

Bioinformática en la evaluación de constituyentes del LECISAN con proteínas dianas del metabolismo oxidativo y procesos inflamatorios

Bioinformatics in the evaluation of constituents of LECISAN with target proteins of oxidative metabolism and inflammatory processes

Leidys Cala Calviño¹ *

[0000-0001-6548-4526](tel:0000-0001-6548-4526)

Susana Suñol Santiago¹

[0009-0006-8771-5050](tel:0009-0006-8771-5050)

Julio Alberto Rojas-Vargas²

[0000-0002-8877-1592](tel:0000-0002-8877-1592)

Humberto Joaquín Morris Quevedo³

[0000-0002-3916-8594](tel:0000-0002-3916-8594)

¹ Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba. Santiago de Cuba, Cuba.

³ Universidad de Oriente. Facultad de Ciencias Naturales y Exactas. Departamento de Química. Santiago de Cuba, Cuba.

⁴ Universidad de Oriente. Centro de estudios de biotecnología Industrial. Santiago de Cuba, Cuba.

*Autor para la correspondencia: leidyscalacalvino@gmail.com

RESUMEN

En la búsqueda de nuevos fármacos, el objetivo principal es encontrar moléculas que puedan interferir alguna vía o señal metabólica responsable de una enfermedad. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto in silico de constituyentes del LECISAN con proteínas dianas del metabolismo oxidativo y procesos inflamatorios. El acoplamiento se llevó a cabo a través del programa AutoDock 4.2 (<http://autodock.scripps.edu>) y las estructuras de dianas moleculares se obtuvo con la base de datos de proteínas, PDB (www.rcsb.org). Se estimaron la energía libre (ΔG), la constante de disociación (K_i) y la eficiencia de ligando (LE) con los que se seleccionaron los mejores modelos de acoplamiento. Los mejores indicadores de ΔG y K_i , correspondieron a los complejos, con valores de ΔG (-9,19 y -7,63kcal/mol) y K_i (0,183 μ M y 2,37 μ M), respectivamente. La eficiencia de ligando alcanzó valores adecuados para dianas relacionadas con la inflamación. El estudio predictivo in silico reveló potencialidades de la lisofosfatidilcolina (LPC), constituyente el LECISAN, con posible actividad pro-inflamatoria mediante la vía de la enzima 5-LOX, con participación de la enzima COX, y el factor NF κ B. Los resultados mostraron valores no promisorios de ΔG , K_i para las interacciones con enzimas antioxidantes.

Palabras Clave: LECISAN; acoplamiento molecular; modelos in silico; bioinformática.



ABSTRACT

In the search for new drugs, the main objective is to find molecules that can interfere with some pathway or metabolic signal responsible for a disease. The objective of this research was evaluate the in silico effect of constituents of LECISAN with target proteins of oxidative metabolism and inflammatory processes. The docking was carried out through the AutoDock 4.2 program (<http://autodock.scripps.edu>) and the structures of molecular targets were obtained from the protein database, PDB (www.rcsb.org). The free energy (ΔG), the dissociation constant (K_i) and the ligand efficiency (LE) were estimated with which the best coupling models were selected. The best indicators of ΔG and K_i corresponded to the complexes, with values of ΔG (-9.19 and -7.63 kcal/mol) and K_i (0.183 μM and 2.37 μM), respectively. The ligand efficiency reached adequate values for targets related to inflammation. The in silico predictive study revealed the potential of lysophosphatidylcholine (LPC), as a constituent of LECISAN, with possible pro-inflammatory activity through the 5-LOX enzyme pathway, with the participation of the COX enzyme, and the NF κ B factor. The results showed unpromising values of ΔG , K_i for the interactions with antioxidant enzymes.

Keywords: LECISAN; molecular docking; in silico models, bioinformatics.

Recibido: 15/08/2023

Aprobado: 15/12/2023

Introducción

Actualmente la realización de ensayos clínicos rigurosos, necesarios para el registro de productos naturales como medicamentos, representa un gran reto. Además de las cuestiones relacionadas con patentes, cabe mencionar el actual interés de la industria farmacéutica por grandes moléculas biológicas como proteínas o ácidos nucleicos. Por este motivo este recurso comenzó a desvanecerse a principios de la década de 1990, cuando las grandes compañías farmacéuticas enfocaron sus esfuerzos hacia bibliotecas muy grandes de compuestos sintéticos.⁽¹⁾ Si bien la complejidad intrínseca del descubrimiento de fármacos basados en productos naturales requiere enfoques interdisciplinarios altamente integrados, el desarrollo tecnológico y las tendencias de investigación indican claramente que continúan entre las fuentes más importantes de nuevos fármacos en el futuro.

