y relajación de los átomos, simulando la interacción fuera del ser vivo (*Homo sapiens*). (42)

5. Etapa de acoplamiento molecular

Los programas *AutodockTools 4.2*(40) y *AutoDock Vina*(41) fueron emplearon para el estudio de acoplamiento molecular donde se usaron los siguientes parámetros: libre rotación de todos los enlaces de HCQ, adición de cargas de *Gasteiger* a la proteína y al ligando, adición de hidrógenos a la proteína, generación de 100 poses (formas diferentes donde pueda unirse al receptor) para cada ligando y uso del LGA(43) Este último se utilizó bajo las siguientes condiciones: 100 corridas de LGA, 150 tamaño de población, 2500000 máximo número de evaluaciones, 27000 máximo número de generaciones, 0.02 tasa de mutación del gen y 0.08 de tasa de cruzamiento.

6. Análisis de interacción

Los archivos de salida de los programas de acoplamiento fueron ordenados en una tabla de Microsoft office – Excel, donde se evaluaron las energías de afinidad de enlace obtenidas, energía libre de enlace estimada, constante de inhibición, eficiencia del ligando, energía intermolecular final y energía electrostática.

IV. Resultados

1. Estructura de Hidroxicloroquina y moléculas diana

Se realizó la búsqueda de la estructura y características del fármaco, así también la secuencia de aminoácidos y estructura para los receptores o proteínas diana de Hidroxicloroquina – HCQ, en la base de datos *PubChem*(29) y *DrugBank*(28). Estos son detallados en la **Tabla 1**, también se describe la actividad farmacológica que se presenta en la reacción ligando-receptor, además del código *PDB*(32), que permite observar la estructura de las proteínas en forma tridimensional.

La selección de la proteína modelo para HCQ es el receptor de la Enzima Convertidora de Angiotensina 2 - ECA2, debido a que es una proteína de membrana; además no se relaciona con el núcleo, por lo que se debe indicar que debido a ello fueron excluidos el ADN y las proteínas Toll-like7 y 8.

Tabla 1. Proteínas diana de Hidroxicloroquina

Fármaco – ligando		Proteína diana – receptor (target)	Código <i>UniProt</i>	Acción del fármaco sobre receptor	Código <i>PDB</i> proteína
Nombre	Abreviatura				
Hidroxicloroquina	HCQ	DNA	NP~	Inhibe la propagación genética	NP~
		<i>Toll-like 7</i>	Q9NYK1	Inhiben el control de la respuesta inmune del huésped contra los patógenos	7CYN (solo para Toll-7)
		<i>Toll-like 9</i>	Q9NR96		
		*ECA2	*Q9BYF1	Desconocida	*1R42

~ No presenta código *PDB* ni *UniProt*. Fuente: Creada por el autor

La **Tabla 2**, hace referencia a las propiedades físico-químicas de HCQ, donde se puede evidenciar la capacidad de formación de puentes de hidrógenos por el número que presenta para donar y aceptar átomos de hidrógeno, además se indica la superficie polar topológica (TPSA) que hace referencia a la capacidad de contacto con la molécula diana mediante contactos polares, definida en *Amstrong* al cuadrado (Å^2) donde se registra que HCQ tiene 48.4Å^2 . En la figura 1 se muestra la estructura molecular para el ligando HCQ, este modelo fue obtenido de la base de datos *PubChem* (28); donde se muestra la forma ciclada del fármaco, presencia de dos anillos aromáticos con un átomo de cloro, una cadena carbonada y nitrogenada exponiendo grupos metiles y en un extremo un grupo hidroxilo, estos últimos dan la capacidad de formación de enlaces puentes de hidrogeno.

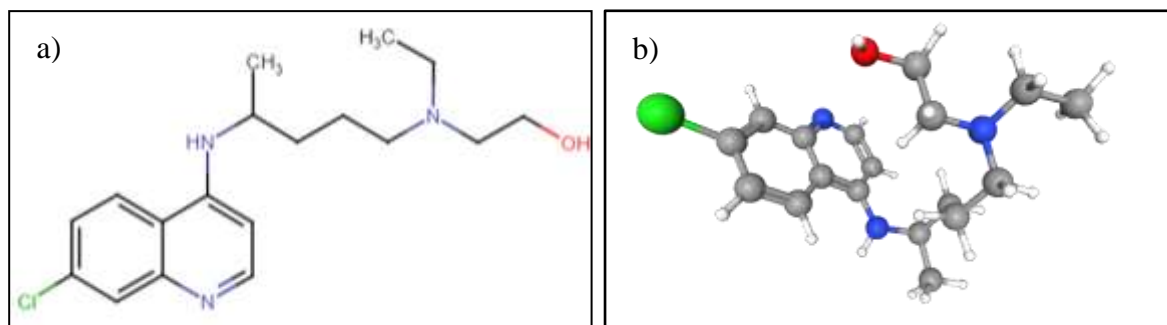


Figura 1. Estructura molecular de hidroxiclороquina.

- a) Vista en bidimensional -2, formato de líneas delgadas y grupo funcionales;
 b) Vista tridimensional – 3D, formato de esferas y línea. Verde - átomo de cloro, rojo - ión hidroxilo, azul- átomos de azufre, gris – esqueleto carbonado. (figuras adaptadas del *PubChem*)

Tabla 2. Propiedades y características físico-químicas de HCQ

Propiedades	MOLECULA - LIGANDO
	Hidroxiclороquina
“Canonical SMILE”	CCN(CCCC(C)NC1=C2C=CC(=CC2=NC=C1)Cl)CCO
Propiedades físico-químicas	
Fórmula	C18H26ClN3O
Peso Molecular	335.87 g/mol
Num. Átomos pesados	23
Num. Átomos pesados aromáticos	10
Fracción Csp3	0.50
Num. Rotaciones por ligaciones	9
Num. de aceptores de H por ligaciones	3
Num. Ligaciones de H ⁺ donadores	2
Refractividad molar	98.57
TPSA	48.39 Å ²
Lipoficidad	
Log Po/w (iLOGP)	3.58
Log Po/w (XLOGP3)	3.58
Log Po/w (WLOGP)	3.59
Log Po/w (MLOGP)	2.35
Log Po/w (SILICOS-IT)	3.73
Concenso Log Po/w	3.37
Solubilidad en Agua	
Log S (ESOL)	-3.91
Solubilidad	4.17e-02 mg/mL; 1.24e-04 mol/L
Farmacocinética	
Absorción Gastrointestinal (GI)	Alto
Barrera hematoencefálica (BBB) permanente	Sí

Fuente: Datos obtenidos de *ChEMBL*, adaptado por el autor.

