

Gayozo E, Rojas L. Análisis del acoplamiento molecular de las moléculas Baicaleína y Baicalina como posibles bloqueantes de la trimerización de la glicoproteína de la espiga del SARS-CoV2. Rev. Soc. cient. Parag. 2022;27(2):101-121.

<https://doi.org/10.32480/rscp.2022.27.2.101>

Recibido: 15/03/2021. Aceptado: 7/07/2022.

ARTÍCULO ORIGINAL
ORIGINAL ARTICLE

Análisis del acoplamiento molecular de las moléculas Baicaleína y Baicalina como posibles bloqueantes de la trimerización de la glicoproteína de la espiga del SARS-CoV2

Molecular docking analysis of Baicalein and Baicalin molecules as possible blockers of trimerization of SARS-CoV2 glycoprotein spike

Elvio Gayozo¹ , Laura Rojas² 

¹Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental. San Lorenzo, Paraguay.

²Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial. San Lorenzo, Paraguay.

Autor correspondiente: elviologo@gmail.com

Resumen: La glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2 se encuentra involucrada en el proceso de reconocimiento e infección viral. Debido a esto, la comunidad científica lo considera como blanco para la búsqueda de moléculas bioactivas de origen natural para combatir la Covid-19. Los flavonoides baicaleína y baicalina presentan actividades antivirales contra una gran cantidad de virus, por lo que son buenos candidatos para estudiar su efecto antiviral contra el SARS-CoV2. A fin de identificar y caracterizar in silico las afinidades de interacción de los flavonoides baicaleína y baicalina en el sitio de trimerización de la espiga del SARS-CoV2, se llevaron a cabo pruebas de simulaciones computacionales de acoplamiento molecular entre estos flavonoides y la estructura proteica de la espiga viral en conformaciones cerrada y abierta del ectodominio RBD. Los resultados evidenciaron a la baicaleína en interacción favorable en sitios proximales a la región de trimerización de la proteína, con una $\Delta G_b = -9,12 \pm 0,39$ kcal.mol⁻¹ y la participación activa de los residuos Arg995, Asp994, Thr998 y Tyr756. Sin embargo, la baicalina demostró afinidad de acoplamiento significativamente favorable ($p < 0,001$) con el sitio de trimerización de esta glicoproteína, con un $\Delta G_b = -9,58 \pm 0,18$ kcal.mol⁻¹ y la participación activa de los residuos Pro728, Glu780, Ala1020,



Artículo publicado en acceso abierto bajo Licencia Creative Commons.

Leu1024, Lys1028 y Ser1030. Estos hallazgos sugieren que la presencia de ambos flavonoides en interacción con la región de trimerización o en sitios proximales a esta, podrían bloquear el proceso de ensamblaje de esta proteína viral pudiendo interferir con el ciclo replicativo viral, por lo tanto, ambas moléculas pueden ser consideradas como potenciales candidatos para posteriores estudios experimentales.

Palabras clave: espiga viral S, SARS-CoV2, flavonoides, acoplamiento molecular.

Abstract: The spike S glycoprotein of SARS-CoV2 is involved in the process of viral recognition and infection. Due to this, the scientific community considers it as a target to search bioactive compounds with natural origin to combat Covid-19. The flavonoids baicalein and baicalin have antiviral activities against a large number of viruses, so they are good candidates to study their antiviral effect against SARS-CoV2. In order to identify and to characterize in silico the interaction affinities of the flavonoids baicalein and baicalin at trimerization site of SARS-CoV2 spike protein, computational simulations of molecular docking were performed between these flavonoids and the viral protein structure in closed and open conformations of RBD ectodomain. The results showed that baicalein had a favorable interaction at proximal sites of trimerization region of the protein, with $\Delta G_b = -9.12 \pm 0.39$ kcal.mol⁻¹ and active participation of the residues Arg995, Asp994, Thr998 and Tyr756. However, baicalin demonstrated significantly favorable binding affinities ($p < 0.001$) at the glycoprotein trimerization site, with a $\Delta G_b = -9.58 \pm 0.18$ kcal.mol⁻¹ and active participation of the residues Pro728, Glu780, Ala1020, Leu1024, Lys1028 and Ser1030. These findings suggest that the presence of both flavonoids in interaction with the trimerization region or proximal sites of this region, could block the assembly process of this viral protein and also could interfere the viral replication cycle, therefore, both compounds can be considered as potential candidates for further experimental studies.

Keywords: viral spike S, SARS-CoV2, flavonoids, molecular docking.

1. INTRODUCCIÓN

La glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2 cumple un papel fundamental en el proceso de infección ya que participa en el reconocimiento de la proteína enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), para encaminarse a la fusión y posterior internalización del virus⁽¹⁾. La interacción ocurre específicamente entre el ectodominio RBD de la glicoproteína viral de la espiga (S) y el dominio peptidasa (PD) de la ACE2, este acoplamiento conlleva al clivaje de

la glicoproteína de la espiga (S) por parte de la furina y así dar lugar a una estructura postfusión que interactúa con la proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2)⁽²⁾.

La glicoproteína de la espiga es un homotrímero conformado por tres protómeros (cadenas A, B y C) que se encuentran interaccionando entre sí (trimerización) para formar una estructura cuaternaria de prefusión con dos dominios (S1 y S2), conformados por los dominios N-terminal (NTD), el dominio de unión al receptor (RBD), péptido de fusión (FP), hélice central (CH), el dominio conector (CD), los dominios de repeticiones heptad 1 y 2 (HR1 y HR2), el dominio transmembranoso (TM) y finalmente el dominio C-terminal (CTD) (Figura 1)^(1,3).

La comunidad científica ha puesto en la mira a esta glicoproteína de la espiga por el importante papel que cumple en el proceso de infección. Neutralizar sus funciones se ha convertido en uno de los objetivos fundamentales en la lucha contra la Covid-19, tanto en la elaboración de las vacunas, o en la búsqueda de fármacos o moléculas pequeñas de origen natural con posibles efectos sobre la glicoproteína⁽⁴⁻⁷⁾. Bongini y colaboradores⁽⁸⁾ sugieren que una posible estrategia para luchar contra el SARS-CoV2 sería evitando la formación de la estructura cuaternaria de la espiga viral, mediante el bloqueo de la trimerización de esta glicoproteína.

