

# Predicción bioinformática de blancos celulares de aminoestronas mediante docking molecular: implicaciones en la replicación y transmisión célula-a-célula de flavivirus.

## Bioinformatic Prediction of Cellular Targets of Aminoestrones through Molecular Docking: Implications for Flavivirus Replication and Cell-to-Cell Transmission.

Ednner E., Victoria-Blanco<sup>1 2 3</sup> ORCID: 0000-0002-1088-7376; Lydier, De Gracia<sup>1 2 3</sup> ORCID: 0009-0008-1018-1665

<sup>1</sup> Caja de Seguro Social, Ciudad de Panamá, Panamá,

<sup>2</sup> Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT), Ciudad de Panamá, Panamá,

<sup>3</sup> Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

Autor de correspondencia: Ednner E., Victoria-Blanco, correo electrónico: [ednner@gmail.com](mailto:ednner@gmail.com)

DOI: <https://doi.org/10.66253/conalac.v9.n2.a03>

Recibido: 13 de marzo de 2026

Aceptado: 10 de junio de 2026

Publicado: 31 de agosto de 2026

### Abstract

**Background:** Flaviviruses such as dengue virus and Zika virus rely on host cellular factors to complete their replication cycle. Host proteins involved in cytoskeleton dynamics and vesicular trafficking may represent potential therapeutic targets. Bioactive aminoestrones have shown antiviral activity, although their molecular mechanisms remain poorly understood. **Methods:** A bioinformatic analysis based on molecular docking was performed to identify potential cellular targets of the aminoestrone compound US2NE102. Three-dimensional structures of Hsp70, Rac1, PAK1, Caveolin-1 and Annexin A2 were obtained from the AlphaFold Protein Structure Database. Docking analysis and cavity identification were performed using CB-Dock2. Physicochemical properties were evaluated using SwissADME. **Results:** Docking results revealed relevant binding affinities between US2NE102 and several host proteins involved in cytoskeleton regulation and vesicular trafficking. The highest affinities were observed for PAK1 (−10.8 kcal/mol), Annexin A2 (−10.2 kcal/mol) and Hsp70 (−9.2 kcal/mol), followed by Rac1 (−8.6 kcal/mol) and Caveolin-1 (−8.5 kcal/mol). **Conclusion:** These findings suggest that US2NE102 may act as a multitarget modulator of host proteins involved in flavivirus replication and cell-to-cell transmission, providing a bioinformatic basis for future antiviral strategies.

**Keywords:** flavivirus, molecular docking, aminoestrones, host proteins, structural bioinformatics.

### Resumen

**Antecedentes:** Los flavivirus, como el virus del dengue y el virus del Zika, utilizan diversos mecanismos para propagarse entre células, incluyendo la transmisión directa célula-a-célula mediada por estructuras del citoesqueleto y procesos de tráfico vesicular. Proteínas celulares del hospedero como Hsp70, Rac1, PAK1, Annexina A2 y Caveolina-1 participan en estos procesos y representan potenciales blancos terapéuticos para limitar la replicación viral. Las aminoestronas bioactivas han mostrado actividad antiviral en estudios previos; sin embargo, sus mecanismos de acción molecular aún no se comprenden completamente. **Métodos:** Se realizó un análisis bioinformático para predecir posibles blancos celulares del compuesto aminoestrone US2NE102 mediante acoplamiento molecular (docking). Las estructuras tridimensionales de Hsp70, Rac1, PAK1, Caveolina-1 y Annexina A2 se obtuvieron de la base de datos AlphaFold. La identificación de cavidades y el análisis de afinidad de unión se realizaron mediante la plataforma CB-Dock2. Además, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas del compuesto utilizando SwissADME para estimar su potencial de interacción molecular. **Resultados:** El análisis de docking reveló afinidades relevantes entre US2NE102 y varias proteínas celulares implicadas en la dinámica del citoesqueleto y el tráfico vesicular. Las mayores afinidades se observaron para PAK1 (−10.8 kcal/mol), Annexina A2 (−10.2 kcal/mol) y Hsp70 (−9.2 kcal/mol), seguidas de Rac1 (−8.6 kcal/mol) y Caveolina-1 (−8.5 kcal/mol). **Conclusión:** Los resultados sugieren que US2NE102 podría actuar como modulador multitarget de proteínas celulares involucradas en la replicación y transmisión célula-a-célula de flavivirus, proporcionando una base bioinformática para futuras estrategias antivirales.