Según la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA), los productos naturales representan más de un tercio de todos los aprobados.⁽¹⁾ No obstante, según el Programa de las Naciones Unidas para el Medioambiente (PNUM), se estima que sólo el 6% de las especies vegetales existentes han sido investigadas farmacológicamente de forma sistemática.⁽²⁾

En la búsqueda de nuevos fármacos, el objetivo principal es encontrar moléculas que puedan interferir alguna vía o señal metabólica responsable de una enfermedad o proceso patológico. Por tanto, la tarea de la investigación terapéutica es, por un lado, localizar el blanco terapéutico, y por otro encontrar la molécula capaz de modificar esta vía, con la



finalidad de neutralizarlo o alterarlo. La identificación de esa diana involucra a conocimientos tanto biológicos como químicos. ⁽³⁾

La observación de los fenómenos naturales y el intento de darles una explicación es producto de la inteligencia humana y un sin número de fenómenos físicos han sido susceptibles a ser respondidos con la creación o simulación de modelos experimentales que se recrean por medio de computadoras a través del uso de herramientas bioinformáticas. A esta forma de recreación de estructuras y fenómenos de alta complejidad por el elevado número de variables que se requieren correlacionar para entenderlos en su totalidad, se le ha dado el nombre de modelos in silico. Un buen ejemplo de esto, es el comportamiento de los fármacos dentro del cuerpo humano y la manera en la cual se relacionan con las diversas estructuras internas para así obtener el efecto deseado. ⁽³⁾

El término bioinformática se definió como el estudio de procesos informáticos en sistemas bióticos, siendo una disciplina joven, cuya utilización se ha incrementado hasta la actualidad en las ciencias biomédicas. A la recreación de estructuras y fenómenos de alta complejidad, por un elevado número de variables que se requieren correlacionar para entenderlos en su totalidad, se le ha dado el nombre de modelos in silico. Al empleo de métodos computacionales para la identificación, diseño o análisis del potencial farmacológico de una sustancia se le conoce como cribado virtual. Consiste en seleccionar de manera correcta las estructuras químicas a emplear, la geometría, cargas y quiralidad adecuadas de los compuestos de interés, y realizar simulaciones que pueden incluir, la similitud química, acoplamiento molecular y dinámico molecular. Los resultados obtenidos de estos ensayos son probabilísticos, por lo que no asevera que se ha descubierto o diseñado un nuevo fármaco hasta comprobarlo en pruebas biológicas, pero son herramientas invaluable para la optimización de tiempo y recursos. ⁽⁴⁾