Luego de identificar las proteínas diana para los fármacos en estudio, el uso de la base de datos *ChEMBL*(33) permitió establecer un filtro para la identificación de las proteínas que presentan estudios experimentales, en donde se reporta la interacción ligando-receptor, pero no describen si hay evidencia de la afinidad ligando - receptor. La base de datos detalla para HCQ un total de 459 estudios depositados, de los cuales se excluyeron: estudios donde no se indica actividad aparente, aquellos que tenían comportamiento donde considera al fármaco como sustrato y aquellas donde se detallan como moléculas activas; quedando en selección para el análisis de los ensayos *in silico* aquellos que presentan información de actividad en una IC50 (concentración de la muestra problema que produce una inhibición del 50%), además de aquellas moléculas que no se han determinado su función o están como datos inconclusos (ver *figura 2*).

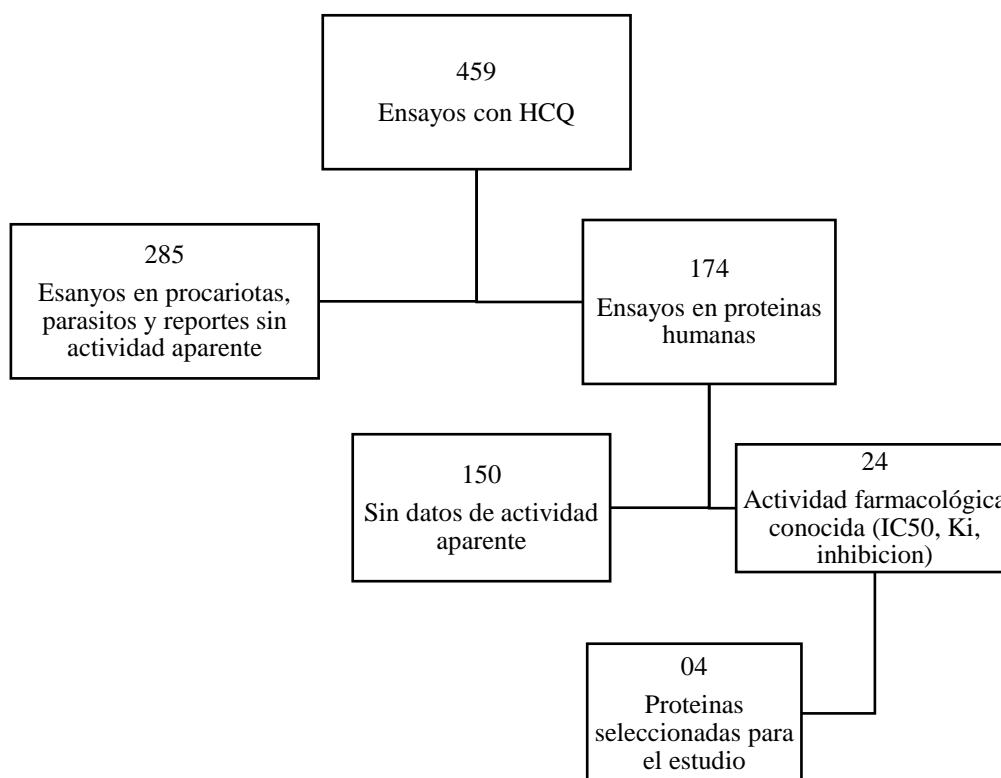


Figura 1. Esquema de selección de proteínas incluidas en el estudio *in silico*. (datos obtenidos de ChEMBL)

En la base de datos *ChEMBL*(33) se hallaron 4 proteínas que tenían estudios *in vitro* previos donde se indica la interacción de proteínas con Hidroxicloroquina, e las que fueron seleccionados las siguientes: Receptor α -adrenérgico tipo 2 (ADR2), Receptor muscarínico de

acetilcolina M1 (ACT1), Receptor muscarínico de acetilcolina M2 (ACT2) y el Transportador de glucosa 1 (GLUT1) (ver **tabla 3**). También se detalla las funciones que presentan cada una de las moléculas en el organismo humano en la **tabla 4**.

Tabla 3. Proteínas descritas con ensayos in vitro obtenidos de la base de datos ChEMBL

Ligando	Nombre del receptor	Abreviatura	Cod UniProt	Cod. ChEMBL	Cod. PDB
HCQ	Receptor Adrenérgico α 2	ADR2	P08913	CHEMBL1867	6KUX
	Receptor muscarínico Acetilcolina M1	ACT1	P11229	CHEMBL216	5CXV
	Receptor muscarínico Acetilcolina M2	ACT2	P08172	CHEMBL211	3UON
	Transportador de Glucosa 1	GLUT1	P11166	CHEMBL2535	6THA

Fuente: Creada por el autor.

Tabla 4. Funciones bioquímicas de las proteínas identificados

Nombre	Localización	Función
Receptor Adrenérgico α 2A	Membrana plasmática	“Median la inhibición del adenilato ciclasa inducida por la catecolamina a través de la acción de las proteínas G. Los receptores α 2 activan los canales de K ⁺ regulados por la proteína G, dando como resultado la hiperpolarización de la membrana. En algunos casos (p. ej., neuronas colinérgicas en el plexo mientérico), ésta puede ser dependiente de Ca ²⁺ , mientras que en otros (p. ej., receptores de Acetilcolina (ACTH) muscarínicos en miocitos auriculares) es consecuencia de la interacción directa de subunidades $\beta\gamma$ con canales de K ⁺ . Los receptores α 2 también pueden inhibir canales de Ca ²⁺ dependientes de voltaje; esto está mediado por Gol”(45). Los receptores α 2A y α 2C desempeñan un papel principal en la inhibición de la liberación de NE a partir de las terminaciones nerviosas simpáticas y la supresión del flujo simpático del cerebro, lo que conduce a la hipotensión. (46)
Receptor muscarínico Acetilcolina M1	Membrana plasmática	Aunque la selectividad no es absoluta, la estimulación de los receptores M1 provoca la hidrólisis de polifosfoinositidos y la movilización de Ca ²⁺ intracelular como consecuencia de la activación de la vía Gq-PLC, lo que da como resultado una variedad de respuestas mediadas por Ca ²⁺ . (45) El principal efecto transductor es el recambio de fósforo inorgánico. (47)
Receptor muscarínico Acetilcolina M2	Membrana plasmática	Su principal efecto transductor es la inhibición de adenilato ciclasa. La señalización promueve la actividad de la fosfolipasa C, lo que conduce a la liberación de trifosfato de inositol (IP3); esto desencadena la liberación de iones de calcio en el citosol.(45,48)
Transportador de Glucosa 1	Membrana plasmática	Transportador facilitador de glucosa, responsable de la captación constitutiva o basal de glucosa. Transportador de energía más importante del cerebro: está presente en la barrera hematoencefálica y asegura el transporte facilitador e independiente de la energía de la glucosa en el cerebro. (49–51)