**Palabras clave:** docking molecular, flavivirus, aminoestronas, proteínas del hospedero, bioinformática estructural, antivirales.



## Introducción

Los flavivirus constituyen un grupo de virus ARN de cadena positiva transmitidos principalmente por artrópodos y responsables de enfermedades de gran impacto en salud pública, como el dengue y el virus del Zika. Estas infecciones afectan a millones de personas cada año y pueden causar manifestaciones clínicas que van desde cuadros febriles leves hasta complicaciones neurológicas graves. Durante su ciclo replicativo, los flavivirus dependen de múltiples factores celulares del hospedero para completar procesos como la entrada viral, el ensamblaje, el tráfico intracelular y la liberación de nuevas partículas virales (1,2).

Además de la vía clásica de entrada mediada por endocitosis, estos virus pueden propagarse mediante mecanismos de transmisión directa célula-a-célula, incluyendo estructuras como filopodios, nanotúbulos y vesículas extracelulares. Estos mecanismos facilitan la diseminación viral y contribuyen a la evasión de la respuesta inmune del hospedero (3,4,5).

Diversas proteínas celulares implicadas en la dinámica del citoesqueleto, el tráfico vesicular y la organización de membranas han sido identificadas como factores relevantes en la replicación viral. Entre ellas se encuentran Hsp70, Rac1, PAK1, Annexina A2 y Caveolina-1, las cuales participan en procesos de señalización celular, remodelación del citoesqueleto y transporte vesicular, elementos esenciales para la propagación de diversos virus (6,7,8,9). Estas proteínas han sido propuestas como posibles blancos terapéuticos para interferir con la replicación y diseminación viral (1,2).

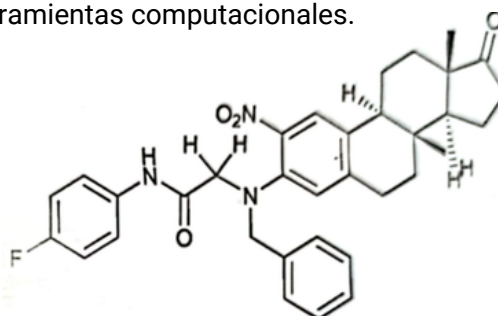
En los últimos años, las herramientas de bioinformática estructural y modelado molecular han emergido como estrategias clave para identificar posibles blancos moleculares y explorar interacciones entre compuestos bioactivos y proteínas celulares. Plataformas como AlphaFold han permitido obtener modelos estructurales de alta precisión para millones de proteínas, facilitando el análisis estructural y

funcional de proteínas previamente no caracterizadas (10,11). Asimismo, herramientas de predicción de blancos y docking molecular, como SwissTargetPrediction, PharmMapper y CB-Dock2, permiten identificar potenciales sitios de unión y estimar afinidades de interacción entre ligandos y proteínas (12,13,14,15).

Dentro de este contexto, las aminoestronas bioactivas han mostrado actividad antiviral en estudios recientes, lo que sugiere su potencial como compuestos candidatos para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas (16). Sin embargo, los mecanismos moleculares responsables de su actividad antiviral aún no se encuentran completamente caracterizados. Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo predecir posibles blancos celulares del compuesto aminoestróna US2NE102 mediante herramientas de bioinformática y acoplamiento molecular, evaluando su interacción con proteínas celulares involucradas en la replicación y transmisión célula-a-célula de flavivirus.

## Materiales y Métodos

*Diseño del estudio:* Se realizó un estudio in silico basado en análisis bioinformático y acoplamiento molecular (molecular docking) con el objetivo de predecir posibles blancos celulares del compuesto aminoestróna US2NE102 (**Figura 1**). El enfoque metodológico incluyó la identificación de proteínas celulares relevantes en la replicación y transmisión célula-a-célula de flavivirus, la obtención de sus estructuras tridimensionales y la evaluación de su interacción potencial con el ligando mediante herramientas computacionales.