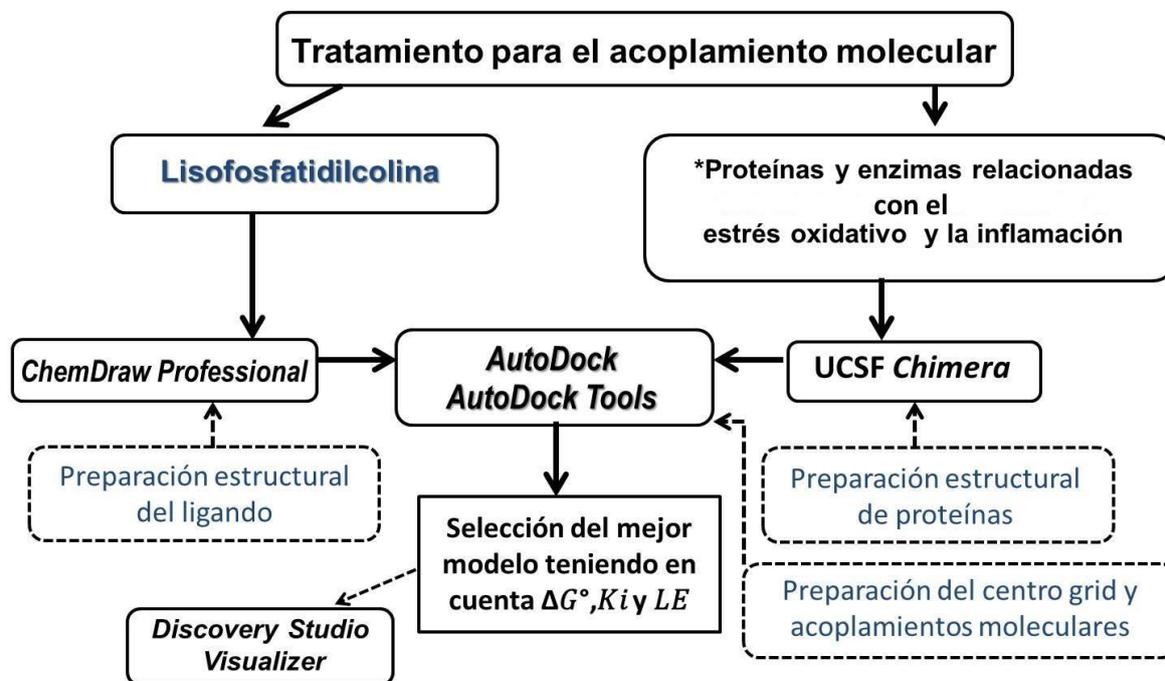
El estudio de los efectos farmacológicos preclínicos del LECISAN, permitirá determinar su potencial empleo en el tratamiento de enfermedades generadas por estrés oxidativo e inflamación. La significación práctica de este estudio está dada por la posibilidad de reposicionar el producto estudiado, pasando de suplemento nutricional a fármaco natural. El producto de esta investigación puede contribuir a avalar el uso terapéutico racional, aspecto en el cual radica el aporte social del presente trabajo. A partir de estos elementos, el presente trabajo estuvo dirigido a realizar una evaluación in silico del efecto de constituyentes del LECISAN con proteínas dianas del metabolismo oxidativo y procesos inflamatorios.



Métodos

Herramientas informáticas y protocolo de acoplamiento molecular

El estudio se llevó a cabo a través de los programas AutoDock 4.2 (<http://autodock.scripps.edu>) utilizando las capacidades de cómputo de alto rendimiento de la Universidad de Oriente, Cuba (HPC-UO) (<https://portal.uo.hpc.cu/website/>). La metodología general empleada se resume en la figura 1.



*Enzima ciclooxigenasa-2 (COX-2); enzima araquidonato 5-lipooxigenasa o 5-lipooxigenasa (5-LO); proteína NF-kB; enzima NADPH-oxidasa; enzima catalasa (CAT).

Fig.1- La metodología general empleada en la predicción in silico.

Los programas AutoDock Tools 1.5.6 (<http://autodock.scripps.edu>) y UCSF Chimera 1.16 (<https://www.ch.cam.ac.uk/computing/software/ucsf-chimera>) se emplearon para la preparación y ajuste del ligando y proteínas, preparación del centro Grid, acoplamiento moleculares e identificar los residuos que podían interferir con sus centros activos. Para la representación y optimización de la estructura de la lisofosfatidilcolina (LPC) se empleó el software ChemDraw Professional 17.0 (<https://perkinelmerinformatics.com/products/research/chemdraw>). Las estructuras de las proteínas fueron extraídas de la PDB (en inglés Protein Data Bank) obtenidas mediante cristalografía de rayos-X y se exportaron en el formato pdbqt.⁽⁵⁾

El Algoritmo Genético Lamarckiano (LGA) permitió explorar el mejor espacio conformacional para el ligando, con 100 corridas para cada uno de los acoplamientos. Las cifras de los parámetros de estabilidad y representaciones 2D-3D de las interacciones intermoleculares se generaron con el programa BIOVIA Discovery StudioVisualizer 20.1.0 (<https://biovia-discovery-studio-2020-client.software.informer.com/20.1/>). En la tabla 1 se muestran las coordenadas y tamaño de la caja grid del sitio activo para las proteínas dianas.



Tabla 1- Configuración de la caja enrejada (grid box) para el acoplamiento molecular.

*Método de difracción de rayos-X.