Fuente: Información obtenida y adaptada de *UniProt*(33)

2. Análisis de similitud de secuencias de aminoácidos

Una vez identificadas las proteínas estudiadas de manera *in vitro*, se realizaron los estudios de homología mediante los alineamientos de las secuencias de aminoácidos de la proteína diana correspondiente para HCQ. Los resultados muestran que a partir del alineamiento múltiple de las proteínas analizadas usando los aminoácidos en código de una sola letra, se evidencia una baja similitud en función del porcentaje de identidad entre las secuencias analizadas de acuerdo a la composición en aminoácidos representados en el **anexo 1**, se debe resaltar que la muestra patrón de aminoácidos corresponde a la ECA2 y se compara con ADR2, ACT1, ACT2 y GLUT1.

En la **tabla 5**, se detallan los porcentajes de identidad entre las proteínas en estudio. Quien presenta una mayor similitud entre sus aminoácidos con ECA2 es la proteína GLUT1 (~21%), seguida ADR2 (~17%) y por último con el mismo porcentaje ACT1 Y ACT2 (~16%). El receptor ADR2 tiene un porcentaje de similitud mayor con ACT1 (~28%), seguido de ACT2 (~24%) y ultimo GLUT1 (~14). A pesar de pertenecer a la misma familia de receptores se evidencia una diferencia marcada entre los receptores muscarínicos ACT1 y ACT2 (~47%) y entre el receptor GLUT1 y ACT2 la similitud es la más baja (~10%).

Tabla 5. Matriz de similitud en función porcentual (%) entre secuencias de aminoácidos de las proteínas estudiadas.

	ECA2	ADR2	ACT1	ACT2	GLUT1
ECA2	100	17.11	16.80	16.80	21.46
ADR2	17.11	100	28.06	24.59	14.57
ACT1	16.80	28.06	100	47.67	13.49
ACT2	16.80	24.59	47.67	100	10.58
GLUT1	21.46	14.57	13.49	10.58	100

Fuente: datos obtenidos de alineamiento de secuencias en Clustal W, elaborado por el autor

3. Selección del *pocket* en las proteínas identificadas

Los códigos *PDB*(32) de las proteínas en estudio fueron ingresados a los programas de uso abierto on-line, *FTMAP*(37), *Cryptic binding site Queue*(38) y *DoGSiteScorer*(39). La selección de los espacios físicos teóricos, fueron designados por coincidencia en los tres softwares; en estos espacios existe la mayor probabilidad de unión entre HCQ y las proteínas receptoras para mantener una estabilidad suficiente.

4. Simulación de acoplamiento molecular de ligando - receptores

El ligando - HCQ y las proteínas – ADR2, ACT1, ACT2 y GLUT1 previamente preparadas fueron sometidas a una simulación acoplamiento molecular localizado mediante el uso de herramientas computacionales de uso local: *AutodockTools* - ADT(40) y *Autodock Vina* – Vina(41). A continuación, se muestran los datos obtenidos a partir de este ensayo de simulaciones por acoplamiento. Para el caso del software ADT (**ver Tabla 6**) se muestra una tabla detallando los valores analizados para la simulación de acoplamiento molecular; la proteína que menor energía libre de unión obtuvo fue el ADR2 con -7.92kcal/mol, seguido por el Transportador de Glucosa 1 con -7.54 kcal/mol; la diferencia entre ellos es solo de 0.38 kcal/mol; al final de la tabla se describen a los receptores Adrenérgicos Tipo 1 y 2 con -5.63 y -4.58 kcal/mol respectivamente. También se observa la constante de inhibición que resume el mismo orden mencionado anteriormente.

En la tabla 7, se describe solo la energía libre de unión, para Vina, el Transportador de Glucosa 1 con -7.4 kcal/mol seguido por el receptor Adrenérgico 2 tiene una energía libre de -6.7 kcal/mol, entre estos hay una diferencia de 0.7 kcal/mol; al final aparecen los receptores Adrenérgicos Tipo 2 y 1 con -6.2 y -6.5 kcal/mol respectivamente.

Tabla 6. Datos de los cálculos de interacción obtenidos por AutodockTools.

Molécula Ligando	Receptor	Energía libre de enlace estimada (kcal/mol)	Constante de inhibición (mM)	Eficiencia del ligando	Energía intermolecular final (kcal/mol)	Energía electrostática (kcal/mol)
HCQ	ADR2	-7.92	1.55	-0.34	-10.91	-0.59
	GLUT1	-7.54	2.97	-0.33	-10.52	-1.3
	ACT1	-5.63	74.72	-0.24	-8,39	0,14
	ACT2	-4.58	436.69	-0.2	-7.57	0.06

Tabla 7. Datos de cálculos de energía libre de AutodockVina.

Molécula Ligando	Receptor	Energía libre de enlace estimada (kcal/mol)
HCQ	GLUT1	-7.4
	ADR2	-6.7
	ACT2	-6.5
	ACT1	-6.2

V. Discusión

En este estudio se identificó a 4 proteínas receptoras que están conectadas a procesos biológicos importantes. Los alineamientos múltiples de secuencia de los aminoácidos dan a conocer que no existe una similitud en la homología entre las proteínas en estudio y ECA2, ya que como indica Pearson (2013) se considera una proteína homóloga o similar cuando el valor es mayor al 30%, esto indica que no presentan la misma estructura y/o la misma función entre sí mismas, solo un valor puede ser relevante de homología que es entre los receptores muscarínicos (ACT1-ACT2), que aun así, perteneciendo a la misma familia, presentan una homología de solo ~47%.(52)

Conforme se revisaron las investigaciones, se observó que podría haber actividad inespecífica entre HCQ - ADR2, HCQ - ACT1 e HCQ - ACT2, HCQ – GLUT1; la acción de estas, de forma independiente o en conjunto, puede estar asociado a efectos adversos en el usuario. Sin embargo, se recalca que no se pretende cambiar, ni simular alguna prueba integral en la utilidad clínica de HCQ.