Las moléculas baicaleína (5,6,7-trihidroxiflavona) y baicalina (5,6-dihidroxi-7-O-glucuronido flavona), son flavonoides que se han descrito en las especies *Scutellaria baicalensis*, *Scutellaria radix* y *Scutellaria lateriflora*, sin embargo, también se cree que podrían encontrarse en otras especies del género *Scutellaria*, algunas de las cuales se encuentran presentes en países de Sudamérica^(9,10). La baicaleína es metabolizada en baicalina en la sangre, por lo que ambas formas baicaleína y la baicalina coexisten en el organismo⁽¹¹⁻¹³⁾. Se han registrado de estas moléculas un sinnúmero de propiedades beneficiosas para la salud humana entre las cuales una de las más resaltantes son sus actividades principalmente antivirales⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

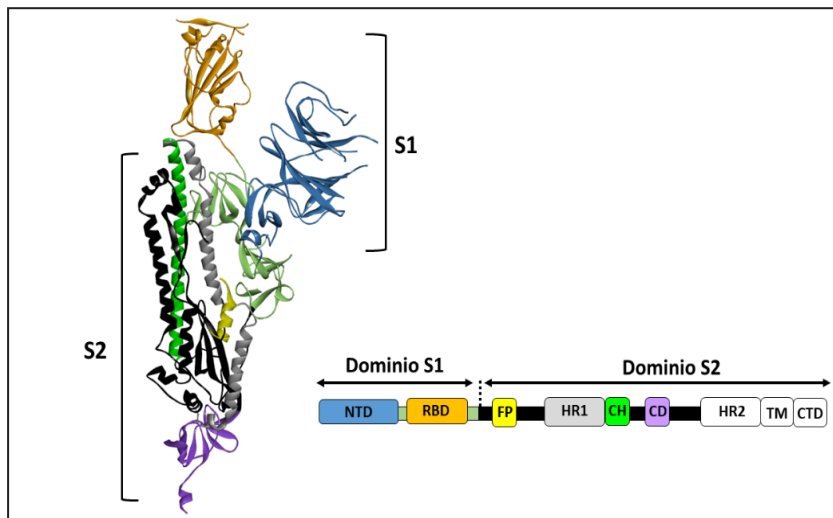


Figura 1. Estructura de protómeros A de la glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2. NTD: dominio N-terminal, RBD: dominio de unión a receptor, FP: péptido de fusión, HR1: dominio de repeticiones heptad 1, CH: hélice central, CD: dominio conector.

Estudios han demostrado actividades inhibitorias de la baicaleína ante el virus de la Influenza A/FM1/1/47 (H1N1), mediante interferencias en la síntesis de ARNm viral, también se ha observado actividades inhibitorias de la replicación del virus de la Encefalitis Japonesa (JEV), inhibición de la unión del virus de la Chikungunya (CHIKV) a células hospederas y sus efectos sobre la síntesis del ARN viral, así mismo, se ha descrito actividades virucidas extracelulares contra el Enterovirus 71 (EV-A71)⁽¹⁷⁻²⁰⁾. Además, se ha observado que la baicalina podría ser capaz de inhibir a la proteína NS5 del virus del Zika (ZIKV), y también ejercer sinergismo a las actividades antivirales de la baicaleína en sistemas *in vivo* por la coexistencia de ambas⁽²¹⁾.

Recientemente, se ha observado que la baicaleína es capaz de disminuir la replicación del SARS-CoV2, y al igual que la baicalina podría bloquear la actividad de la proteasa viral 3CLpro⁽²²⁾. Sin embargo, se ha descrito que el extracto etanólico de la *S. baicalensis* es capaz de inhibir *in vitro* en una baja proporción (<30%) la entrada del SARS-CoV2 en células Vero⁽²³⁾.

En el presente estudio registramos *in silico* la probable interacción de las moléculas baicalina y baicaleína con el sitio de trimerización o en regiones próximas a esta dentro de la glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2, por lo que las mismas podrían bloquear o afectar a la trimerización de la glicoproteína viral durante su ensamblaje. Se espera esta investigación pueda

apoyar al desarrollo de nuevas estrategias antivirales mediante el empleo de estos compuestos naturales para luchar contra el avance de la Covid-19.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Determinación y caracterización de sitios activos drogables en la región de trimerización de la glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2

Los sitios activos drogables en la región de trimerización de la espiga viral fueron identificados y caracterizados empleando la herramienta DoGSiteScorer⁽²⁴⁾ para ello se utilizaron diferentes conformaciones de la glicoproteína de la espiga (ectodominio RBD abierto y cerrado) (PDB: 6VSB, 6VXX respectivamente). La caracterización fue realizada mediante la determinación de descriptores como las dimensiones del sitio activo drogable, grupos funcionales presentes en dicho sitio, así como la composición de residuos identificados en el mismo, también se estimó el índice de drogabilidad de dicho sitio⁽²⁴⁾.

2.2. Análisis del acoplamiento molecular entre la baicaleína, baicalina y la glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2

La estructura molecular de la espiga S del SARS-CoV2 en sus diferentes conformaciones del dominio RBD (abierto y cerrado) fueron obtenidas de la base de datos Protein Data Bank (PDB: 6VSB, 6VXX)⁽²⁵⁾. La estructura molecular de los ligandos baicaleína (CID: 5281605) y baicalina (CID: 64982) se obtuvieron de la base de datos PubChem⁽²⁶⁾.

Se procedió a eliminar estructuras moleculares no proteicas que no fueron empleadas para el análisis, posteriormente se aplicó el método de campo de fuerza UFF (Universal Force Field) en conjunto con el algoritmo de optimización de gradientes conjugados a las estructuras moleculares de la baicaleína y baicalina. A continuación, se proporcionaron de cargas parciales y de átomos de hidrógeno polares presentes a pH de 7,4 a la proteína y a los ligandos, para todo esto se empleó el programa Avogadro 1.2⁽²⁷⁾.

Las pruebas de acoplamiento molecular se llevaron a cabo utilizando el modelo tipo receptor-ligando entre la glicoproteína de la espiga del SARS-CoV2 y las moléculas de baicaleína y baicalina en un total de cincuenta réplicas, a modo de disminuir el grado de incerteza en las simulaciones⁽²⁸⁾, para ello se emplearon grillas de acoplamiento con dimensiones de 119x120x169 Å³ y 119x125x158 Å³ respectivamente, para lo cual se utilizó el programa AutoDock Vina⁽²⁹⁾.

La visualización y el análisis de los complejos resultantes de las pruebas de acoplamiento molecular se realizaron empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20⁽³⁰⁾. Los datos obtenidos de energía libre de interacción (ΔG_b) de los ligandos en acoplamiento con el sitio de trimerización o en regiones proximales a esta fueron analizados mediante el test de Mann-Whitney (5% de nivel de significancia), para ello se utilizó el programa PAST v.4.10⁽³¹⁾.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de la glicoproteína de la espiga (S) en su conformación abierta del ectodominio RBD, demostró la presencia de un sitio altamente drogable importante, este se encuentra en la región de trimerización de la espiga con un índice de drogabilidad igual a 0,81. El análisis de la drogabilidad de un sitio nos permite conocer la aptitud de un sitio, un dominio o una región de la proteína para ser utilizado como blanco para la búsqueda o diseño de moléculas con potenciales inhibidores, a medida que el puntaje calculado es cercano a 1 mucho más drogable es el sitio⁽²⁴⁾. Dicho sitio posee un volumen de 3702,14 Å³, una superficie de 4015,58 Å² y una profundidad de 44,57 Å. Se encuentran 618 átomos, con la presencia de 87 grupos funcionales capaces de actuar como donadores en los puentes de hidrógeno, 195 grupos funcionales con capacidades de actuar como aceptores puentes de hidrógeno y 137 grupos funcionales capaces de formar interacciones hidrofóbicas, la proporción hidrofóbica del sitio fue del 33%. Además, se registró la presencia de residuos apolares en un 41%, residuos polares en un 36%, residuos básicos en un 15% y residuos ácidos en un 9%, siendo los residuos más abundantes la Gln, la Ala, la Leu, la Arg, la Ile, la Ser y la Thr (Figura 2.A).

