**Universidad Regional Amazónica Ikiam**

**Bioinformática**

**INTEGRANTES:**  
[Marcia Lisbeth Feijoo Coronel](mailto:marcia.feijoo@est.ikiam.edu.ec)

[Juan Diego Guzman Burbano](mailto:juan.guzman@est.ikiam.edu.ec)

[Josselyn Aracely Ortega Pila](mailto:josselyn.ortega@est.ikiam.edu.ec)

[Ismael Felipe Prado Guevara](mailto:ismael.prado@est.ikiam.edu.ec)

**TEMA**: Agentes terapéuticos para COVID-19: reposicionamiento de fármacos

**INTRODUCCIÓN**

El reposicionamiento de fármacos, también llamado: redireccionamiento, reutilización y remodelado, se define como el uso de una droga con un fin diferente para el que fue desarrollada (Serafin et al., 2020). El beneficio emerge al tener un conocimiento previo de la farmacocinética, farmacodinámica y toxicología. Estos conocimientos permiten conocer los perfiles de seguridad, acelerar el desarrollo, reducir el costo de producción y disminuir la tasa de fallos (Ashburn & Thor, 2004; Novac, 2013). El beneficio que ofrece el reposicionamiento de drogas se basa en el potencial de renovación de drogas fallidas para una enfermedad y expandir el uso de una muy exitosa (Hurle et al., 2013).

El hallazgo de fármacos que permitan mejorar el tratamiento de la enfermedad COVID-19 es una de las máximas prioridades actuales de la comunidad científica, ya que la búsqueda y el hallazgo de una vacuna podría prolongarse al menos un año. Además el costo promedio del desarrollo de medicamentos de novo es aproximadamente más de $1 mil millones de dólares (Senanayake, 2020). La carrera contra este problema motiva a los desarrolladores de fármacos a buscar nuevos usos o, a mejorar las versiones antiguas de las ya existentes (Ashburn & Thor, 2004). Aunque, el desarrollo de fármacos es común, la mayoría de estos se quedan en el camino; como un dato, entre el periodo 2008 - 2010, solo 55 compuestos terminaron la fase III de desarrollo clínico (Novac, 2013). Este es un número preocupante tomando en cuenta las enfermedades emergentes y el riesgo económico y social que conlleva desarrollar fármacos.

Una de las estrategias, a corto plazo, para mitigar estos largos procesos es el reposicionamiento de fármacos, es decir, el uso contra el SARS-CoV-2 de fármacos que ya están aprobados para tratar otras enfermedades. La reutilización de medicamentos, en comparación con medicamentos *de novo*, tiene implicaciones temporales y económicas (Zhou et al., 2020).

El advenimiento de las tecnologías genómicas y los enfoques computacionales ha llevado al desarrollo de nuevos enfoques para el reposicionamiento de fármacos. Los análisis computacionales permiten al investigador generar, evaluar y priorizar información de enfermedades importantes, su droga y los blancos al mismo tiempo (Hurle et al., 2013); todo esto en un mismo estudio. Es así como la recopilación de datos relacionados con las drogas, las iniciativas de datos abiertos, y las interacciones de datos de fuentes farmacológicas, genéticas, químicas o clínicas (Dotolo, Marabotti, Facchiano, & Tagliaferri, 2020), permiten descubrir nuevos usos o indicaciones de fármacos existentes. La reutilización de fármacos tiene una tasa de éxito que varía de 30% a 75% (Neuberger, Oraiopoulos, Drakeman. 2019). Los esfuerzos para sistematizar toda esta información dan como resultado que se desarrollen métodos analíticos que permitan descubrir futuros posibles usos.

Existen varias formas de aprovechar la tecnología hacia el reposicionamiento de fármacos, una de ellas es analizando su similitud química, ya sea mediante su estructura o propiedades químicas. Otra forma de reposicionar fármacos es analizar su similitud de actividad molecular mediante la medición de la expresión génica de tal fármaco y compararlo en diferentes ensayos. El uso de base de datos y sistemas computacionales aportan a nuevos enfoques para tratar enfermedades con fármacos existentes en el mercado (Dudley, Deshpande, & Butte,. 2011)

Aunque la tasa de éxito puede variar se puede realizar un procedimiento adicional. Una reformulación permite tomar el esqueleto de la molécula, transformarla y retirar de su estructura la sección que puede tener un impacto negativo en el organismo, sin quitar su acción terapéutica. Generalmente se asume que los experimentos con animales son más seguros, reales y predictivos que un ensayo en computadores, pero, con métodos computacionales es posible predecir, reducir costos, no correr riesgos y manejar bases de datos grandes (Oprea & Overington, 2015).

En el reposicionamiento de fármacos para tratar el coronavirus 2019 (SARS-CoV-2) se ha evidenciado que el proceso clave es la interacción de la proteína pico viral con la enzima convertidora de angiotensina 2 humana (ACE2) y la serina proteasa 2 transmembrana (TMPRSS2) (Dotolo, Marabotti, Facchiano, & Tagliaferri, 2020; Messina et al., 2020). Se ha sugerido la utilización de fármacos entre los cuales destacan aquellos que son empleados en la terapia contra el cáncer. Los fármacos potencialmente adecuados son los que afectan la transducción de señales, la síntesis de macromoléculas y / o las vías bioenergéticas y los que pueden interferir con la respuesta inmune del huésped, en particular, la tormenta de citocinas potencialmente mortal asociada con COVID grave (Li, Lu, Jiang, et al. 2012).

**PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

El proceso de obtención de una vacuna para combatir al nuevo coronavirus SARS-Cov-2, virus responsable de la enfermedad COVID-19 requiere de tiempo y recursos económicos. Por ese motivo es primordial realizar la búsqueda de fármacos para el tratamiento de los pacientes. Una de las estrategias es recurrir al reposicionamiento de fármacos, ya que representan una vía eficaz para descubrir fármacos a partir de otros existentes, además de disminuir el tiempo y costos de fármacos nuevos y ensayos clínicos aleatorizados. Sin embargo, los enfoques experimentales para la reutilización de fármacos son costosos y requieren tiempo por ello los enfoques computacionales ofrecen nuevas hipótesis comprobables para el reposicionamiento sistemático de fármacos. Dirigirse a objetivos antivirales celulares, como el interactoma virus-huésped ofrece una forma efectiva de dilucidar los mecanismos de la infección viral y desarrollar tratamientos. Remdesivir ha demostrado in vitro la capacidad para inhibir la replicación de un beta-coronavirus animal, interfiriendo con la RpRd a pesar de la presencia de la exoribonucleasa. Parece evidente que Remdesivir posee elevada capacidad para inhibir de forma directa y eficiente la replicación del ARN de la mayoría de coronavirus, incluyendo probablemente el nuevo SARS-CoV2. (Pareja,2020)

**LISTA DE POSIBLES CANDIDATOS**

**-Remdisivir:** Remdesivir es un profármaco monofosforamidato y un análogo de adenosina con un código de desarrollo GS-5734 que tiene un antivírico de amplio espectro. Desde 2017, fue sintetizado y desarrollado por Gilead como tratamiento para la infección por el virus del Ébola ( Warren 2016). Remdesivir se metaboliza en su forma activa, GS-441524, que oculta la ARN polimerasa viral y evade la corrección de pruebas por la exonucleasa viral, lo que provoca una disminución en la producción de ARN viral, utilizando como target el receptor ACE2. Los estudios in vitro informaron que Remdesivir puede inhibir los coronavirus, como el SARS-COV y la replicación de MERS-COV. El Remdesivir mejoró la función pulmonar y redujo la carga viral en patología pulmonar grave.

**-Toremifeno:** Esun estrogénico selectivo de primera generación, modulador del receptor que no es esteroideo, fue aprobado para el tratamiento del cáncer de mama en 1997. El análisis de medicamentos identificó al toremifeno como uno de los principales candidatos para el tratamiento de COVID-19.

Los ensayos in vitro indican que bloquea varias infecciones virales a concentración micromolar, incluido Síndrome respiratorio coronavirus, 41 enfermedades respiratorias agudas graves y SARS-CoV-2. Un estudio adicional de biofísica computacional sugirió que el toremifeno podría bloquear la interacción entre ACE2 y la proteína de pico de SARS-CoV-2 y podría inhibir la proteína estructural 14 del SARS-CoV-2 (Dotolo, Marabotti, Facchiano, & Tagliaferri, 2020; Messina et al., 2020)

**- Lopinavir / ritonavir** es una combinación de fármacos dirigidos a la proteasa viral, ambos aprobados para las indicaciones de la influenza y el VIH (Meini et al., 2020)

**-Metisoprinol (MET)**  es un complejo de inosina con tres moléculas de dimetil amino isopropanol con acción antiviral e inmunomoduladora (Whu,2020). Este fármaco presenta efecto inmunoestimulante en las citoquinas IL2, IFN y regulador inhibitorio en las citoquinas FNT e IL10 (Whu,2020) Además, suprime la síntesis viral de ARN viral e incrementa “in vitro” la respuesta inmunitaria de linfocitos T, linfocitos B y con ello la producción de inmunoglobulinas, natural killer y macrófago, impide la replicación viral, conserva la integridad histológica y funcional de la célula humana.

**Combinaciones**

**-Toremifeno + emodina**

Toremifeno más Emodina, un derivado de antraquinona extraído de las raíces de *Rheum tanguticum*, se ha informado que tiene varios efectos antivirus. Específicamente, inhibió el dominio de la proteína del SARS, asociado a CoV y bloqueó una interacción entre la proteína pico SARS-CoV y ACE2. En conjunto, análisis de redes y experimentos publicados sugirieron que la combinación de toremifeno y emdoína ofreció un posible enfoque terapéutico para 2019-nCoV / SARS-CoV-2 (Dotolo, Marabotti, Facchiano, & Tagliaferri, 2020; Messina et al., 2020; Zhou et al., 2020).

**- Toremifeno + melatonina**

Melatonina es un medicamento muy bien descrito para tratar problemas de pulmón y respuestas inmunes. La melatonina juega un rol en la regulación de ritmo circadiano y mecanismos homeostáticos. La melatonina suprime la activación inducida del inflamasoma NLRP3. También la reducción de la vía de inflamación del factor-kappa B nuclear (NF-KB), el factor de transcripción p65 y TNT-alfa.