En este estudio se observó la acción teórica HCQ – ADR2, concordando con el resultado de Gordon *et al.* (2020) quienes demostraron a través del pKi (constante de inhibición) que la actividad inespecífica ligando – receptor podría tener resultados desfavorables clínicamente, resaltado en su investigación. Es necesario remarcar que a mayor valor positivo de la constante de inhibición no garantiza una unión de manera biológica natural, lo que es contrario a la unión de energía libre, mientras el valor es más negativo mejor es la unión entre ligando y receptor, tal como se evidencia en la, **tabla 6**. Erickson *et al*(2020), manifiestan que durante la pandemia, la administración de HCQ se asoció a alteraciones electrocardiográficas, bradicardia, vasodilatación e hipotensión refractaria a tratamiento con hidratación endovenosa(14) lo cual podría mantener relación teórica con respecto al bloqueo ADR2 que se encarga de la vasoconstricción, asociándose también al bloqueo del transportador de membrana HERG (con afinidad por iones K^+), que se encarga de repolarizar la membrana del cardiomiocito.(53) Y la bradicardia podría ser subsecuente a HCQ – ACT2, que como describe Hoffmann (2019) está ampliamente distribuido en tejido cardíaco(45).

Gordon *et al.* (2020), mencionan la posibilidad de interacción de HCQ – ACT1, que en esta investigación es con quien tendría la energía libre más alta; a pesar de ello, podría relacionarse con xerostomía (sequedad de boca).(24) Relacionándose al bloqueo de ACT1, lo cual resultaría en la aparición de este síntoma, tal como objeto De Luca Monasterios y col (2014).(54)

Smith (2005) destacó que niños que por algún motivo utilizaban HCQ, presentaban trastornos convulsivos asociados a hipoglucemia, esto tendría probable relación con HCQ – GLUT-1, que es con quien tendría un enlace más fuerte por tener la energía libre de enlace más negativa, este último se encuentra ampliamente distribuido en tejido cerebral.(55) Sin, embargo hay reportes de caso de pacientes no diabéticos tras consumir HCQ, sufrían hipoglicemia.(56–59) Araiza-Casillas y col (2013), encontraron que HCQ aumenta la sensibilidad periférica a la insulina tras administrarlo en pacientes con Artritis Reumatoide.(60) Por lo tanto, el efecto hipoglucemiante podría decirse que no podría estar directamente relacionado con la interacción HCQ – GLUT-1, por lo tanto, habría que dilucidar a qué se debe el efecto.

Este estudio permite tener el conocimiento teórico acerca de cómo se puede dar la unión ligando – receptor y con esto fortalecer las necesidades de entendimiento sobre procesos de interacción intermoleculares. Empero, al ser un estudio realizado por ordenador, se obtuvo un panorama teórico computacional y se debe ejercer esfuerzos para llevarlo a la experimentación *in vitro* para ser corroborado.

VI. Conclusiones

En esta investigación, se analizó computacionalmente proteínas receptoras que puedan unirse con alta afinidad a HCQ, estas no se habían estudiado antes del contexto de COVID-19, aunque se observa una heterogeneidad marcada entre ellas mismas, debido al origen de las secuencias nucleotídicas y la diferencia de funciones entre sí.

De los resultados obtenidos por acoplamiento molecular pueden interpretarse una interacción inespecífica con las proteínas no dianas, lo cual se podría entender que existe la posibilidad de una reacción cruzada del medicamento. Exponiendo una interacción cruzada entre HCQ y las proteínas seleccionadas, sobre todo en los receptores adrenérgicos y el transportador de glucosa, lo que estudios anteriores ya indicaban un bloqueo por este tipo de unión.

El estudio de simulación ayudaría a explicar los procesos de interacción teóricos fármaco – receptor, y en razón por la cual los estudios de modelos computacionales merecen más atención.

VII. Recomendaciones

Es necesario el continuar con los análisis teóricos incluyendo simulaciones por dinámica molecular con variación de las variables temperatura, pH y presión, esto permitirá tener un mejor enfoque teórico de interacción lo que ayudará a mejorar la propuesta de inhibición basada en este trabajo de investigación.

Se recomienda ampliar la lista de moléculas receptoras que puedan tener una interacción con HCQ, lo que ayudará dar una mejor respuesta a los probables resultados dados por Erickson, considerando que aún existen varias proteínas receptoras que no fueron consideradas en el estudio por no tener datos en la base de datos *ChEMBL*.

Con estos datos podrían continuarse estudios en proteínas recombinantes para evaluar si la inhibición teórica puede es correcta, según lo propuesto en este trabajo de investigación.

VIII. Referencias

1. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends in Microbiology*. 2016 Jun;24(6):490–502. doi: 10.1016/j.tim.2016.03.003
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*. 2020 Feb 20;382(8):727–33. doi: 10.1056/NEJMoa2001017
3. World Health Organization. Coronavirus. OMS. 2020. [accessed 17 Jan 2022] Available from: <https://www.who.int/es/health-topics/coronavirus>
4. Guarner J. Three Emerging Coronaviruses in Two Decades. *American Journal of Clinical Pathology*. 2020 Mar 9;153(4):420–1. doi: 10.1093/ajcp/aqaa029
5. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nature Microbiology*. 2020 Apr 2;5(4):536–44. doi: 10.1038/s41564-020-0695-z
6. Zhou P, Yang X-L, Wang X-G, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar 12;579(7798):270–3. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7
7. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*. 2020;581(7807):221–4. doi: 10.1038/s41586-020-2179-y
8. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine*. 2020 May 1;26(5):672–5. doi: 10.1038/s41591-020-0869-5
9. Saber-Ayad M, Saleh MA, Abu-Gharbieh E. The Rationale for Potential Pharmacotherapy of COVID-19. *Pharmaceuticals*. 2020 May 14;13(5):96. doi: 10.3390/ph13050096
10. Caly L, Druce JD, Catton MG, Jans DA, Wagstaff KM. The FDA-approved drug ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 in vitro. *Antiviral Research*. 2020 Jun;178(April):104787. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104787
11. Yang SNY, Atkinson SC, Wang C, Lee A, Bogoyevitch MA, Borg NA, et al. The broad spectrum antiviral ivermectin targets the host nuclear transport importin $\alpha/\beta 1$