En la conformación cerrada del RBD se pudo identificar la presencia de un sitio activo drogable importante también dentro de la región de trimerización, presentó un índice de drogabilidad igualmente alto con un valor de 0,80. El volumen del sitio fue de 3371,28 Å³, una superficie de 3232,56 Å² y una profundidad de 33,12 Å. Se registró la presencia de 572 átomos, 62 grupos funcionales con capacidades de actuar como donadores en puentes de hidrógeno, 210 grupos funcionales capaces de actuar como aceptores en los puentes de hidrógeno y 114 grupos funcionales capaces de formar interacciones hidrofóbicas, la proporción hidrofóbica del sitio fue del 30%. Se encuentra conformado por 37% de residuos apolares, 44% de residuos polares, 12% de residuos básicos y 7% de residuos ácidos, hallándose en mayor proporción los residuos de Gln, Ala, Thr, Arg, Leu, Ile y Phe (Figura 2.B). Estos datos sugieren que el sitio de trimerización de la espiga viral de SARS-CoV2 es un buen blanco para dirigir contra ella la búsqueda de moléculas o fármacos con potenciales actividades inhibitoras del sitio⁽²⁴⁾, esto concuerda

con las observaciones de Bongini y colaboradores⁽⁸⁾ quienes describen la presencia de sitios drogables en la región de trimerización de la espiga viral del SARS-CoV2.

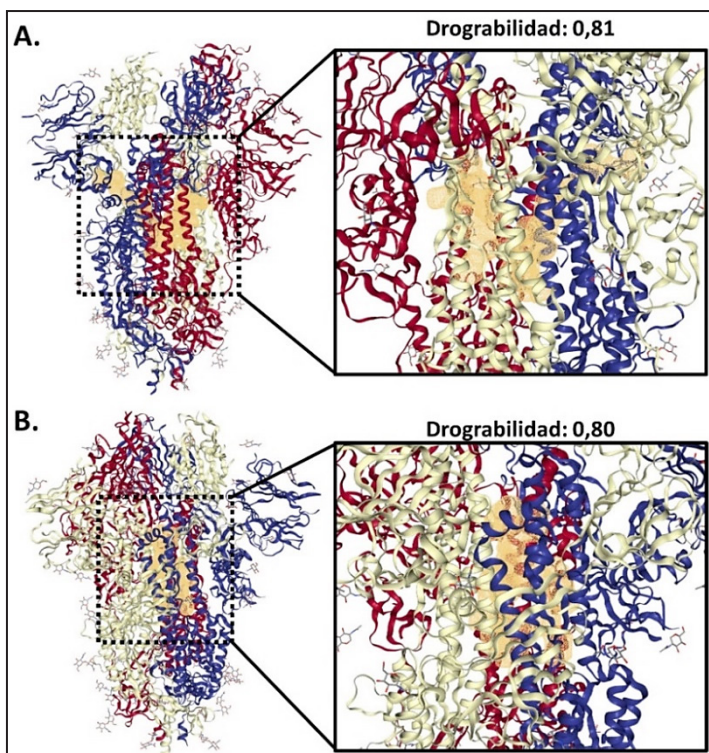


Figura 2. Sitio activo drogable en la región de trimerización de la glicoproteína de la espiga (S) del SARS-CoV2 (área resaltada en naranja). **A.** Ectodominio abierto (PDB: 6VSB). **B.** Ectodominio cerrado (PDB: 6VXX). Protómero A: rojo, Protómero B: blanco, Protómero C: azul.

Las pruebas de acoplamiento molecular realizadas con la conformación del ectodominio RBD abierta evidenció que la baicaleína presenta afinidades de interacción en regiones proximales del sitio de trimerización de la espiga viral, fuera del sitio drogable identificado. El complejo formado reveló un valor promedio de energía libre de unión ΔG_b de $-9,12 \pm 0,39$ kcal.mol⁻¹. La baicaleína posee una superficie molecular de ~ 250 Å².molécula⁻¹ y un volumen de ~ 223 Å³.molécula⁻¹ alojado en regiones proximales del sitio de trimerización (Figura 3.A,B).