En el caso de antiviral se suprimen muchos paths inflamatorios que incluyen IL6, IL1beta y TNFalfa. El toremifeno actúa conjuntamente con la proteína spike y el receptor ACE2 (Cheng & Mehra, 2020).

**-La cloroquina y la hidroxicloroquina** son fármacos antipalúdicos. Tienen efectos antivirales contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), concretamente inhibiendo la entrada del virus en las células del huésped. Otro mecanismo antiviral está relacionado con la alteración post-traducción de las proteínas recién sintetizadas mediante la inhibición de la glicosilación . La hidroxicloroquina ya se está utilizando en ensayos clínicos sobre el tratamiento del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (Zhou et al., 2020)

**FÁRMACO(S) DE INTERÉS PARA ESTUDIO**

* Toremifeno

**PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cómo es el mapa de interacciones de proteínas entre los fármacos de interés (toremifeno) en el huésped *Homo sapiens* y el virus del SARS-Cov-2*?*

**HIPÓTESIS**

* Hipótesis para Toremifeno

H1= El interactoma se presentará como una interacción entre la proteínas de SARS-CoV-2, proteína Spike, NSP-14 y proteína receptora ACE2 (*Homo sapiens*)

Ho= El interactoma no tendrá relación alguna con ninguna proteínas

Ho= NO hay interacción entre el fármaco y la proteína

**OBJETIVOS**

**Objetivo general**

* Generar un mapa del interactoma del fármaco elegido con las proteínas del huésped y del virus.

**Objetivos específicos**

* Obtener un mapa de interacciones entre las proteínas y el virus y el interactoma humano
* Revisión bibliográfica de targets de los fármacos seleccionados
* Filtrar las interacciones del virus y el huésped que están relacionadas con el target del fármaco
* Identificar en qué punto de la red interactúa la combinación de fármacos seleccionados y determinar los procesos en los que se relacionan.
* Comprender cómo interacciona el fármaco con su proteína diana.
* Evidenciar la aplicabilidad del uso de las herramientas bioinformáticas, en conjunto con la metodología del reposicion virtual, para identificar y así proponer nuevos tratamientos potenciales para el COVID-19.

**MATERIALES Y MÉTODOS**

Para el desarrollo del proyecto del reposicionamiento de fármacos se utilizarán herramientas bioinformáticas como:

* Redes de proximidad
* GIT-HUB

**Herramientas computacionales:**

[Repurposing of FDA-Approved Toremifene to Treat COVID-19 by Blocking the Spike Glycoprotein and NSP14 of SARS-CoV-2 (acs.org)](https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jproteome.0c00397)

Además se utilizó anfitriones Net es decir un sistema bioinformatico que integra datos, analiza el sistema de reproducción y visualización. Entre estos buscadores se usó VirHostnet, accediendo a este enlace: <https://virhostnet.prabi.fr/> este servidor ayudó a identificar las proteínas en el virus de SARS COV-2. VirHostNet es FAIR y está reconocido como un recurso COVID-19 en homo- sapiens

Otro servidor de base de datos relaciona con el virus está Virus.STRING, una base de datos de interacción proteína-proteína que atiende específicamente a las interacciones virus-virus y virus-host, a través de este enlace: <http://viruses.string-db.org/> se puede acceder los datos de interacción a través de la versión de la aplicación de Cytoscape STRING

* Cytoscape es una plataforma de software de bioinformática de código abierto para visualizar las redes de interacción y datos, este sirvió para desarrollar los nodos y edges. Tiene como objetivo filtrar la red para seleccionar subconjuntos de nodos y / o interacciones basadas en los datos actuales. Por ejemplo, los usuarios pueden seleccionar nodos involucrados en un número umbral de interacciones, nodos que comparten una anotación GO particular. En este caso se utilizó para realizar un interactoma en relación al virus del SARS COV-2, Homo sapiens relacionado con los targets del fármaco Toremifeno de interés.

Estas proporcionaran un aporte importante en la ejecución del proyecto.