**Figura 1.** Estructura química del compuesto aminoestróna US2NE102 utilizada como ligando en los análisis de docking molecular.

*Selección de blancos celulares:* Los posibles blancos proteicos se identificaron mediante las plataformas SwissTargetPrediction y PharmMapper, complementadas con una revisión de la literatura científica sobre factores celulares implicados en la replicación y propagación de flavivirus. A partir de este análisis se seleccionaron cinco proteínas celulares: Hsp70 (HSPA1A), Rac1, PAK1, Annexina A2 (ANXA2) y Caveolina-1 (CAV1), las cuales participan en procesos de señalización celular, dinámica del citoesqueleto y tráfico vesicular (12,13).

*Obtención de estructuras proteicas:* Las estructuras tridimensionales de las proteínas seleccionadas se obtuvieron de la AlphaFold Protein Structure Database, una base de datos que proporciona modelos estructurales predichos mediante inteligencia artificial (10,11).

*Preparación del ligando:* La estructura química del compuesto US2NE102 (aminoestrón 5b) se generó a partir de su representación SMILES utilizando la plataforma DECIMER.ai, obteniéndose posteriormente el archivo molecular en formato mol para su utilización en los análisis de docking.

*Predicción de cavidades y docking molecular:* La identificación de cavidades potenciales y el análisis de acoplamiento molecular se realizaron utilizando la plataforma CB-Dock2, que integra detección automática de cavidades y simulaciones de docking proteína-ligando. Para cada proteína se identificaron los posibles sitios de unión y se calcularon las energías de interacción expresadas como binding energy (kcal/mol) (14,15,20).

*Análisis de propiedades fisicoquímicas:* Las propiedades fisicoquímicas del compuesto US2NE102, incluyendo masa molecular, lipofilia (LogP), área de superficie polar topológica (TPSA), número de enlaces rotables y capacidad de formar enlaces de hidrógeno, se analizaron mediante la plataforma SwissADME.

*Análisis estadístico:* Los resultados de afinidad de unión obtenidos en los análisis de docking se evaluaron de forma descriptiva mediante la comparación de los valores de energía de unión (kcal/mol) y la identificación de los sitios con mayor afinidad para cada proteína.

## Resultados

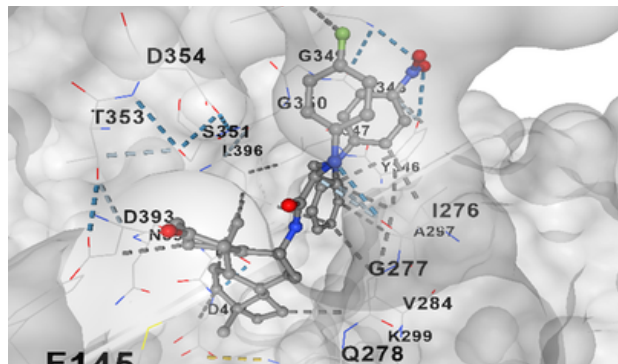
El análisis de acoplamiento molecular permitió identificar múltiples sitios potenciales de interacción entre el compuesto US2NE102 y las proteínas celulares seleccionadas, todas ellas implicadas en procesos de señalización celular, dinámica del citoesqueleto y tráfico vesicular asociados a la replicación y transmisión célula-a-célula de flavivirus. En general, el ligando mostró afinidades de unión relevantes con todas las proteínas evaluadas, con valores de energía de interacción que oscilaron entre -8.5 y -10.8 kcal/mol.

En la proteína Hsp70, el análisis de docking identificó cinco cavidades potenciales de unión. El sitio con mayor afinidad presentó una energía de interacción de -9.2 kcal/mol y se localizó en una región próxima al dominio de unión a nucleótidos (NBD). Este sitio incluye residuos polares y cargados, como ARG49, GLU48 y ASN31, lo que sugiere la formación de interacciones electrostáticas y enlaces de hidrógeno capaces de estabilizar la unión del ligando. Otro sitio relevante presentó una afinidad de -9.0 kcal/mol, asociado a residuos implicados en el reconocimiento de proteínas mal plegadas (**Figura 2**).