- heterodimer. *Antiviral Research*. 2020 May;177:104760. doi: 10.1016/j.antiviral.2020.104760
12. Fantini J, di Scala C, Chahinian H, Yahi N. Structural and molecular modelling studies reveal a new mechanism of action of chloroquine and hydroxychloroquine against SARS-CoV-2 infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020 May;55(5):105960. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105960
 13. Andreani J, le Bideau M, Dufлот I, Jardot P, Rolland C, Boxberger M, et al. In vitro testing of combined hydroxychloroquine and azithromycin on SARS-CoV-2 shows synergistic effect. *Microbial Pathogenesis*. 2020 Aug;145(April):104228. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104228
 14. Erickson TB, Chai PR, Boyer EW. Chloroquine, hydroxychloroquine and COVID-19. *Toxicol Commun*. 2020 Jan 1;4(1):40. doi: 10.1080/24734306.2020.1757967
 15. Organización Mundial de la Salud. Manejo clínico de la COVID-19 Orientaciones evolutivas 25 de enero de 2021. Ginebra; 2021. 1–60 p. [accessed 14 May 2022] Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/338871/WHO-2019-nCoV-clinical-web_annex-2021.1-eng.pdf
 16. Singh B, Ryan H, Kredo T, Chaplin M, Fletcher T. Chloroquine or hydroxychloroquine for prevention and treatment of COVID-19. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2021 Feb 12;2021(2). [accessed 13 May 2022] Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD013587.pub2/full>
 17. Fiolet T, Guihur A, Rebeaud ME, Mulot M, Peiffer-Smadja N, Mahamat-Saleh Y. Effect of hydroxychloroquine with or without azithromycin on the mortality of coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 Jan 1;27(1):27. [accessed 14 May 2022] Available from: [/pmc/articles/PMC7449662/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3449662/)
 18. Fantini J, Chahinian H, Yahi N. Synergistic antiviral effect of hydroxychloroquine and azithromycin in combination against SARS-CoV-2: What molecular dynamics studies of virus-host interactions reveal. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020 Aug;56(2):106020. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106020
 19. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003 Nov;426(6965):450–4. doi: 10.1038/nature02145

20. Vincent MJ, Bergeron E, Benjannet S, Erickson BR, Rollin PE, Ksiazek TG, et al. Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread. *Virology Journal*. 2005 Dec 22;2(1):69. doi: 10.1186/1743-422X-2-69
21. Rolain J-M, Colson P, Raoult D. Recycling of chloroquine and its hydroxyl analogue to face bacterial, fungal and viral infections in the 21st century. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2007 Oct;30(4):297–308. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2007.05.015
22. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Research*. 2020 Mar 4;30(3):269–71. doi: 10.1038/s41422-020-0282-0
23. Colson P, Rolain JM, Lagier JC, Brouqui P, Raoult D. Chloroquine and hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020;55(4). doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105932
24. Gordon DE, Jang GM, Bouhaddou M, Xu J, Obernier K, White KM, et al. A SARS-CoV-2 protein interaction map reveals targets for drug repurposing. *Nature* 2020 583:7816. 2020 Apr 30;583:459–68. doi: 10.1038/s41586-020-2286-9
25. Szendrey M, Guo J, Li W, Yang T, Zhang S. COVID-19 Drugs Chloroquine and Hydroxychloroquine, but Not Azithromycin and Remdesivir, Block hERG Potassium Channels. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2021 May 1;377(2):265–72. doi: 10.1124/JPET.120.000484
26. Braz HLB, Silveira JA de M, Marinho AD, de Moraes MEA, Moraes Filho MO de, Monteiro HSA, et al. In silico study of azithromycin, chloroquine and hydroxychloroquine and their potential mechanisms of action against SARS-CoV-2 infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2020 Sep 1;56(3):106119. [accessed 14 May 2022] Available from: /pmc/articles/PMC7390782/
27. Montero Sánchez JM. Molecular modeling methodologies in the design, synthesis and rational explanation of results Title in Spanish: Metodologías de modelado molecular en el diseño, síntesis y explicación racional de resultados. Corresponding Author: jmsm@ucm.es *An Real Acad Farm*. 2016 Jun 20;82(2):168–84. [accessed 10 May 2021] Available from: https://analesranf.com/wp-content/uploads/2016/82_02/8202_04.pdf
28. Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, et al. DrugBank 5.0: A major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic Acids Research*. 2018 Jan 1;46(1):1074–82. doi: 10.1093/NAR/GKX1037

29. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Research*. 2021 Jan 8;49(1):1388–95. doi: 10.1093/NAR/GKAA971
30. Gasteiger E, Hoogland C, Gattiker A, Duvaud S, Wilkins MR, Appel RD, et al. *The Proteomics Protocols Handbook*. Walker JM, editor. New Jersey: Humana Press; 2005. 576–600 p.
31. Bateman A, Martin MJ, Orchard S, Magrane M, Agivetova R, Ahmad S, et al. UniProt: the universal protein knowledgebase in 2021. *Nucleic Acids Research*. 2021 Jan 8;49(1):480–9. doi: 10.1093/NAR/GKAA1100
32. Burley SK, Bhikadiya C, Bi C, Bittrich S, Chen L, Crichlow G v., et al. RCSB Protein Data Bank: powerful new tools for exploring 3D structures of biological macromolecules for basic and applied research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology, bioengineering and energy sciences. *Nucleic Acids Research*. 2021 Jan 8;49(1):437–51. doi: 10.1093/NAR/GKAA1038
33. Gaulton A, Hersey A, Nowotka ML, Patricia Bento A, Chambers J, Mendez D, et al. The ChEMBL database in 2017. *Nucleic Acids Research*. 2017 Jan 4;45(1):945–54. doi: 10.1093/NAR/GKW1074
34. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. 1994 Nov 11;22(22):4680. doi: 10.1093/NAR/22.22.4673
35. Schrödinger L, DeLano W. PyMOL. 2020. [accessed 18 Jan 2022] Available from: <http://www.pymol.org/pymol>
36. Salentin S, Schreiber S, Haupt VJ, Adasme MF, Schroeder M. PLIP: fully automated protein–ligand interaction profiler. *Nucleic Acids Research*. 2015 Jul 1;43(1):443–7. doi: 10.1093/NAR/GKV315
37. Brenke R, Kozakov D, Chuang GY, Beglov D, Hall D, Landon MR, et al. Fragment-based identification of druggable ‘hot spots’ of proteins using Fourier domain correlation techniques. *Bioinformatics*. 2009 Mar;25(5):621. doi: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTP036
38. Cimermancic P, Weinkam P, Rettenmaier TJ, Bichmann L, Keedy DA, Woldeyes RA, et al. CryptoSite: Expanding the Druggable Proteome by Characterization and Prediction of Cryptic Binding Sites. *Journal of Molecular Biology*. 2016 Feb 22;428(4):709–19. doi: 10.1016/J.JMB.2016.01.029