**MÉTODOS SIMILARES**

| **Tema** | **Método** | **Área de estudio** | **Descripción del método** | **Referencia** |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Network medicine framework for identifying drug-repurposing opportunities for COVID-19 | -Algoritmos de reutilización de fármacos basados en:  -Inteligencia Artificial  -Difusión de red  -Proximidad de red | Interacciones moleculares | Se usan varios algoritmos que clasifican a los medicamentos en función de su estructura química, perfiles adversos, acoplamiento molecular, registros médicos, análisis de vías, estudios de asociación de todo el genoma y perturbación de la red. | Deisy Morselli Gysi, Ítalo do Valle, Marinka Zitnik, Asher Ameli, Xiao Gan, Onur Varol, Susan Dina Ghiassian, J. J. Patten, Robert A. Davey, Joseph Loscalzo, Albert-László Barabási. (2021).Network medicine framework for identifying drug-repurposing opportunities for COVID-19. Proceedings of the National Academy of Sciences, 118 (19) e2025581118; DOI: 10.1073/pnas.2025581118 |
| A review on drug repurposing applicable to COVID-19 | Modelos basado en redes  Enfoques estructurales  Cribado virtual para identificar compuestos químicos para unirse a macromoléculas  Enfoques con IA | En la red combina una plataforma de medicina en red basada en la farmacología del sistema que cuantifica la interacción entre el interactoma virus-huésped y los objetivos del fármaco en la red de interacción proteína-proteína humana  Farmaco de Interes: Remdisivir | Se utilizan algoritmos de agrupación de acuerdo con las estructuras de topología de las redes entre módulos (fármaco-enfermedad, fármaco-fármaco o fármaco-objetivo) .  Cribado virtual sobre el modelo de estructura del TMPRSS2 humano  Cribado virtual basado en la estructura de reutilización de fármacos: <https://www.d3pharma.com/D3Targets-2019-nCoV/index>. Contiene 20 proteínas virales y 22 proteínas humanas involucradas en la infección, replicación y liberación del virus, con 69 diferentes conformaciones y 557 bolsas de unión a ligandos potenciales.  Modelo de IA predice la interacción fármaco-objetivo: Interacción molécula transformador-farmaco Objetivo (MT-DTI) identifica medicamentos antivirales, tambien CLAIRE Innovation Network, compuesta por 381 laboratorios e instituciones que trabajan en Europa en el área de IA. ( ***https://covid19.claire-ai.org/*** ) | Dotolo, S., Marabotti, A., Facchiano, A. & Tagliaferri, R. (2021). A review on drug repurposing applicable to COVID-19. *Briefings in bioinformatics*, *22* (2), s. 726–741. doi:10.1093/bib/bbaa288 |
| Tratamiento COVID-19: combinación de terapias antiinflamatorias y antivirales mediante un enfoque basado en la red | Proximidad de red (puntaje Z) para calcular la relación de red de objetivos para el medicamento A (Zca) y el medicamento B (Zca) con el módulo de enfermedad COVID-19 | Direccionamiento sistemático de las interacciones proteína-proteína (IBP) virus-huésped ofrece una estrategia novedosa para el desarrollo de una reutilización eficaz de fármacos (como melatonina y toremifeno)  Cuantifica la interacción entre el interactoma virus-huésped y los objetivos de los fármacos en la red del interactoma proteína-proteína humana | En el modelo, Z CA y Z CB denotan la proximidad de la red (puntuación Z) entre los objetivos del fármaco (fármacos A y B) y el módulo de enfermedad COVID-19. | Cheng, F., Rao, S. & Mehra, R. (2020). COVID-19 treatment: Combining anti-inflammatory and antiviral therapeutics using a network-based approach. *Cleveland clinic journal of medicine*. doi:10.3949/ccjm.87a.ccc037 |
| Computational Drug Repositioning: From Data  to Therapeutics | -Métodos de transcripción basados ​​en Connectivity Map (CMap)  -Los métodos de efectos secundarios  -Métodos genéticos | Técnicas computacionales para el análisis sistemático de datos de transcriptómica (Mapa de conectividad, CMap), efectos secundarios y genética. | -Se identifican nuevos vínculos entre entidades y completan la conexión entre la droga y la enfermedad.  -Se asocia a medicamentos con efectos secundarios similares.  -Se conecta el objetivo con un fenotipo genético, que puede ser la enfermedad en sí o un fenotipo relacionado con la enfermedad. | Hurle, M. R., Yang, L., Xie, Q., Rajpal, D. K., Sanseau, P., & Agarwal, P. (2013). Computational Drug Repositioning: From Data to Therapeutics. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 93(4), 335–341. doi:10.1038/clpt.2013.1 |

Si bien, el reposicionamiento de fármacos mediante una red de interacciones proteicas es una vía eficaz para encontrar medicamentos para tratar enfermedades, en este caso la Covid-19, existen otros métodos computacionales que pueden ser aplicados para buscar un fármaco preexistente y relacionarlo con diferentes objetivos.

Uno de estos métodos es el screening virtual, un enfoque computacional basado en buscar e identificar similitudes entre compuestos químicos o estructuras químicas (Dudley, Deshpande, & Butte,. 2011). La base computacional de este método es extraer un conjunto de características químicas para cada fármaco en un conjunto de fármacos, para luego relacionarlos directamente entre sí, agrupando o construyendo redes basadas en las características que se desean relacionar. Es decir, se busca una serie de similitudes químicas y comprender como estas similitudes pueden interactuar con una contraparte biológica (Dotolo, Marabotti, Facchiano, & Tagliaferri, 2021).

Uno de los primeros enfoques computacionales basados en similitudes químicas se hicieron públicos incluso antes de que las estructuras 3D de las proteínas virales estuvieran disponibles. Estos estudios se basaron en predecir varias estructuras de las proteínas virales del virus del SARS-Cov-2, siendo la proteína Spike como objetivo principal para la búsqueda de una actividad antiviral (Dotolo, Marabotti, Facchiano, & Tagliaferri, 2021). Algunos de estos estudios, basados en la similitud químicas condujeron a que la cloroquina y la hidroxicloroquina, dos fármacos antipalúdicos, fueran introducidos en el tratamiento contra el virus de la Covid-19. El uso de estos dos fármacos aún es cuestionable.