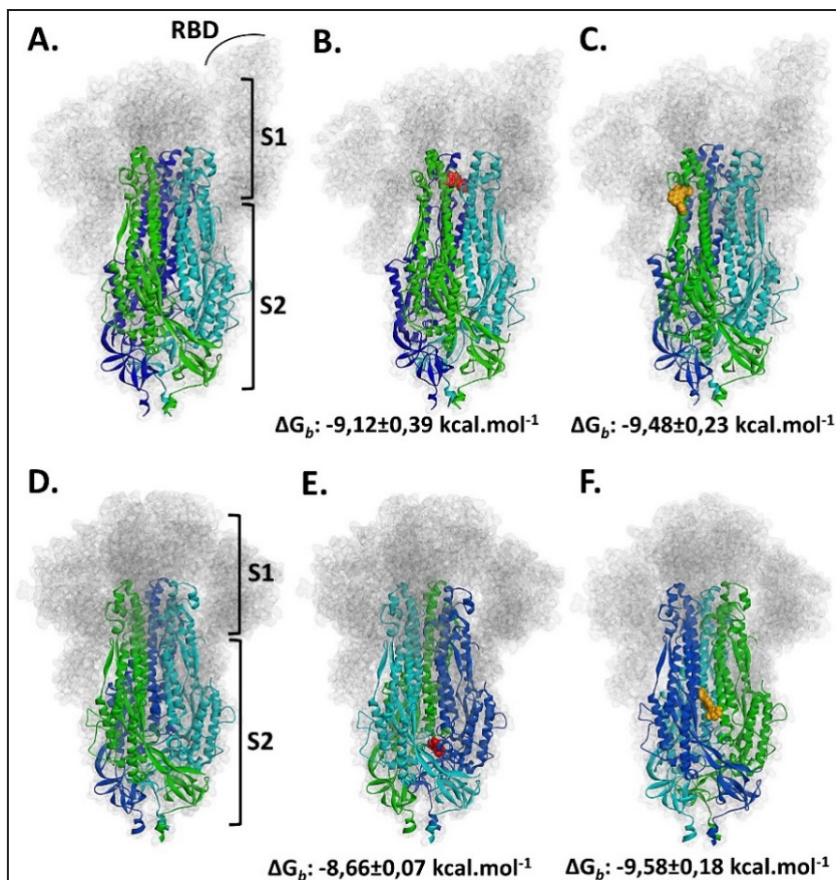


Figura 3. Sitio de trimerización de la espiga viral. (A) Conformación RBD abierta (PDB: 6VSB). Verde: Protómero A, Celeste: Protómero B, Azul: Protómero C. (B) Acoplamiento de la baicaleína (modelo rojo) con la glicoproteína de la espiga (RBD abierta). (C) Interacción de la baicalina (modelo naranja) con la espiga viral (RBD abierta). (D) Conformación RBD cerrada (PDB: 6VXX). (E) Acoplamiento de la baicaleína (modelo rojo) en la glicoproteína de la espiga (S) (RBD cerrada). (F) Interacción de la baicalina (modelo naranja) en la glicoproteína viral (RBD cerrada). ΔG_b : energía libre de interacción.

La molécula baicalina no demostró afinidades por la región de trimerización sino fuera de la misma. La energía libre de interacción promedio estimada para el complejo formado fue de $-9,48 \pm 0,23 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Figura 3.A,C). Es importante destacar que en la conformación abierta del ectodominio RBD solo la baicaleína presenta una localización favorable en regiones proximales del sitio de trimerización de la glicoproteína de la espiga (protómeros A, B y C), no así la baicalina (Figura 4.A,B).

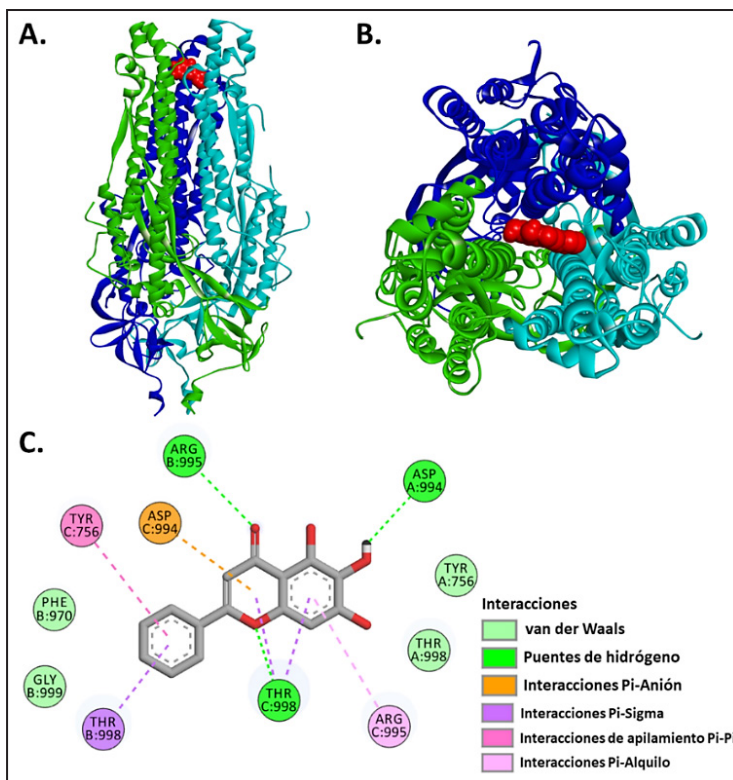


Figura 4. Acoplamiento molecular de la baicaleína en el sitio de trimerización de la glicoproteína de la espiga (S) (RBD abierto). Verde: Protómero A, Celeste: Protómero B, Azul: Protómero C. (A) Vista lateral y (B) superior del sitio de interacción de la baicaleína (modelo rojo). (C) Representación bidimensional (2D) del modelo de acoplamiento de la baicaleína. A: Protómero A, B: Protómero B, C: Protómero C.

Los residuos activos implicados en la interacción con la molécula baicaleína en el complejo de interés fueron el Asp994(A), Arg995(B), Thr998(B), Arg995(C), Thr998(C), Tyr756(C) y Asp994(C). Se registró la formación de puentes de hidrógeno entre el ligando y los residuos Asp994(A), Arg995(B) y Thr998(C) con distancias promedios de 4,25, 5,21 y 4,14 Å respectivamente entre la baicaleína y estos aminoácidos (Figura 4.C). Estos residuos se encuentran entre los reportados por Xiu y colaboradores⁽³²⁾, quienes mencionan que los aminoácidos aa947-aa1027 interaccionan con moléculas de umifenovir evitando la trimerización de la espiga del SARS-CoV2.

También se identificó la formación de interacciones electrostáticas entre los orbitales π presentes en la baicaleína y las cargas negativas del residuo

Asp994(C) con una distancia promedio de 7,21 Å. Además, se observó la formación de interacciones hidrofóbicas entre orbitales π de la baicaleína y la cadena de alquilo del residuo Arg995(C) con distancias promedio de 5,08 Å. Con el residuo Thr998(B) y Thr998(C) se registraron interacciones del entre los orbitales π y orbitales σ presentes en estos residuos y el ligando, con distancias de 4,80, 4,14 y 5,15 Å respectivamente entre baicaleína y estos residuos.