39. Volkamer A, Kuhn D, Rippmann F, Rarey M. DoGSiteScorer: a web server for automatic binding site prediction, analysis and druggability assessment. *Bioinformatics*. 2012 Aug 1;28(15):2074–5. doi: 10.1093/BIOINFORMATICS/BTS310
40. Morris GM, Ruth H, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J Comput Chem*. 2009 Dec;30(16):2791. doi: 10.1002/JCC.21256
41. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31(2):461. doi: 10.1002/JCC.21334
42. Halgren TA. Merck Molecular Force Field. I. Basis, Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94*. *Journal of Computational Chemistry*. 1996;17:490–519. doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P
43. Morris GM, Goodsell DS, Halliday RS, Huey R, Hart GE, Belew RK, et al. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function - Morris - 1998 - *Journal of Computational Chemistry* - Wiley Online Library. *Journal of Computational Chemistry*. 1999 Jan 6;19(14):1639–62. doi: 10.1002/(SICI)1096-987X(19981115)19:14<1639::AID-JCC10>3.0.CO;2-B
44. Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*. 2012 Aug;4(8). doi: 10.1186/1758-2946-4-17
45. Hoffman B, Taylor P. Goodman & Gilman. *Las bases Farmacológicas de la Terapéutica* 13^a Edición. 13th ed. Brunton L, Hilal-Dandan R, Knollmann B, editors. New York: McGraw-Hill; 2019. 139–140 p.
46. Kable JW, Murrin LC, Bylund DB. In Vivo Gene Modification Elucidates Subtype-Specific Functions of α 2-Adrenergic Receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2000 Apr;293(1). [accessed 17 Jul 2021] Available from: <https://jpet.aspetjournals.org/content/293/1/1>
47. Thal DM, Sun B, Feng D, Nawaratne V, Leach K, Felder CC, et al. Crystal structures of the M1 and M4 muscarinic acetylcholine receptors. *Nature*. 2016 Mar 9;531:335–40. doi: 10.1038/nature17188
48. Haga K, Kruse AC, Asada H, Yurugi-Kobayashi T, Shiroishi M, Zhang C, et al. Structure of the human M2 muscarinic acetylcholine receptor bound to an antagonist. *Nature*. 2012 Feb 25;482:547–51. doi: 10.1038/nature10753

49. Harper HA (Harold A, Murray RK. Harper bioquímica ilustrada. 29th ed. México DF: McGraw-Hill; 2013. 1–816 p.
50. Custódio TF, Paulsen PA, Frain KM, Pedersen BP. Structural comparison of GLUT1 to GLUT3 reveal transport regulation mechanism in sugar porter family. *Life Science Alliance*. 2021 Apr 3;4(4):1–12. doi: 10.26508/lsa.202000858
51. Klepper J, Wang D, Fischbarg J, Vera JC, Jarjour IT, O’Driscoll KR, et al. Defective Glucose Transport Across Brain Tissue Barriers: A Newly Recognized Neurological Syndrome. *Neurochemical Research* 1999 24:4. 1999;24(4):587–94. doi: 10.1023/A:1022544131826
52. Pearson WR. An Introduction to Sequence Similarity (“Homology”) Searching. *Current Protocols in Bioinformatics*. 2013 Jun 1;42(1):311–8. doi: 10.1002/0471250953.BI0301S42
53. Morgado-Carrasco D, Ibaceta-Ayala J, Piquero-Casals J. La hidroxiclороquina como fármaco fundamental en dermatología y su papel controvertido en la COVID-19. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2022 Feb 1;113(2):166–75. doi: 10.1016/J.AD.2021.07.005
54. de Luca Monasterios F, Roselló Llabrés X. De Luca Monasterios F, Roselló Llabrés X. Etiopatogenia y diagnóstico de la boca seca Etiopathogenesis and diagnosis of dry mouth. *Av Odontoestomatol*. 2014 Mar 19;30(3):121–8. [accessed 12 May 2022] Available from: <https://scielo.isciii.es/pdf/odonto/v30n3/original2.pdf>
55. Smith ER, Klein-Schwartz W, Love JN. Are 1–2 dangerous? Chloroquine and hydroxychloroquine exposure in toddlers. *Journal of Emergency Medicine*. 2005 May 1;28(4):437–43. doi: 10.1016/J.JEMERMED.2004.12.011
56. Bamber MG, Redpath A, Arya TV, Prasad RN. CHLOROQUINE AND HYPOGLYCAEMIA. *The Lancet*. 1987 May 23;329(8543):1211. doi: 10.1016/S0140-6736(87)92188-X
57. Cansu DÜ, Korkmaz C. Hypoglycaemia induced by hydroxychloroquine in a non-diabetic patient treated for RA. *Rheumatology*. 2008 Mar 1;47(3):378–9. doi: 10.1093/RHEUMATOLOGY/KEM378
58. Winter EM, Schrandt-van Der Meer A, Eustatia-Rutten C, Janssen M. Unexpected outcome (positive or negative) including adverse drug reactions: Hydroxychloroquine as a glucose lowering drug. *BMJ Case Reports*. 2011;2011. doi: 10.1136/BCR.06.2011.4393
59. Dai Y, Lin G, Shi D. Hypoglycemia Induced by Hydroxychloroquine Sulfate in a Patient Treated for Connective Tissue Disease Without Diabetes Mellitus. *Clinical Therapeutics*.