En el caso de Rac1, se identificaron cinco posibles sitios de interacción. El sitio principal mostró una energía de unión de -8.6 kcal/mol y correspondió a la cavidad de mayor volumen estructural, lo que permite una adecuada acomodación del ligando. Los residuos implicados en esta interacción incluyen ALA13, VAL14, PHE28, GLU31, LYS116 y ASP118, asociados a interacciones hidrofóbicas, electrostáticas y enlaces de hidrógeno (**Figura 3**).

La mayor afinidad de interacción se observó con la proteína PAK1, donde el docking reveló valores de energía de unión de  $-10.8$  kcal/mol y  $-10.4$  kcal/mol en dos cavidades principales. Estas regiones se localizan próximas al dominio quinasa de la proteína e incluyen residuos estructuralmente relevantes como Lys141, Phe145, Thr146 y Asp147, asociados con la actividad catalítica de la quinasa (**Figura 4**).

**Figura 4.** Interacción proteína-ligando entre US2NE102 y PAK1, mostrando el sitio de unión con mayor afinidad predicha mediante docking molecular.



En Caveolina-1, el análisis identificó cinco posibles cavidades de unión. El sitio con mayor afinidad presentó una energía de interacción de  $-8.5$  kcal/mol y estuvo asociado a residuos hidrofóbicos y aromáticos como ILE49, VAL52, PHE92 y TYR97, lo que sugiere una interacción estable en regiones vinculadas a la organización de microdominios de membrana.

Las propiedades fisicoquímicas del compuesto US2NE102 indicó una masa molecular aproximada de 520–540 Da, un LogP moderado (2.5–4.5) y un TPSA entre 70 y 100 Å<sup>2</sup>, características compatibles con una adecuada permeabilidad celular y capacidad para interactuar tanto con cavidades proteicas como con regiones hidrofóbicas de membrana.

## Discusión

El presente estudio utilizó herramientas de bioinformática estructural y acoplamiento molecular para identificar posibles blancos celulares del compuesto aminoestrón US2NE102 en proteínas del hospedero implicadas en la replicación y transmisión célula-a-célula de flavivirus. Los resultados del docking mostraron afinidades de unión relevantes con PAK1, Annexina A2, Hsp70, Rac1 y Caveolina-1, lo que sugiere un posible mecanismo de acción multitarget.

Entre las proteínas analizadas, PAK1 presentó la mayor afinidad de interacción ( $-10.8$  kcal/mol). Esta quinasa regula procesos clave como la dinámica del citoesqueleto y la señalización celular, los cuales han sido asociados con la replicación y propagación viral (19,20). La interacción del compuesto con residuos localizados en el dominio quinasa de PAK1 sugiere que US2NE102 podría interferir con rutas de señalización celular relevantes para la diseminación viral.

La Annexina A2 también mostró afinidades elevadas (hasta  $-10.2$  kcal/mol). Esta proteína participa en la organización de membranas y en procesos de tráfico vesicular que pueden facilitar la transmisión viral y la evasión inmunológica (1,3). La unión del compuesto a regiones funcionales de esta proteína podría alterar rutas celulares utilizadas por flavivirus durante su ciclo replicativo.

La interacción observada con Hsp70 indica que el compuesto podría influir en procesos celulares relacionados con el plegamiento proteico y la respuesta al estrés. Las proteínas de choque térmico de la familia Hsp70 han sido implicadas en la replicación de diversos virus ARN al participar en el ensamblaje de complejos de replicación y en la estabilización de proteínas virales (6,7).

Por su parte, Rac1 y Caveolina-1 están asociadas con la reorganización del citoesqueleto y el tráfico vesicular dependiente de membrana.

Estos procesos son utilizados por distintos virus para facilitar la transmisión célula-a-célula y el transporte intracelular (4,5,8,9). Aunque las afinidades observadas fueron menores, los resultados sugieren que US2NE102 podría interactuar con múltiples proteínas del hospedero involucradas en la propagación viral. En conjunto, los resultados respaldan la hipótesis de que US2NE102 podría actuar como un modulador multitarget de proteínas celulares, interfiriendo con procesos clave para la replicación de flavivirus. Este enfoque dirigido a factores del hospedero representa una estrategia prometedora para el desarrollo de antivirales de amplio espectro y podría reducir la aparición de resistencia viral (2,17,21).