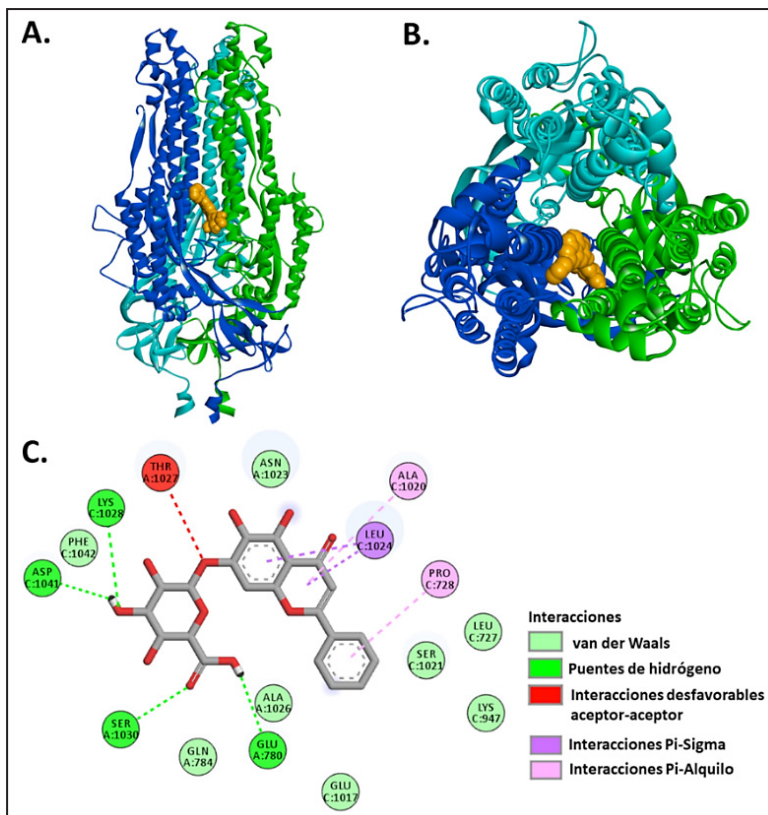


Figura 5. Acoplamiento molecular de la baicaleína en el sitio de trimerización de la glicoproteína de la espiga viral (RBD cerrado). Verde: Protómero A, Celeste: Protómero B, Azul: Protómero C. (A) Vista lateral y (B) superior del sitio de interacción de la baicaleína (modelo naranja). (C) Representación bidimensional (2D) del modelo de acoplamiento de la baicaleína. A: Protómero A, C: Protómero C.

Así mismo se detectó la formación de interacciones generadas por apilamientos de orbitales π presentes en la baicaleína y en el residuo Tyr756(C) con una

distancia promedio de 6,54 Å. El bolsillo de interacción se conforma por los residuos Tyr756(A), Thr998(A), Gly999(B) y Phe970(B) los cuales mediante interacciones de van der Waals estabilizan la localización de la baicaleína en la región de trimerización (Figura 4.C).

El acoplamiento molecular realizado entre la glicoproteína de la espiga (S) en su conformación RBD cerrada, reveló que la baicaleína no presenta afinidades de interacción por la región de trimerización, sino que tiende a localizarse favorablemente en la región subyacente a este, cercana al dominio péptido de fusión (FP), con una energía libre de interacción promedio de $-8,66 \pm 0,07$ kcal.mol⁻¹.

Sin embargo, la baicalina demostró afinidades de interacción favorables por el sitio de trimerización, la energía libre de unión registrada fue de $-9,58 \pm 0,18$ kcal.mol⁻¹. Esta molécula posee una superficie de ~ 386 Å².molécula⁻¹ y un volumen molecular de ~ 353 Å³.molécula⁻¹ (Figura 3.D,E,F, Figura 5.A,B).

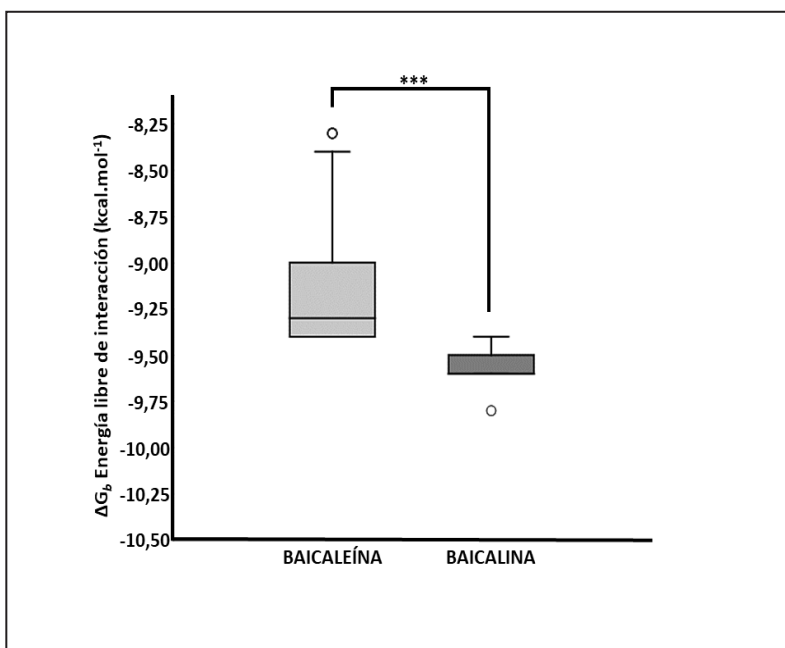


Figura 6. Valores de energía libre de interacción (ΔG_b) de los compuestos en acoplamiento con el sitio de trimerización de la glicoproteína de la espiga (S). *** $p < 0,001$.

Los residuos activos implicados en la formación de interacciones con la baicalina fueron la Ala1020(C), Leu1024(C), Pro728(C), Asp1041(C),

Lys1028(C), Glu780(A) y Ser1030(A). Se registró la formación de puentes de hidrógeno entre la baicalina y los residuos Ser1030(A), Glu780(A), Asp1041(C) y Lys1028(C) con distancias promedio de 4,87, 3,19, 4,69 y 6,51 Å respectivamente entre la baicalina y estos residuos.

Se detectó la formación de interacciones hidrofóbicas entre los orbitales π de la baicalina y las cadenas de alquilo de los residuos Ala1020(C) y Pro728(C) con distancias de 6,74 y 6,82 Å, respectivamente. Con el residuo Leu1024(C) se registró la formación de interacciones entre orbitales π y orbitales σ del residuo, con una distancia de 5,60 Å entre ellos. Así también se registraron interacciones desfavorables del tipo aceptor-aceptor entre la baicalina y el residuo Thr1027(A), ocasionada posiblemente por repulsiones entre los átomos de la baicalina y del residuo⁽³³⁾.

El bolsillo de interacción se conforma por los residuos Phe1042(C), Asn1023(A), Leu727(C), Ser1021(C), Lys947(C), Glu1017(C), Ala1026(A) y Gln784(A), los cuales favorecen a la localización de la baicalina en la región de trimerización mediante interacciones de van der Waals (Figura 5.C).

Los datos de energía libre de unión obtenidos en los complejos formados entre los ligandos (baicaleína y baicalina) y el sitio de trimerización de la glicoproteína de la espiga del SARS-CoV2, revelaron que las interacciones registradas con la baicalina demostraron ser significativamente favorables ($p < 0,001$) en comparación a la energía ΔG_b obtenida con la baicaleína, lo cual nos sugiere una mayor afinidad de interacción de la baicalina con el sitio de trimerización (Figura 6). Las diferencias en las energía libre de interacción nos permiten seleccionar u optar por moléculas que presentan un mejor modo o posicionamiento de unión en la proteínas dianas, ya que estas poseen los valores de energía de interacción más favorables ($\Delta G < 0$), y son las de mayor tiempo de interacción con las proteínas^(34,35).

Varias son las estrategias que la comunidad científica opta por investigar para combatir el avance de la Covid-19, una de ellas consiste en inhibir la actividad de la espiga (S) del SARS-CoV2 mediante la interacción de fármacos antivirales o de moléculas de origen vegetal con esta glicoproteína viral^(32,36,37).