Proteína	Especie	PDB ID (Resolución)	Coordenadas centro grid			Tamaño
			X	Y	Z	
Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFkB)	Homo sapiens	1IKN (2,30 Å)*	43,871	31,76	22,269	60x60x60
Enzima cicloxigenasa 2 (COX-2)	Mus musculus	1PXX (2,90 Å)*	27,058	24,431	15,437	
Enzima 5-lipoxigenasa(5-LOX)	Homo sapiens	3V99 (2,25 Å)*	20,424	-72,78	-36,688	
Enzima catalasa (CAT)	Proteus mirabilis	2CAG (2,70 Å)*	58,38	19,08	18,3	
Enzima Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato (NADPH-oxidasa)	Homo sapiens	1NG2 (1,70 Å)*	17,246	49,571	10,014	

Como criterios de estabilidad de las interacciones intermoleculares se tomaron los parámetros: constante de disociación (K_i) cuyo valor más bajo indicó mayor afinidad y unión a su objetivo biológico; energía libre de Gibbs (ΔG°) para la unión del complejo ligando-sitio activo, cuyos valores más negativos indican mayores energías de unión ⁽⁶⁾; y eficiencia del ligando (LE, por sus siglas en inglés *efficiency ligand*) según los valores definidos por Hopkins y col. ($LE \leq -0,2$ malos; $LE > -0,3$ buenos y, $LE > -0,4$ como excelentes). La interpretación de estos parámetros se basó en la relación entre las magnitudes químico-físicas y la fortaleza de interacción del complejo enzima-sustrato. ⁽⁷⁾



Resultados

Realizando el análisis del mejor modelo de acoplamiento para poder hacer un acercamiento a los mecanismos por los que ocurren los efectos del producto, se consideró el análisis particular y general de los parámetros de estabilidad (Tabla 2). La proteína que mostró mayor afinidad, reveló los valores más bajos de K_i , 5-LOX (0,183 μM) y los valores más altos, para NADPH-oxidasa (80,14 μM). Resultaron prometedores los valores de ΔG° de unión del complejo ligando-sitio activo de las enzimas 5-LOX (-9,19) y COX-2 (-7,63), siendo considerados parámetros intermedios en cuanto a fortaleza en la interacción. Por otro lado, para ninguna de las dianas escogidas se supera el valor -0,3 para ser consideradas buenas interacciones, pero los valores mayores resultaron para 5-LOX (-0,26), considerándolos aceptables. Para la proteína NFkB la K_i fue baja, pero los parámetros LE y ΔG° resultaron no valiosos para considerar interacciones prometedoras. De igual manera resultó para las dianas relacionadas con el estrés oxidativo (EO). La interpretación general debe considerar todos los parámetros de estabilidad, aunque sin lugar a dudas los mejores modelos del acoplamiento los exhiben 5-LOX y COX-2.

Tabla 2- Resultados de predicción de la energía libre de unión, la constante de inhibición y la eficiencia de ligando de la LPC con proteínas dianas.

Enzima	PDB ID	ΔG (kcal/mol)	K_i	LE (kcal/mol/átomo no H)
NFkB	1IKN	-5,79	56,88 μM	-0,17
COX-2	1PXX	-7,63	2,37 μM	-0,22
5-LOX	3V99	-9,19	0,183 μM	-0,26
CAT	2CAG	-2,01	33,49 μM	-0,06
NADPH-oxidasa	1NG2	-5,59	80,14 μM	-0,16

Leyenda: ΔG -energía libre de unión, K_i -constante de inhibición, LE-eficiencia de ligando.

Las interacciones de 5-LOX (PDB: 3V99)/LPC, fueron cuatro enlaces C-H, dos puentes de hidrógeno y cuatro uniones alquil y π alquil. Destaca unión a residuos de aminoácidos pertenecientes al centro activo de la enzima, tales como: His-367, leu-368 (mediante puentes de hidrógeno) y Ala 410 (enlace alquil) (Fig. 3). Los residuos de aminoácidos que se reportan como más activos en la enzima 5-LOX son: Tyr-558, Phe-555, Asn-554, His-367, His-372, Ile-406, Ala 410 y Phe-177. ⁽⁸⁾