Sin embargo, este estudio se basa en predicciones computacionales de docking molecular, por lo que las interacciones propuestas deben validarse mediante ensayos experimentales y estudios de dinámica molecular para confirmar la estabilidad de los complejos proteína-ligando (14,15).

En conclusión, US2NE102 muestra potencial como modulador de proteínas celulares implicadas en la replicación y transmisión de flavivirus, proporcionando una base para futuros estudios experimentales orientados al desarrollo de nuevas estrategias antivirales.

## Limitaciones y recomendaciones

Limitaciones: El presente estudio se basa exclusivamente en análisis *in silico* mediante herramientas de bioinformática estructural y acoplamiento molecular. Aunque el docking permite predecir posibles interacciones proteína-ligando y estimar afinidades de unión, estos resultados no reflejan necesariamente la dinámica completa del sistema biológico. Las interacciones predichas deben interpretarse como hipótesis estructurales que requieren validación experimental.

Además, el análisis se realizó utilizando modelos estructurales predichos por AlphaFold, los cuales, aunque presentan alta precisión, pueden diferir de las conformaciones adoptadas por las proteínas en condiciones fisiológicas.

## Recomendaciones

Estudios futuros deberían incluir simulaciones de dinámica molecular para evaluar la estabilidad de los complejos proteína-ligando a lo largo del tiempo, así como ensayos bioquímicos y celulares que permitan validar experimentalmente las interacciones predichas. Asimismo, la evaluación del efecto antiviral de las aminoestronas en modelos celulares de infección por flavivirus podría aportar evidencia adicional sobre su potencial terapéutico.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad de Buenos Aires (UBA) y al Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, por el apoyo académico y científico brindado durante el desarrollo de este trabajo. Asimismo, se agradece a la Caja de Seguro Social de Panamá y a la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) por su apoyo institucional.

## Contribuciones de los autores

Victoria Edner: Conceptualización, análisis bioinformático, metodología, análisis de datos, visualización y redacción del manuscrito.

Lydie De Gracia: Conceptualización, supervisión científica, interpretación de resultados y revisión crítica del manuscrito.

## Conflicto de intereses/ Reconocimiento

Los autores declaran que no existen conflictos de interés relacionados con este estudio.

## Disponibilidad de datos

Los datos generados o analizados durante este estudio se encuentran disponibles dentro del artículo. Información adicional podrá ser proporcionada por los autores correspondientes previa solicitud razonable.