Existen limitaciones del enfoque basado en la similitud química para el reposicionamiento de fármacos, debido a que muchas estructuras o propiedades químicas de los compuestos farmacológicos contienen ciertos errores o su información está patentada. Además de que muchos efectos fisiológicos no se pueden predecir únicamente por las propiedades químicas, ya que los fármacos experimentan transformaciones metabólicas complejas, no caracterizadas y otros cambios farmacocinéticos a medida que se van metabolizando y distribuyendose en el organismo biológico (Dudley, Deshpande, & Butte, 2011).

Otro método computacional para reposicionar fármacos, es la transferencia de indicación asociativa. Consiste en relacionar enfermedades similares, y buscar un fármaco objetivo. Sin embargo, las estrategias de reposicionamiento basadas en la transferencia asociativa son limitadas para las variadas y complejas relaciones que asocian un fármaco como indicación de una enfermedad en particular. Por ejemplo, muchos medicamentos están indicados como tratamientos paliativos para varios cánceres, que son difíciles de distinguir de los medicamentos indicados como tratamientos quimioterapéuticos primarios (Dudley, Deshpande, & Butte,. 2011). Esto tiene relación con lo mencionado en el parrafo anterior, lo cual dice que los fármacos tienen cambios farmacocinéticos de acuerdo a su distribución en un organismo vivo al cual se le administra.

**METODOLOGÍA**

**Estrategia de búsqueda**

* Se usará la base de datos de STRING que es una base de datos que está asociada a Cytoscape y permite visualizar un interactoma completo entre SARS-CoV-2/*Homo sapiens.*
* Se filtrará, entre todas las proteínas, solo las proteínas objetivo del fármaco seleccionado.
* Una vez aisladas las proteínas objetivos de ambos organismos se usará bibliografía para identificar el mecanismo de acción.

**Criterio de elección**

Consideramos algunos de los puntos especiales como:

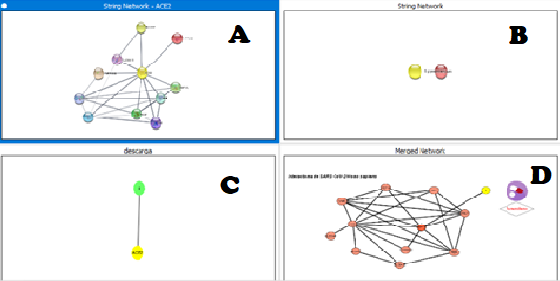
* El estudio va enfocado en las proteínas de SARS-CoV-2 y proteínas humanas que interactúan. Especialmente la proteína S de SARS-CoV-2 y la proteína ACE2 en *Homo sapiens*.
* Se describen solo proteínas que pueden ser inhibidas por el medicamento elegido.
* Las proteínas dianas son exclusivas del virus de SARS-CoV-2, el fármaco no actúa sobre proteínas humanas.

Para el siguiente estudio se requiere la plataforma de software Cytoscape, donde se podrá visualizar redes de interacciones moleculares y rutas biológicas además de poder integrar redes. En primera instancia se debe obtener los mapas de interacciones proteína-proteína (PPI) tanto para el *Homo sapiens*  y el SARS-CoV-2 a través de la herramienta STRING, con el valor de proteínas target del fármaco de interés previamente filtradas, la lista de target es recopilada mediante información bibliográfica de acuerdo al mecanismo de acción del fármaco(s) elegidos Toremifeno. Por último, se debe obtener el mapa de interactoma de SARS-CoV-2/*Homo sapiens* mediante la herramienta VirHostNet.