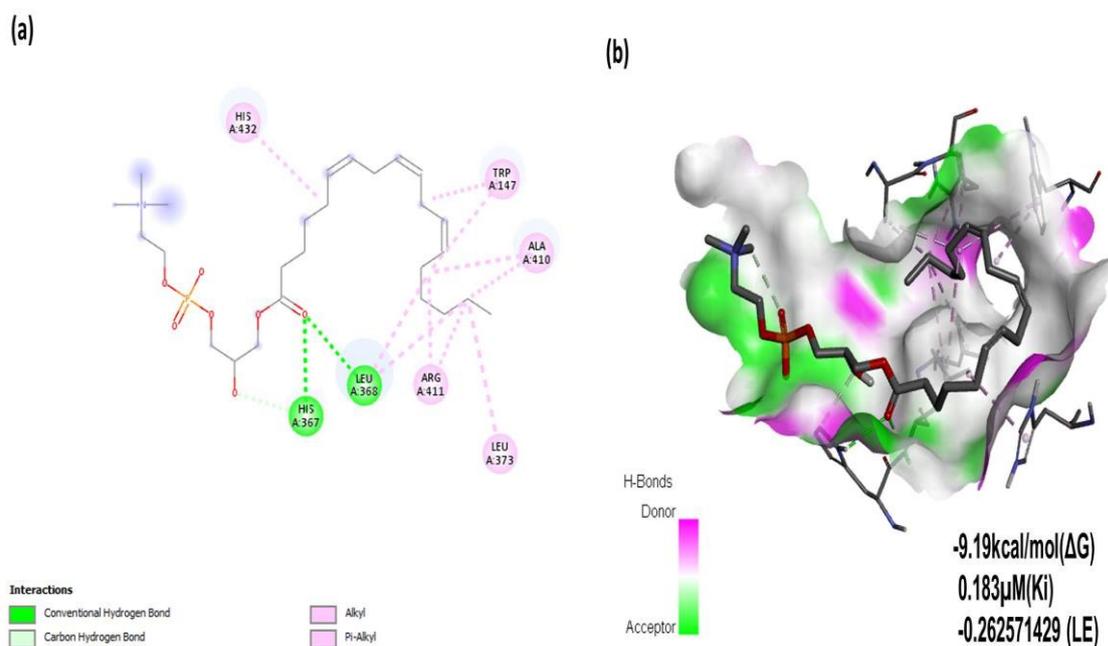


Fig. 3-Cavidad del sitio activo de 5-LOX (PDB: 3V99) en complejo con LPC. Interacciones 2D(a) y 3D (b) del complejo.

Cifras generadas por *Discovery Studio Visualizer v20.1.0.19295*.

Las interacciones entre el complejo COX-2 (PDB:1PXX)//LPC se caracterizaron por la presencia de dos puentes de hidrógeno (Arg-120 y Tyr-355) cercanos al sitio activo, una carga electrostática con Arg-120, con quien tuvo enlace por puente hidrógeno, una unión C-H (Ser-353) y ocho enlaces alquil y π -alquil (Trp-387, Leu-384, Leu-534, Tyr-385, Phe-381, Phe-205, Phe-209, Val-228) (Fig. 4). El sitio activo de COX se divide en tres regiones: entrada del sitio activo, que comprende Arg-120 y Tyr-355 donde COX-2 tiene un bolsillo lateral y bolsillo hidrofóbico. La entrada del sitio activo y el bolsillo hidrofóbico son regiones muy conservadas, pero el bolsillo lateral y algunos residuos de aminoácidos son diferentes. La accesibilidad del bolsillo lateral en COX-2 permite interacciones adicionales con Arg-513 y la orientación de Leu-384 también contribuye a la selectividad. El pequeño tamaño de Leu-503 permite que Leu-384 se aleje del sitio activo y aumenta el espacio accesible en el sitio de unión.⁽⁹⁾ Precisamente LPC presenta interacciones moleculares con Arg-120, Tyr-355 y Leu-384 que hacen suponer buena afinidad por la enzima, lo cual se corrobora con los parámetros de estabilidad estudiados.