La mayoría busca inhibir la acción del dominio RBD de la glicoproteína de la espiga (S), sin embargo, también se ha descrito la capacidad que poseen algunas moléculas de bloquear o desestabilizar la multimerización de proteínas virales⁽³⁸⁾. Bongini y colaboradores⁽⁸⁾ sugieren que el sitio de trimerización de la espiga viral del SARS-CoV2 presentan regiones drogables, lo que hace que sea buen blanco para la búsqueda de moléculas que sean

capaces de intervenir la formación de la estructura cuaternaria funcional de la glicoproteína, favorecido con la posibilidad de que la trimerización sea un proceso lento e indirecto, lo cual da la posibilidad de bloquear este evento y probablemente así interferir también con el ciclo replicativo del SARS-CoV2.

La baicaleína (5,6,7-trihidroxi flavona) y la baicalina (5,6-dihidroxi-7-O-glucuronido flavona) son flavonoides presentes en las raíces de la especie *S. baicalensis*^(9,10). Varios estudios en mamíferos evidenciaron que luego de la administración oral la baicaleína es metabolizado ~90%, convirtiéndose en la molécula 7-O- β -glucopiranonósido que es un metabolito precursor de la baicalina, catalizada por la UDP-glucuronosiltransferasa en las paredes intestinales y en el hígado^(13,39-42). En sangre también se ha detectado la presencia de baicalina inmediatamente después de la presencia de la baicaleína en el tejido, por lo que prácticamente ambos flavonoides coexisten en el organismo animal y humano una vez ingerido o administrado, favoreciendo sus propiedades medicinales y biológicas^(13,39-41,42,44).

Estudios computacionales y ensayos *in vitro* han demostrado la eficacia de la baicaleína y baicalina actuando como inhibidores de la proteasa NS2B-NS3 del virus del Dengue (DENV), también se ha reportado como inhibidores de la replicación del DENV-2^(45,46). Así como también se las ha reportado como potenciales inhibidores de las proteínas de superficie hemaglutininas y neuraminidasas del virus Sendai⁽⁴⁷⁾.

Recientes estudios computacionales han demostrado que la baicalina presenta afinidades de interacción con la proteasa 3CLpro del SARS-CoV2, la estabilidad de la unión ha sido demostrada mediante análisis de dinámica molecular, teniéndose como candidata por su potencial acción inhibidora de la proteína viral^(22,48).

También se ha registrado la actividad de la baicaleína inhibiendo la replicación del SARS-CoV2 al igual que del virus de la estomatitis vesicular (VSV), esto mediante la inhibición de la fosforilación oxidativa afectando directamente a la replicación del virus⁽⁴⁹⁾. Investigadores de China, han reportado que la mezcla líquida de baicalina, ácido clorogénico y forsitina puede reducir los efectos ocasionados por el SARS-CoV2, probablemente por su capacidad de disminuir la respuesta inflamatoria del organismo afectado⁽⁵⁰⁾.

En un estudio *in vitro* llevado a cabo con la baicaleína y el extracto etanólico de *S. baicalensis* ante la infección del SARS-CoV2 a células Vero ha evidenciado que esta molécula presenta mayor eficacia de acción luego de la internalización viral siendo el principal inhibidor de la proteasa 3CLpro. Por otra parte, también se ha

observado que el extracto etanólico de *S. baicalensis* actúa también inhibiendo la entrada viral a un bajo porcentaje de actividad (<30%)⁽²³⁾.

Recientemente, Vankadari en el año 2020⁽⁵¹⁾ llevando a cabo un análisis estructural evidenció que moléculas de arbidol, un fármaco antiviral de amplio espectro⁽⁵²⁻⁵⁷⁾, también presenta potenciales actividades como bloqueantes de la trimerización de la espiga viral del SARS-CoV2, donde los residuos implicados en la interacción con este fármaco fueron la Lys776, Glu780, Lys947, Glu1017, Arg1019, Ser1021, Asn1023, Leu1024 y Thr1027.

En este estudio se logró identificar que el potencial sitio de acoplamiento del flavonoide baicalina es la región de trimerización de la glicoproteína de la espiga, la cual también presenta el mismo residuo activo (Leu1024) encontrado en interacción con el arbidol, además de encontrarse los mismos tipos de residuos Glu, Ser y Lys⁽⁵¹⁾. Esto nos indicaría que la baicalina probablemente presente afinidades de unión en un sitio de acoplamiento semejantes al de la molécula de arbidol. La afinidad de acoplamiento encontradas con la baicalina por el sitio de trimerización, nos sugiere que esta molécula presenta aptitudes de interactuar durante el ensamblaje de los protómeros (protómeros A, B, C) para la conformación de la estructura cuaternaria funcional de la espiga viral.

La posible lentitud del proceso de ensamblaje de esta proteína viral sugerido por Bongini y colaboradores⁽⁸⁾ durante el proceso replicativo viral, podría favorecer a que ocurran estas interacciones con las moléculas analizadas, desencadenándose en un posible bloqueo del ensamblaje de la glicoproteína de la espiga (S) lo cual podría interferir con el avance del ciclo replicativo del SARS-CoV2 en las células infectadas⁽⁸⁾.

A pesar de registrarse afinidades de acoplamiento de la baicaleína con la glicoproteína de la espiga viral, este no resultó unirse en localizaciones semejantes a las descritas por Bongini y colaboradores⁽⁸⁾, sin embargo dicha región concuerda con el rango de aminoácidos que interaccionan con las moléculas de umifenovir (aa947-aa1027) descrito por Xiu y colaboradores⁽³²⁾. La presencia de la baicaleína en estas regiones podría contribuir o favorecer la acción de la baicalina en el bloqueo del proceso de ensamblaje de la estructura cuaternaria de la espiga viral. Estos resultados sugieren que ambas moléculas (baicaleína y baicalina) podrían actuar como potenciales bloqueantes de la trimerización de la proteína S del SARS-CoV2 durante su maduración, siendo candidatas para estudios experimentales posteriores para corroborar estas predicciones.

4. CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio computacional sugieren que el flavonoide baicalina presenta afinidades de acoplamiento por el sitio de trimerización de la glicoproteína de la espiga (S) con valores de energía libre de interacción significativamente favorables. También se detectó que el flavonoide baicaleína presentó afinidades de interacción con valores de energía favorables en regiones proximales al sitio de trimerización de la espiga viral. La presencia de ambos flavonoides en interacción con los protómeros de esta glicoproteína durante su ensamblaje podría generar el bloqueo de su maduración en una estructura cuaternaria funcional pudiendo intervenir con el ciclo replicativo del virus.

Estos resultados contribuyen enormemente en la búsqueda de estrategias para combatir al SARS-CoV2, específicamente en la detección de moléculas de origen vegetal con perfiles de interacción con la proteína de la espiga del virus durante el ensamblaje y maduración estructural del mismo. Estas simulaciones a pesar de presentar resultados altamente predictivos, desestiman el modo y tiempo de acción de las moléculas, así como las concentraciones óptimas de actividad lo cual depende exclusivamente de ensayos experimentales.

CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

EG: Metodología y diseño metodológico, ensayos computacionales y análisis estadístico, análisis de los resultados, redacción del artículo y correcciones.
LR: Revisión de los métodos y protocolos, ensayos computacionales, análisis de los resultados, redacción del artículo y correcciones.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de intereses con respecto al presente artículo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*. 27 de marzo de 2020;367(6485):1444-8.
2. Jaimes JA, Millet JK, Whittaker GR. Proteolytic Cleavage of the SARS-CoV-2 Spike Protein and the Role of the Novel S1/S2 Site. *iScience*. 26 de junio de 2020;23(6):101212.

3. Wrapp D, Wang N, Corbett KS, Goldsmith JA, Hsieh CL, Abiona O, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 13 de marzo de 2020;367(6483):1260-3.
4. Pandey P, Rane JS, Chatterjee A, Kumar A, Khan R, Prakash A, et al. Targeting SARS-CoV-2 spike protein of COVID-19 with naturally occurring phytochemicals: an in silico study for drug development. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2 de noviembre de 2021;39(16):6306-16.
5. Sternberg A, Naujokat C. Structural features of coronavirus SARS-CoV-2 spike protein: Targets for vaccination. *Life Sciences*. 15 de septiembre de 2020;257:118056. Lippi G, Lavie CJ, Henry BM, Sanchis-Gomar F. Do genetic polymorphisms in angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) gene play a role in coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 1 de septiembre de 2020;58(9):1415-22.
6. Lippi G, Lavie CJ, Henry BM, Sanchis-Gomar F. Do genetic polymorphisms in angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) gene play a role in coronavirus disease 2019 (COVID-19)? *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 1 de septiembre de 2020;58(9):1415-22.
7. Xia S, Lan Q, Su S, Wang X, Xu W, Liu Z, et al. The role of furin cleavage site in SARS-CoV-2 spike protein-mediated membrane fusion in the presence or absence of trypsin. *Sig Transduct Target Ther*. 12 de junio de 2020;5(1):1-3.
8. Bongini P, Trezza A, Bianchini M, Spiga O, Niccolai N. A possible strategy to fight COVID-19: Interfering with spike glycoprotein trimerization. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 12 de julio de 2020;528(1):35-8.
9. Fernández Alonso JL. Notas sobre *Scutellaria* (Labiatae) en Colombia y Ecuador. 1990 [citado 27 de abril de 2022]; Disponible en: <https://digital.csic.es/handle/10261/32879>
10. Oliveira MR, Nabavi SF, Habtemariam S, Erdogan Orhan I, Daglia M, Nabavi SM. The effects of baicalein and baicalin on mitochondrial function and dynamics: A review. *Pharmacological Research*. 1 de octubre de 2015;100:296-308.
11. Huang T, Liu Y, Zhang C. Pharmacokinetics and Bioavailability Enhancement of Baicalin: A Review. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1 de abril de

2019;44(2):159-68.

12. Muto R, Motozuka T, Nakano M, Tatsumi Y, Sakamoto F, Kosaka N. The chemical structure of new substance as the metabolite of baicalin and time profiles for the plasma concentration after oral administration of sho-saiko-to in human. *Yakugaku Zasshi*. 1 de marzo de 1998;118(3):79-87.
13. Zhang L, Lin G, Zuo Z. High-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of baicalein and baicalein 7-glucuronide in rat plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 15 de noviembre de 2004;36(3):637-41.
14. Hamada H, Hiramatsu M, Edamatsu R, Mori A. Free Radical Scavenging Action of Baicalein. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1 de octubre de 1993;306(1):261-6.
15. Shieh DE, Liu LT, Lin CC. Antioxidant and free radical scavenging effects of baicalein, baicalin and wogonin. *Anticancer Res*. 1 de septiembre de 2000;20(5A):2861-5.
16. Liu H, Dong Y, Gao Y, Du Z, Wang Y, Cheng P, et al. The Fascinating Effects of Baicalein on Cancer: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*. octubre de 2016;17(10):1681.
17. Johari J, Kianmehr A, Mustafa MR, Abubakar S, Zandi K. Antiviral Activity of Baicalein and Quercetin against the Japanese Encephalitis Virus. *International Journal of Molecular Sciences*. diciembre de 2012;13(12):16785-95.
18. Su ZZ, Dou J, Xu ZP, Guo QL, Zhou CL. A novel inhibitory mechanism of baicalein on influenza A/FM1/1/47 (H1N1) virus: interference with mid-late mRNA synthesis in cell culture. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 1 de noviembre de 2012;10(6):415-20. Lani R, Hassandarvish P, Shu MH, Phoon WH, Chu JJH, Higgs S, et al. Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antiviral Research*. 1 de septiembre de 2016;133:50-61.
19. Lani R, Hassandarvish P, Shu MH, Phoon WH, Chu JJH, Higgs S, et al. Antiviral activity of selected flavonoids against Chikungunya virus. *Antiviral Research*. 1 de septiembre de 2016;133:50-61.
20. Lalani SS, Anasir MI, Poh CL. Antiviral activity of silymarin in comparison

with baicalein against EV-A71. *BMC Complement Med Ther*. 23 de marzo de 2020;20(1):97.

21. Oo A, Teoh BT, Sam SS, Bakar SA, Zandi K. Baicalein and baicalin as Zika virus inhibitors. *Arch Virol*. 1 de febrero de 2019;164(2):585-93.
22. Islam R, Parves MdR, Paul AS, Uddin N, Rahman MdS, Mamun AA, et al. A molecular modeling approach to identify effective antiviral phytochemicals against the main protease of SARS-CoV-2. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 13 de junio de 2021;39(9):3213-24.
23. Liu H, Ye F, Sun Q, Liang H, Li C, Li S, et al. *Scutellaria baicalensis* extract and baicalein inhibit replication of SARS-CoV-2 and its 3C-like protease in vitro. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 1 de enero de 2021;36(1):497-503.
24. Volkamer A, Kuhn D, Grombacher T, Rippmann F, Rarey M. Combining Global and Local Measures for Structure-Based Druggability Predictions. *J Chem Inf Model*. 27 de febrero de 2012;52(2):360-72.
25. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 1 de enero de 2000;28(1):235-42.
26. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research*. 4 de enero de 2016;44(D1):D1202-13.
27. 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*. 13 de agosto de
28. Gayozo E, Rojas L. Análisis estructural de interacciones in silico de fitoconstituyentes de *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* y *Solanum lycopersicum* con la proteína tripanotona reductasa de *Leishmania infantum*. *Steviana*. 2020;12(2):31-54.
29. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2010;31(2):455-61.
30. Biovia DS. BIOVIA Discovery Studio. Dassault Systèmes. 2020.