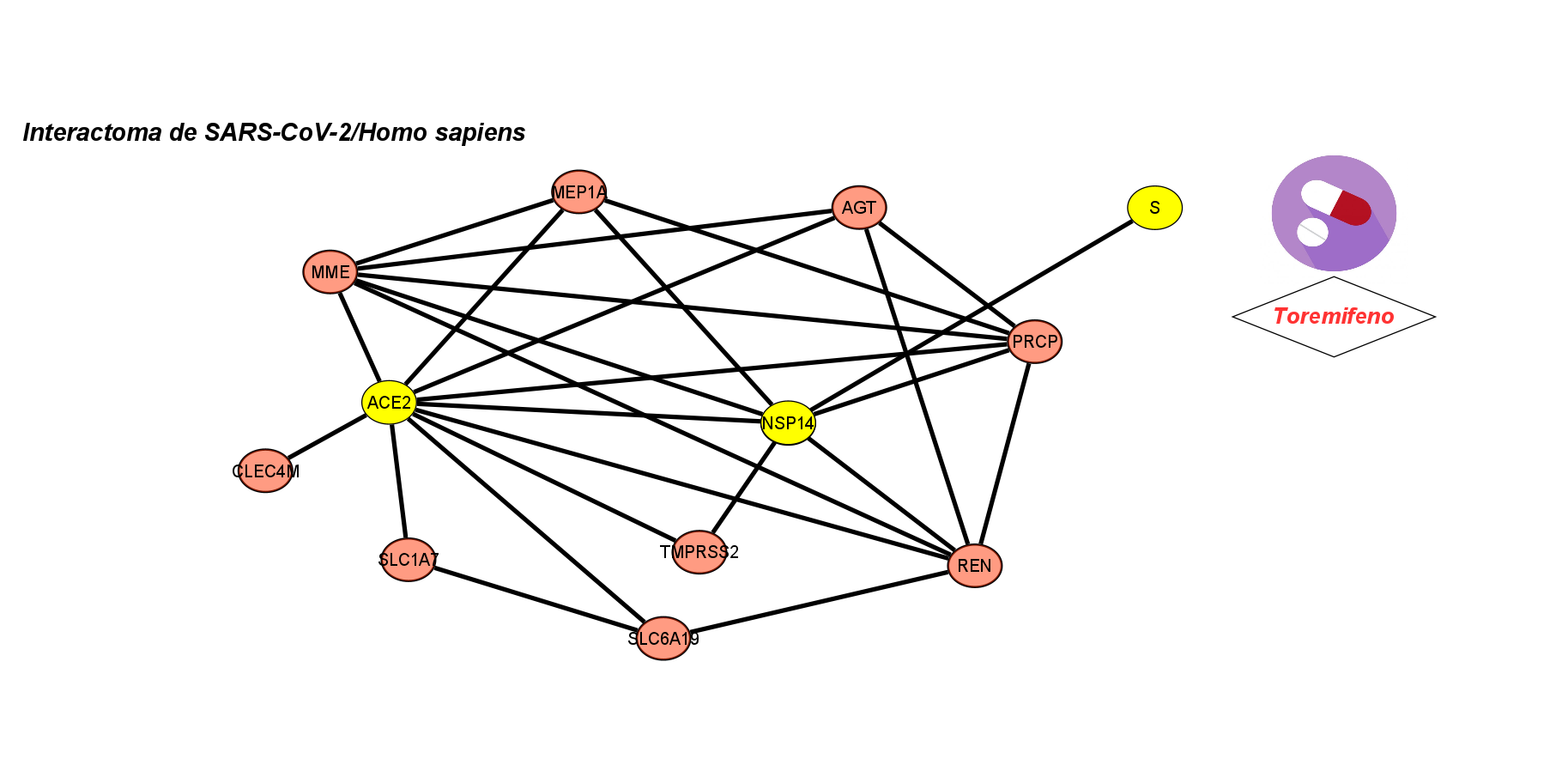
**Lista de target:**

* ACE-2
* Proteina Metiltranferasa 14 (NSP)|

**RESULTADOS**



**Figura 1.** a) Interactoma de ACE2 en Homo Sapiens b) Interactoma SARS-CoV-2/*Homo sapiens c) ACE2 con virus DE SARS COV-2 d) Interactoma general.*

**

**Figura 2.**Mapa de interacciones de las proteínas target. Spike (S), Enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) y metiltransferasa (NSP14) son las proteínas target del fármaco toremifeno.

**DISCUSIÓN**

**Interactoma**

La figura 1a corresponde al interactoma de ACE2, junto con otras proteínas del cuerpo humano. La figura 1b corresponde al interactoma entre proteínas del SARS-CoV-2. La figura 2 corresponde a los dos interactomas fusionados. La interacción, entre estos dos organismos, se da solo en una proteína de cada lado; en el caso de los seres humanos es la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), y en el caso del virus es la glicoproteína S (Yang *et al*. 2021)

El modelo que se sugiere es un modelo inducido, donde la proteína S se integra a los receptores ACE2. Mediante transformaciones iniciales que dimerizan, se inducen la liberación de subunidades que se encargan de la replicación

Existen proteínas y dominos accesorios que permiten esta adaptación de la proteína S, entre ellas destacan el dominio RBD que genera un “puente” para que se puedan acoplar proteína S-ACE2; y la proteína TMPRSS2 que igual funciona con el modelo de encaje inducido. Aunque la unión-modificación-liberación no se da por una sola proteína, la elección de las proteínas S y ACE2 se da por la (gran) importancia que tienen en el proceso infeccioso. Cabe recalcar que sin el dominio y proteína, que ayudan al acoplamiento, no se puede infectar una célula, y tan solo con inhibir uno de los componentes de este “complejo infeccioso” se detiene la infección-replicación.

La elección de la proteína también se da en base a la disponibilidad de información que se tiene y sobre los fármacos que actúan sobre ella.

**Interacción Toremifeno-nsp14-Glicoproteína S**

**Glicoproteína S**

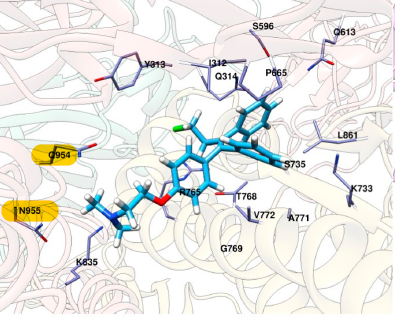
El toremifeno se acopla en una región entre los dos dominios de la proteína Spyke; en la parte inferior el fármaco interacciona con la región helicoidal de las subunidades 1 y 2 (Ng, Salim, & Chu, 2021). Estas subunidades son conservadas provenientes del SARS-CoV-1 para mediar la fusión entre la membrana del virus y la membrana de las células humanas. Toremifeno actúa sobre algunas secciones de la región helicoidal como la región N-terminal de RBD, este, en conjunto con HR1 son componentes claves para la fusión nuclear (Martin, & Cheng, 2020)

En el dominio no-helicoidal se tienen interacción entre un segmentos de la proteína: T941 - L945, L948. Regresando a un motivo helicoidal se tienen segmentos como: L948-2967, S943 - Q954, A958 - T961 (Martin, & Cheng, 2020).