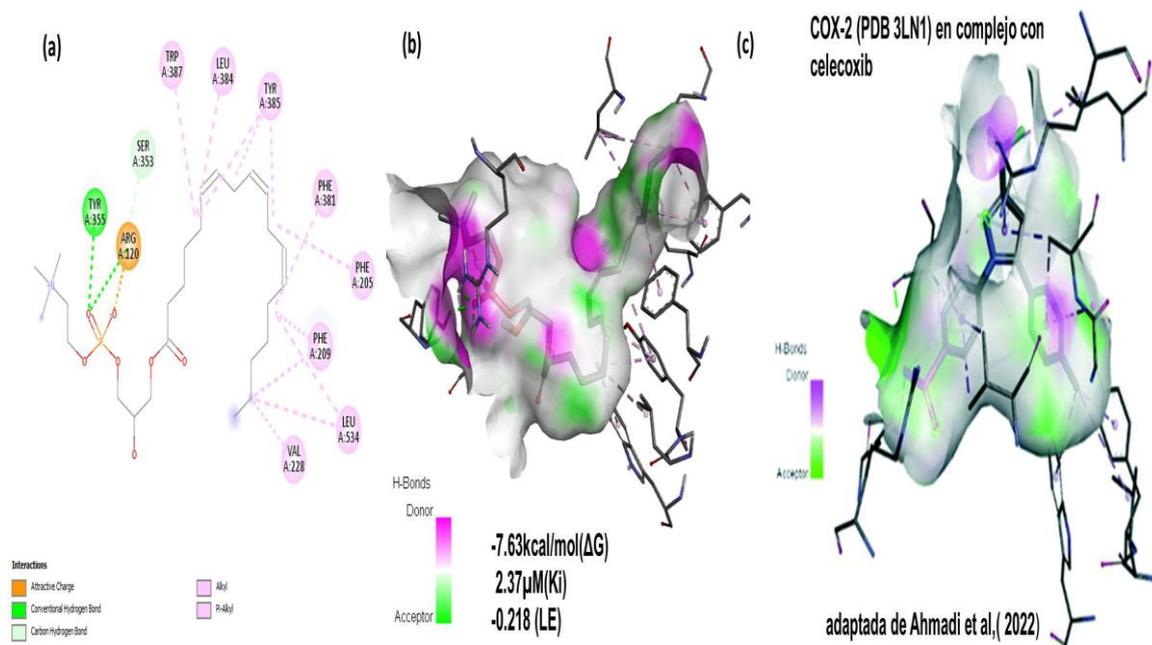


Fig. 4- Cavidad del sitio activo de COX-2 (PDB: 1PXX) en complejo con LPC. Interacciones 2D(a) y 3D (b), 3D(c) COX-2 (PDB 3LN1) en complejo con celecoxib.

Cifras generadas por *Discovery Studio Visualizer v20.1.0.19295*.

Modificada de: Ahmadi y col. ⁽¹⁰⁾

Los residuos de aminoácidos que se reportan como activos en NF-kB son: Cys-215, Asn182, Thr-256 y Tyr-248, Asn-216, Leu-346.⁽¹¹⁾ No es despreciable su posible participación en los mecanismos propuestos (ΔG° -5,79 kcal/mol, K_i 56,88 μ M y LE -0,17 kcal/mol/átomo no H).

Los resultados del acoplamiento molecular con proteínas relacionadas con el estrés oxidativo revelaron que la enzima NADPH-oxidasa presenta en su sitio activo varios residuos de aminoácidos (Trp-193, Ser-173, Tyr279, Trp-263, Glu-244, Asp-243, Glu-241 y Leu-210).⁽¹²⁾ En este estudio no se observaron interacciones de interés con esos sitios y los parámetros de estabilidad así lo confirmaron. De igual manera no resultaron promisorios tampoco para la enzima CAT.

Discusión

Los productos naturales han contribuido históricamente al descubrimiento de fármacos como fuente de moléculas bioactivas y la química combinatoria, junto al desarrollo de las técnicas computacionales, han llevado al procesamiento de datos y al abordaje multidimensional del proceso de descubrimiento de fármacos.⁽¹³⁾

Las energías de unión se expresan en términos de eficiencia del ligando como medida que relaciona ΔG° con el tamaño de la molécula. Se obtiene al dividir ΔG° de cada molécula entre el número de átomos (n) no hidrógenos, presentes en la estructura. A medida que aumenta la LE, disminuye el peso molecular del medicamento final y da una pauta para decidir entre dos series, cuál es la más prometedora.⁽⁵⁾