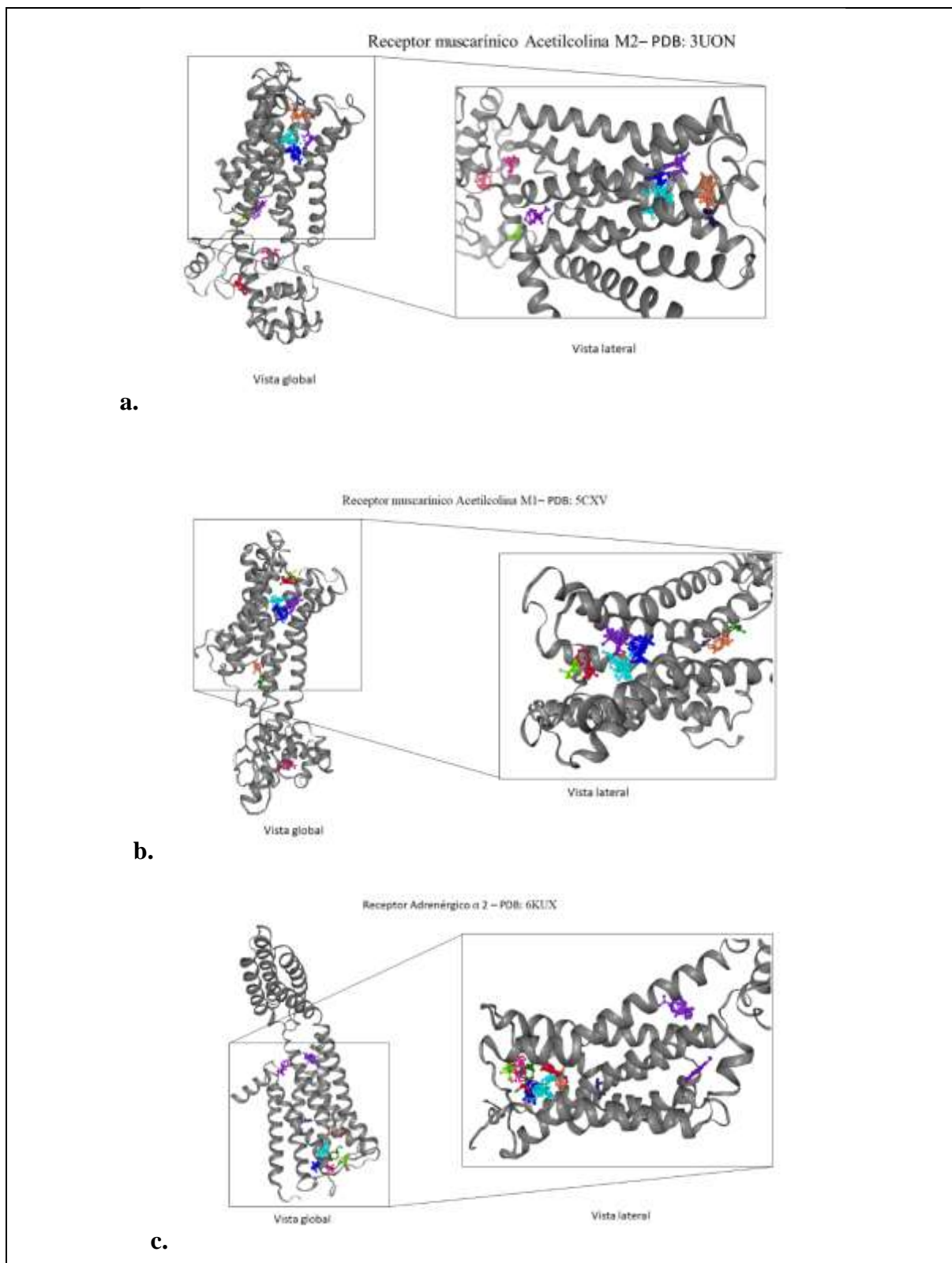
- 2020 May 1;42(5):940–5. [accessed 15 May 2022] Available from: <http://www.clinicaltherapeutics.com/article/S0149291820301764/fulltext>
60. Araiza-Casillas R, Díaz-Molina R, González-Ortiz M, Robinson-Navarro OM. Efecto de la hidroxicloroquina sobre la sensibilidad a la insulina y el perfil de lípidos en pacientes con artritis reumatoide. *Revista médica de Chile*. 2013;141(8):1019–25. [accessed 15 May 2022] Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872013000800008&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Q9BYF1	LENV---VGAKN-MNVRPLLNYFEPLFTWLKDQNKNSFVWGSTDWSPYADQSIKVRISLK	625
Q12809	RGSIIEILRGDVVVAAILGKNDIFGEPLNLYARPKSNGDVR---ALTYCDLHKIHRDDLL	839
P08913	-----A-----VISFPPLISIEKKGGGGPQP-----AEPRCEI-----	205
P11229	-----F-----VLWAPAILFWQYLVGERTVLA-----GQCYIQF-----	182
P08172	-----F-----ILWAPAILFWQFIVGVRTVED-----GECYIQF-----	180
	:	
Q9BYF1	SALGDKAYEWNNDNMYLFRSSVAYAMRQYFLKVKNQMI-----LFGCEEDVRVANLKPR	678
Q12809	E-VLDMYPEFSDHFWs----SLEI---TFNLRDTNMIPGSPGSTELEGGFS-R--QRKRK	888
P08913	-----NDQKWY---VISSCIGSFFAPCLMIL-----VYVRIY-Q--IAK--	239
P11229	-----LSQPII---TFGTAMAAFYLPVTVMCT-----LYWRIY-R--ETE--	216
P08172	-----FSNAAV---TFGTAAIAFYLPVIIMTV-----LYWHIS-R--ASK--	214
	: : : : :	
Q9BYF1	ISFNFF---VTAPKNVSDIIPRTEVEKAIMRSRSRINDAFR-----	716
Q12809	LSFRRRTDKDTEQPGEVsALGPGRAG--AGPSSRGRPGGPWGESPSSGSPSPESSEDEGP	946
P08913	---RRTRVPPS-----RRGPDAVA--APPGGTERRPNGLGPERSAGPGGAEA-----	281
P11229	---NRARELAA-----LQGSETPG--KG-GGSSS-SS-----ERSQPG-----	247
P08172	---SRIKKDKKEP--VANQDPVSPS--LV-QGRIVKPN-----NNMPSSDDG-----	254
	: .	
Q9BYF1	-LNDNSLEFLGIQPTLGPPNQPVSIIWLIVFGVVMGVIVVGVILIFTGIRDKKKNKAR	775
Q12809	GRSSSPLRLVPFS-SPRPPGEPGGGEPLMEDCEK-SSDTCNPLSGAFS-----	992
P08913	-----EPLPTQ-LNGAPGEPAPAG-----RDTDAL-----DL---	308
P11229	-----AEGSPETPPGRCCRCRAPR-----LLQAY--SW-KEEEEE---	280
P08172	-----LEHNKIQ-NGKAPRDPVTENCVQGEKE-SSNDSTSVSAVASNMRDEITQ---	303
	* * :	
Q9BYF1	SGENPYASIDISKGENNPGF-----	795
Q12809	---GVSNI-FSFWGDSRGRQY-----QELPRCPAPT-----PSLLNIPLSS	1029
P08913	-EES---SS-SDHAERPPGPRRPERGPRKGGKARASQVKPGDSLPRRGPATGIGTPA--	361
P11229	-DEGSMEsL-TSSEGEPEGEVVIKMPMDPEAQAPTKQPPRSSPNTVKRPTKKGRDRAG	338
P08172	-DENTVSTs-LGHsKDENSKQTCIRIGTKPKSDS--CTPTNTTVEVVG-----S	349
	: .	
Q9BYF1	---QNTDDVQTSF-----	805
Q12809	PGRRPRGDVESRLDAL----QRQLNRL-----ETRLSADMATVLQLLQRQMTLVPPAY	1078
P08913	---AGPG--EERVGAAGA---SRWRGRQNRKRFVFLAVVIG--VFVVCWFPFFF	407
P11229	KGQKPRG--KEQLAK-----RKTFSLVKEKKAARTLSAILL--AFILTWTPTYNI	383
P08172	SGQNGDE--KQNIIVARKIVKMTKQPAKKKPPPSREKKVTRTILAILL--AFIITWAPYNV	405
	: .	
Q9BYF1	-----	805
Q12809	SAVTTPGPGTSTSPLLPVS-----PLP--TLTLDLSQVSQFMACEELPPGAP	1125
P08913	TYTTLT-AVGCsVPRTLFKFFFWFGYCNSsLNPNVIYTFNHDFRRAFKKIL-CRGDRKRIV	465
P11229	MVLVSTFCkDCVPETLWELGYWLCYVNSTINPMCYALCNKAFRDTFRLLLLCRWDKRRWR	443
P08172	MVLINTFCAPCIPNTVWTIGYWLCYINSTINPACYALCNATFKKTFKLLMCHYKNIGAT	465
	: .	
Q9BYF1	-----	805
Q12809	ELPQEGPTRRLSLPGQLGALTSQPLHRHGSDPGS	1159
P08913	-----	465
P11229	KIPK-----RPGSVHRTPSRQC-----	460
P08172	R-----	466