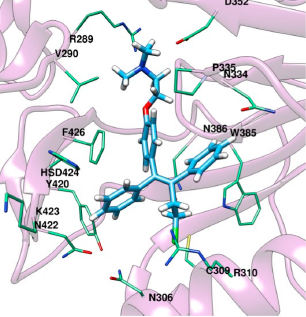
Aunque el más prometedor es una interacción puntual entre Q954 y N955 que altera el orden de la estructura secundaria de HR1. Recordar: alterar estructura es igual a alterar la función. Adicionalmente, los cálculos de afinidad de unión determinan que el cloro potencia la acción inhibitoria.

**NSP14**

La actividad de esta proteína es exoribonucleasa y metiltransferasa; se ha determinado la interacción con el dominio N7-metil transferasa. (Cheng, Rao, & Mehra, 2020) Este acoplamiento inhibe la interacción con el ligando preferencial S-adenosil metionina y con su sustrato preferencial Gppp-RNA. Los cálculos de afinidad muestran nuevamente al cloro como una molécula que interactúa fuerte con algunos residuos, aunque se desconoce su función (Martin, & Cheng, 2020).



**Figura 3:** Interacción del Toremifeno, en el sitio de unión, con los residuos de los dominios A y B. Los residuos marcados son los más prometedores.



**Figura 4**: Interacción del Toremifeno con la proteína funcional nsp14.

**Reposicionamiento de fármacos**

El toremifeno ha sido un medicamento ampliamente usado para tratar el cáncer de mama y el cáncer de próstata. Aprobado hace más de 25 años por la FDA se pretende reubicarlo para un tratamiento previo al contagio inhibiendo los sitios de unión y la interacción con proteínas funcionales.

El riesgo que se corre es mínimo, por la aprobación bajo ciertas concentraciones del fármaco en cuestión. Pero es necesario realizar el interactoma para poder identificar todas las proteínas que pueden verse afectadas cuando se quiera dar un uso distinto del aprobado. El mapa de interacción es una herramienta valiosa para conocer el efecto secundario, por el momento no, y con las proteínas que han sido citadas en el interactoma realizado, no se ha concebido problema alguno. Quizás con un aumento de nodos se encuentre interacción entre proteínas principales que puedan organizar un daño. Aunque, con una buena técnica de *homing* se puede evitar redireccionar solo al sitio planeado.

**CONCLUSIONES**

La emergencia sanitaria actual ha despertado el interés de la comunidad científica para desarrollar fármacos que controlen la dispersión de la enfermedad. Aunque muchos de los laboratorios tienen técnicas que permiten crear vacunas/fármacos a una velocidad superior a los años anteriores, la bioinformática puede ofrecer soluciones viables para evitar gastos temporales y económicos.

El reposicionamiento de fármacos mediado por enfoque computacionales es una de esas técnicas. Algunos ejemplos son redes de interacciones proteína-proteína, o, las redes de proximidad que se presentan como una alternativa rápida y eficaz para la reposición de medicamentos aprobados previamente. Estas herramientas permiten predecir el mecanismo de acción proteína-fármaco, proteína-proteína o incluso, una combinación de dos fármacos. Al mismo tiempo reduce costos, reduce el tiempo de desarrollo, permite manejar bases de datos grandes y minimiza los riesgos (sirve o no sirve) que puede tener un PI potencial.

En el caso de la Covid-19 por medio de las interacciones entre proteínas-fármacos-proteína de tipo virus-huésped, virus-virus, huésped-huésped es posible entender mecanismos de acoplamiento, infección, replicación o neutralización, y así encontrar posibles tratamientos alternos para fármacos existentes, como es el caso del **toremifeno**. El toremifeno, actualmente usado para combatir el cáncer, se coloca en una posición privilegiada como antiviral por los efectos que tiene sobre las proteínas S y nsp14 del SARS-CoV-2. Su dinámica, en Glicoproteína S, se basa en desestabilizar los residuos que forman parte de subunidades importantes que sirven para el acoplamiento y liberación del material genético. De igual forma, en la proteína funcional nsp14, se interfiere con residuos que forman parte de la actividad ribonucleasa y transferasa con una alta probabilidad de detener la replicación.

**BIBLIOGRAFÍA**

Ashburn, T. T., & Thor, K. B. (2004). Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature reviews Drug discovery*, *3*(8), 673-683. DOI: 10.1038/nrd1468

Borges, M., Borges, M., Borges, J. & Bastidas, R. (2020). ESTUDIO EXPERIMENTAL: MANEJO DEL METISOPRINOL EN PACIENTES CON COVID-19. *Universidad ciencia y tecnología*, *24* (103), s. 41–50. doi:10.47460/uct.v24i103.356

Cheng, F., Rao, S., & Mehra, R. (2020). COVID-19 treatment: Combining anti-inflammatory and antiviral therapeutics using a network-based approach. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. DOI: [10.3949/ccjm.87a.ccc037](https://doi.org/10.3949/ccjm.87a.ccc037)

Dotolo, S., Marabotti, A., Facchiano, A., & Tagliaferri, R. (2020). *A review on drug repurposing applicable to COVID-19. Briefings in Bioinformatics.* doi:10.1093/bib/bbaa288

Dudley, J. T., Deshpande, T., & Butte, A. J. (2011). Exploiting drug–disease relationships for computational drug repositioning. Briefings in bioinformatics, 12(4), 303-311.