Gayozo E, Rojas L. Análisis del acoplamiento molecular de las moléculas Baicaleína y Baicalina como posibles bloqueantes de la trimerización de la glicoproteína de la espiga del SARS-CoV2

31. Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. 9.
32. Xiu S, Dick A, Ju H, Mirzaie S, Abdi F, Cocklin S, et al. Inhibitors of SARS-CoV-2 Entry: Current and Future Opportunities. *J Med Chem*. 12 de noviembre de 2020;63(21):12256-74.
33. Dhorajiwala TM, Halder ST, Samant L. Comparative In Silico Molecular Docking Analysis of L-Threonine-3-Dehydrogenase, a Protein Target Against African Trypanosomiasis Using Selected Phytochemicals. *Journal of Applied Biotechnology Reports*. 11 de septiembre de 2019;6(3):101-8.
34. Smith RD, Engdahl AL, Dunbar JB, Carlson HA. Biophysical Limits of Protein-Ligand Binding. *J Chem Inf Model*. 27 de agosto de 2012;52(8):2098-106.
35. Atkovska K, Samsonov SA, Paszkowski-Rogacz M, Pisabarro MT. Multipose Binding in Molecular Docking. *International Journal of Molecular Sciences*. febrero de 2014;15(2):2622-45. Bhuiyan FR, Howlader S, Raihan T, Hasan M. Plants Metabolites: Possibility of Natural Therapeutics Against the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Medicine*. 2020;7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2020.00444>
36. Bhuiyan FR, Howlader S, Raihan T, Hasan M. Plants Metabolites: Possibility of Natural Therapeutics Against the COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Medicine*. 2020;7. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2020.00444>
37. Baig AM, Khaleeq A, Syeda H, Bibi N. Docking Prediction of Levodopa in the Receptor Binding Domain of Spike Protein of SARS-CoV-2. *ACS Pharmacol Transl Sci*. 12 de febrero de 2021;4(1):406-9.
38. Kadam RU, Wilson IA. Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. *Proc Natl Acad Sci USA*. 10 de enero de 2017;114(2):206-14.
39. Che QM, Huang XL, Li YM, Kun Z, Teruaki A, Masao H. Studies on metabolites of baicalin in human urine. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 1 de noviembre de 2001;26(11):768-9.
40. Lai MY, Hsiu SL, Chen CC, Hou YC, Chao PDL. Urinary Pharmacokinetics of Baicalein, Wogonin and Their Glycosides after Oral Administration of *Scutellariae radix* in Humans. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2003;26(1):79-83.

41. Tian S, He G, Song J, Wang S, Xin W, Zhang D, et al. Pharmacokinetic study of baicalein after oral administration in monkeys. *Fitoterapia*. 1 de abril de 2012;83(3):532-40.
42. Zhang L, Lin G, Zuo Z. Involvement of UDP-Glucuronosyltransferases in the Extensive Liver and Intestinal First-Pass Metabolism of Flavonoid Baicalein. *Pharm Res*. 16 de noviembre de 2006;24(1):81.
43. Tian S, Du L, Wang S, He G, Yang T, Li X, et al. Pharmacokinetic Study of Baicalein and Its Major Metabolites after iv Administration in Dogs. *Chinese Herbal Medicines*. 2011;196-201.
44. Moghaddam E, Teoh BT, Sam SS, Lani R, Hassandarvish P, Chik Z, et al. Baicalin, a metabolite of baicalein with antiviral activity against dengue virus. *Sci Rep*. 26 de junio de 2014;4(1):5452.
45. Zandi K, Teoh BT, Sam SS, Wong PF, Mustafa MR, AbuBakar S. Novel antiviral activity of baicalein against dengue virus. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 9 de noviembre de 2012;12(1):214.
46. Hassandarvish P, Rothan HA, Rezaei S, Yusof R, Abubakar S, Zandi K. In silico study on baicalein and baicalin as inhibitors of dengue virus replication. *RSC Adv*. 24 de marzo de 2016;6(37):31235-47.
47. Dou J, Chen L, Xu G, Zhang L, Zhou H, Wang H, et al. Effects of baicalein on Sendai virus in vivo are linked to serum baicalin and its inhibition of hemagglutinin-neuraminidase. *Arch Virol*. 1 de mayo de 2011;156(5):793-801.
48. Jo S, Kim S, Kim DY, Kim MS, Shin DH. Flavonoids with inhibitory activity against SARS-CoV-2 3CLpro. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 1 de enero de 2020;35(1):1539-44.
49. Huang S, Liu Y, Zhang Y, Zhang R, Zhu C, Fan L, et al. Baicalein inhibits SARS-CoV-2/VSV replication with interfering mitochondrial oxidative phosphorylation in a mPTP dependent manner. *Sig Transduct Target Ther*. 13 de noviembre de 2020;5(1):1-3.
50. Wang L, Wang Y, Ye D, Liu Q. Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1 de junio de 2020;55(6):105948.

51. Vankadari N. Arbidol: A potential antiviral drug for the treatment of SARS-CoV-2 by blocking trimerization of the spike glycoprotein. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1 de agosto de 2020;56(2):105998.
52. Boriskin YS, Leneva IA, Pecheur EI, Polyak SJ. Arbidol: A Broad-Spectrum Antiviral Compound that Blocks Viral Fusion. *Current Medicinal Chemistry*. 1 de abril de 2008;15(10):997-1005.
53. Leneva IA, Fediakina IT, Gus'kova TA, Glushkov RG. Sensitivity of various influenza virus strains to arbidol. Influence of arbidol combination with different antiviral drugs on reproduction of influenza virus A. *Ter Arkh*. 1 de enero de 2005;77(8):84-8.
54. Leneva IA, Burtseva EI, Yatsyshina SB, Fedyakina IT, Kirillova ES, Selkova EP, et al. Virus susceptibility and clinical effectiveness of anti-influenza drugs during the 2010–2011 influenza season in Russia. *International Journal of Infectious Diseases*. 1 de febrero de 2016;43:77-84.
55. Brooks MJ, Burtseva EI, Ellery PJ, Marsh GA, Lew AM, Slepishkin AN, et al. Antiviral activity of arbidol, a broad-spectrum drug for use against respiratory viruses, varies according to test conditions. *Journal of Medical Virology*. 2012;84(1):170-81.
56. Shi L, Xiong H, He J, Deng H, Li Q, Zhong Q, et al. Antiviral activity of arbidol against influenza A virus, respiratory syncytial virus, rhinovirus, coxsackie virus and adenovirus in vitro and in vivo. *Arch Virol*. 1 de agosto de 2007;152(8):1447-55.
57. Pécheur EI, Borisevich V, Halfmann P, Morrey JD, Smee DF, Prichard M, et al. The Synthetic Antiviral Drug Arbidol Inhibits Globally Prevalent Pathogenic Viruses. *Journal of Virology*. 90(6):3086-92.