## Referencias

1. Gerold G, Bruening J, Weigel B, Pietschmann T. 2017. Protein Interactions during the Flavivirus and Hepacivirus Life Cycle \*. *Molecular & Cellular Proteomics* 16:S75–S91.
2. Marceau CD, Puschnik AS, Majzoub K, Ooi YS, Brewer SM, Fuchs G, Swaminathan K, Mata MA, Elias JE, Sarnow P, Carette JE. 2016. Genetic dissection of Flaviviridae host factors through genome-scale CRISPR screens. *Nature* 535:159–163.
3. Latanova A, Karpov V, Starodubova E. 2024. Extracellular Vesicles in Flaviviridae Pathogenesis: Their Roles in Viral Transmission, Immune Evasion, and Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* 25.
4. Bracq L, Xie M, Benichou S, Bouchet J. 2018. Mechanisms for Cell-to-Cell Transmission of HIV-1. *Frontiers in Immunology* Volume 9-2018.
5. Zhong P, Agosto LM, Munro JB, Mothes W. 2013. Cell-to-cell transmission of viruses. *Current Opinion in Virology* 3:44–50.
6. Hu C, Yang J, Qi Z, Wu H, Wang B, Zou F, Mei H, Liu J, Wang W, Liu Q. 2022. Heat shock proteins: Biological functions, pathological roles, and therapeutic opportunities. *MedComm* 3:e161.
7. Terrab L, Wipf P. 2020. Hsp70 and the Unfolded Protein Response as a Challenging Drug Target and an Inspiration for Probe Molecule Development. *ACS Med Chem Lett* 11:232–236.
8. Castro-Castro A, Muriel O, del Pozo MA, Bustelo XR. 2016. Characterization of Novel Molecular Mechanisms Favoring Rac1 Membrane Translocation. *PLOS ONE* 11:e0166715.
9. Nethe M, Anthony EC, Fernandez-Borja M, Dee R, Geerts D, Hensbergen PJ, Deelder AM, Schmidt G, Hordijk PL. 2010. Focal-adhesion targeting links caveolin-1 to a Rac1-degradation pathway. *Journal of Cell Science* 123:1948–1958.
10. Varadi M, Bertoni D, Magana P, Paramval U, Pidruchna I, Radhakrishnan M, Tsenkov M, Nair S, Mirdita M, Yeo J, Kovalevskiy O, Tunyasuvunakool K, Laydon A, Židek A, Tomlinson H, Hariharan D, Abrahamson J, Green T, Jumper J, Birney E, Steinegger M, Hassabis D, Velankar S. 2024. AlphaFold Protein Structure Database in 2024: providing structure coverage for over 214 million protein sequences. *Nucleic Acids Research* 52:D368–D375.
11. Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, Tunyasuvunakool K, Bates R, Židek A, Potapenko A, Bridgland A, Meyer C, Kohl SAA, Ballard AJ, Cowie A, Romera-Paredes B, Nikolov S, Jain R, Adler J, Back T, Petersen S, Reiman D, Clancy E, Zielinski M, Steinegger M, Pacholska M, Berghammer T, Bodenstein S, Silver D, Vinyals O, Senior AW, Kavukcuoglu K, Kohli P, Hassabis D. 2021. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature* 596:583–589.

12. Daina A, Michielin O, Zoete V. 2019. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research* 47:W357–W364.
13. Liu X, Ouyang S, Yu B, Liu Y, Huang K, Gong J, Zheng S, Li Z, Li H, Jiang H. 2010. PharmMapper server: a web server for potential drug target identification using pharmacophore mapping approach. *Nucleic Acids Research* 38:W609–W614.
14. Liu Y, Yang X, Gan J, Chen S, Xiao Z-X, Cao Y. 2022. CB-Dock2: improved protein–ligand blind docking by integrating cavity detection, docking and homologous template fitting. *Nucleic Acids Research* 50:W159–W164.
15. Yang X, Liu Y, Gan J, Xiao Z-X, Cao Y. 2022. FitDock: protein–ligand docking by template fitting. *Briefings in Bioinformatics* 23:bbac087.
16. Attorresi C, Falcone B, Bonifazi E, Gola G, Barquero A, Ramirez JA. 2020. The Ugi-Smiles Reaction on Steroids: Discovery of Bioactive N,N-Disubstituted 3-Aminoestrone. Preprint <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.12923858.v1>.
17. Shuler G, Hagai T. 2022. Rapidly evolving viral motifs mostly target biophysically constrained binding pockets of host proteins. *Cell Reports* 40.
18. Tian W, Chen C, Lei X, Zhao J, Liang J. 2018. CASTp 3.0: computed atlas of surface topography of proteins. *Nucleic Acids Research* 46:W363–W367.
19. Sells MA, Boyd JT, Chernoff J. 1999. p21-Activated Kinase 1 (Pak1) Regulates Cell Motility in Mammalian Fibroblasts. *Journal of Cell Biology* 145:837–849.
20. Kichina JV, Goc A, Al-Husein B, Somanath PR, Kandel ES. 2010. PAK1 as a therapeutic target. *Expert Opinion on Therapeutic Targets* 14:703–725.
21. Kelleher KJ, Sheils TK, Mathias SL, Yang JJ, Metzger VT, Siramshetty VB, Nguyen D-T, Jensen LJ, Vidović D, Schürer SC, Holmes J, Sharma KR, Pillai A, Bologa CG, Edwards JS, Mathé EA, Oprea TI. 2023. Pharos 2023: an integrated resource for the understudied human proteome. *Nucleic Acids Research* 51:D1405–D1416.