Hurle, M. R., Yang, L., Xie, Q., Rajpal, D. K., Sanseau, P., & Agarwal, P. (2013). Computational drug repositioning: from data to therapeutics. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, *93*(4), 335-341. DOI: [/10.1038/clpt.2013.1](https://doi.org/10.1038/clpt.2013.1)

Li J, Lu C, Jiang M, et al. (2012). Traditional chinese medicine-based network pharmacology could lead to new multicompound drug discovery. Evid Based Complement Alternat Med:149762. DOI: [/10.1155/2012/149762](https://doi.org/10.1155/2012/149762)

Martin, W. R., & Cheng, F. (2020). Repurposing of FDA-approved toremifene to treat COVID-19 by blocking the Spike glycoprotein and NSP14 of SARS-CoV-2. Journal of proteome research, 19(11), 4670-4677

Meini, S., Pagotto, A., Longo, B., Vendramin, I., Pecori, D., & Tascini, C. (2020). Role of Lopinavir/Ritonavir in the treatment of Covid-19: a review of current evidence, guideline recommendations, and perspectives. *Journal of clinical medicine*, *9*(7), 2050. DOI: [10.3390/jcm9072050](https://doi.org/10.3390/jcm9072050)

Messina, F., Giombini, E., Agrati, C., Vairo, F., Bartoli, T. A., Al Moghazi, S., ... & Ippolito, G. (2020). COVID-19: viral–host interactome analyzed by network based-approach model to study pathogenesis of SARS-CoV-2 infection. *Journal of translational medicine*, *18*(1), 1-10. DOI: 10.1186/s12967-020-02405-w

Ng, Y. L., Salim, C. K., & Chu, J. J. H. (2021). Drug repurposing for COVID-19: Approaches, challenges and promising candidates. Pharmacology & Therapeutics, 107930

Neuberger A, Oraiopoulos N, Drakeman DL. (2019) Renovation as innovation: is repurposing the future of drug discovery research? Drug Discov; 24:1–3. DOI:10.1038/s41421-020-0153-3

Novac, N. (2013). Challenges and opportunities of drug repositioning. *Trends in pharmacological sciences*, *34*(5), 267-272. DOI: [10.1016/j.tips.2013.03.004](https://doi.org/10.1016/j.tips.2013.03.004)

Oprea, T. I., & Overington, J. P. (2015). Computational and practical aspects of drug repositioning. *Assay and drug development technologies*, *13*(6), 299-306. DOI: [/10.1089/adt.2015.29011.tiodrrr](https://doi.org/10.1089/adt.2015.29011.tiodrrr)

Pareja Cruz, A. & Luque Espino, J. C. (2020). Alternativas terapéuticas farmacológicas para COVID-19. *Horizonte médico (lima)*, *20* (2), s. e1216. doi:10.24265/horizmed.2020.v20n2.13

Rosa, S. & Santos, W. (2020). Clinical trials on drug repositioning for COVID-19 treatment. *Revista panamericana de salud pública*, *44*, s. 1–13. doi:10.26633/rpsp.2020.40

Serafin, M. B., Bottega, A., Foletto, V. S., da Rosa, T. F., Hörner, A., & Hörner, R. (2020). Drug repositioning is an alternative for the treatment of coronavirus COVID-19. *International journal of antimicrobial agents*, *55*(6), 105969. DOI:[10.1016/j.ijantimicag.2020.105969](https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105969)

Suranga L. Senanayake (2020). Drug repurposing strategies for COVID-19. Future Drug Discovery. DOI: 10.4155/fdd-2020-0010

Warren TK, Jordan R, Lo MK, Ray AS, Mackman RL, Soloveva V, et al. Eficacia terapéutica de la molécula pequeña GS-5734 contra el virus del Ébola en monos rhesus. *Naturaleza* . 2016; 531 (7594): 381-5. doi: [10.1038 / nature17180](https://dx.doi.org/10.1038/nature17180) .

Wu, D., & Yang, X. O. (2020). TH17 Responses in Cytokine Storm of COVID-19: An Emerging Target of JAK2 Inhibitor Fedratinib. Journal ofMicrobiology, Immunology and Infection (11 March2020). doi:10.1016/j.jmii.2020.03.005

Yang, L., Pei, Rj., Li, H. et al. (2021) Identification of SARS-CoV-2 entry inhibitors among already approved drugs. Acta Pharmacol Sin 42, 1347–1353. https://doi.org/10.1038/s41401-020-00556-6

Zhou, Y., Hou, Y., Shen, J., Huang, Y., Martin, W., & Cheng, F. (2020). Network-based drug repurposing for novel coronavirus 2019-nCoV/SARS-CoV 2. *Cell discovery*, *6*(1), 1-18. DOI: 10.1038/s41421-020-0153-3