Figura 2. Comparación de aminoácidos entre ECA2 vs ADR2 vs ACT1 vs ACT2, extraído de Clustal W(34).

Enzima convertidora de Angiotensina 2 (Q9BYF1), Receptor Adrenérgico α 2(P09813), Receptor muscarínico Acetilcolina M1 (P11229), Receptor muscarínico Acetilcolina M2(P08172).

Anexo 2:



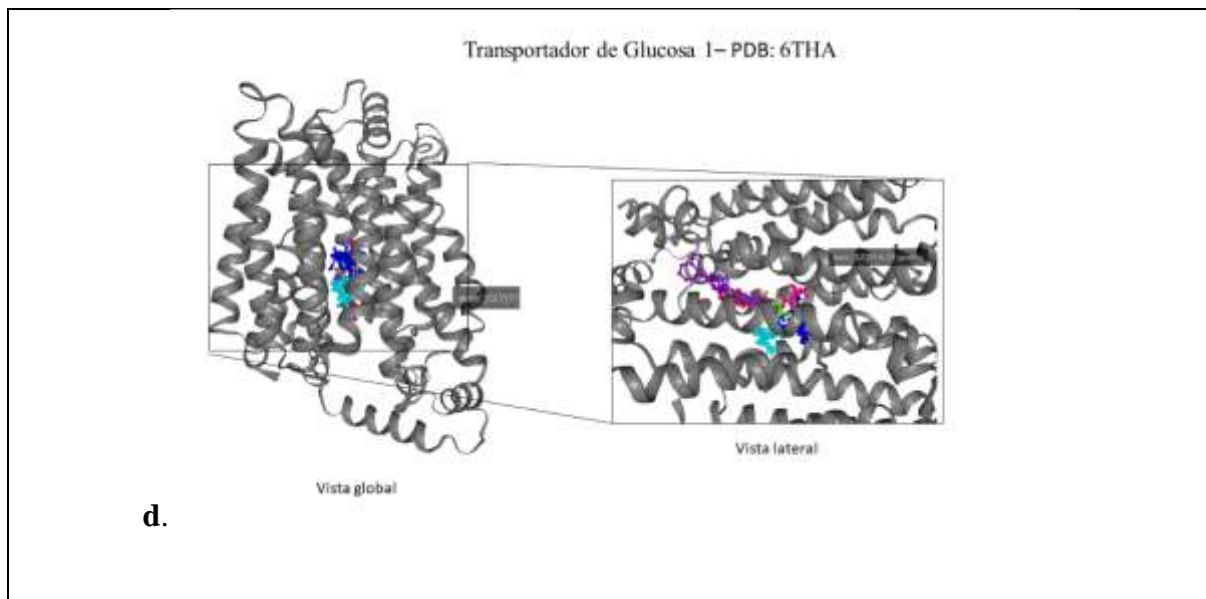


Figura 3. Pocket determinados de las estructuras proteicas estudiadas

a) Pocket de interacción ACT2-HCQ. b) Pocket de interacción ACT1-HCQ. c) Pocket de interacción ADR2-HCQ. d) Pocket de interacción GLUT-1 – HCQ. Para cada una de las imágenes se presentan las diferentes moléculas usadas por FTMAP(37), Cryptic binding Site Queue (38) y DoGSiteScorer(39).