Se define con mayor afinidad a una interacción que ocurre a menor concentración que otras moléculas. Cuando un ligando obtuvo el valor de la K_i muy pequeño, indicó que éste y su objetivo biológico se unieron fuertemente y existió mayor afinidad. Según Atkovska ⁽⁷⁾, la interacción es débil con valores inferiores a 10^{-3} y, fuertes por encima de 10^{-12} . La K_i es un tipo específico de constante de equilibrio que mide la propensión de un compuesto más grande a separarse reversiblemente en componentes más pequeños, y corresponde a la concentración del ligando en la que la mitad de las proteínas están ocupadas en el equilibrio, pero una interacción ligando-proteína puede cambiar significativamente con las condiciones reales, por eso estos resultados solo teorizan acerca de posibles interacciones moleculares. Por lo tanto, gran parte de la investigación farmacéutica está dirigida a diseñar fármacos que se unan solo a sus proteínas diana con alta afinidad. ⁽¹⁴⁾

La afinidad que poseen los ligandos, está relacionada con la energía de enlace, que puede ser determinada a partir de la constante de equilibrio; se considera una interacción débil cuando ΔG° es inferior a -2 y fuerte cuando supera a -16, es decir, mientras más negativos los valores, mayores energías de unión del complejo ligando-sitio activo. ⁽⁶⁾ Estos parámetros químico-físicos se relacionan de forma directa: a medida que ΔG° disminuye, la K_i también decrece, lo cual se traduce en una mayor estabilidad del complejo enzima-ligando.

Al analizar el acoplamiento con proteínas relacionadas con la inflamación se reveló que la activación de 5-LOX está asociada con la proteína activadora de LOX (FLAP), que actúa como una proteína de transferencia de ácido araquidónico (AA). ⁽¹⁵⁾ Se conoce, además, que tanto las lipoxinas (LX) como las epilipoxinas ejercen su acción a través del receptor de LX A4/receptor de péptido de formilo 2 (ALX/FPR2, también llamado receptor ALX, receptor FPR2, ALX/FPR y FPRL1) que promueve la señalización proinflamatoria en los leucocitos, lo que conduce a una aterosclerosis acelerada. ⁽⁹⁾

Las LX se sintetizan en dos vías principales mediante la acción secuencial de las enzimas LOX, incluidas 5-LOX, 12-LOX y 15-LOX. La primera vía implica la conversión enzimática de LTA4 por 12-LOX. La segunda vía implica la acción de 15-LOX y 5-LOX sobre el AA. La localización subcelular de 5-LOX determina la formación de leucotrienos (LT) proinflamatorios o LX proresolutivas. La localización nuclear contribuye a la biosíntesis de LT proinflamatorios, debido a que se encuentra cerca de la hidrolasa de LTA4, lo que conduce a la conversión del AA en LTB4. Por el contrario, la localización citoplasmática está asociada con la formación de mediadores de pro-resolución especializados (SPM) lo que promueve la conversión de LTA4 a LXA4. ⁽¹⁶⁾ Las resolvinas (Rvs) son una familia de derivados bioactivos del ácido eicosapentaenoico (20:5 n-3) (EPA) y ácido Docosahexaenoico (22:6 n-3)(DHA) y tienen propiedades antiinflamatorias e inmunorreguladoras. ⁽¹⁷⁾ Las protectinas (PD) pueden formarse a partir de los dos ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI) omega-3(ω -3), el DHA y el ácido docosapentaenoico (DPA). La más conocida es la PD1 que se forma por lipoxigenación. ⁽¹⁸⁾ Las maresinas (MaR), se derivan del DHA ω -3 tienen efectos antiinflamatorios y reparadores, pero son producidas tanto por macrófagos activados, como por leucocitos y plaquetas. ⁽¹⁹⁾

La regulación de la inflamación que involucra mediadores lipídicos tiene mecanismos de control complejos al mostrar diferentes roles en la inflamación y la aterogénesis. LXA4 y LXB4 se caracterizan por múltiples efectos antiinflamatorios y contribuyen a la inhibición



de la migración transendotelial de neutrófilos, estimulada por LTB₄.⁽²⁰⁾ Los LT derivados de 5-LOX son señales primarias de la activación e inflamación de los leucocitos en respuesta a la lesión. Por lo tanto, 5-LOX organiza las fases superpuestas de inflamación y resolución para facilitar la reparación.⁽²¹⁾

Los principales sitios activos en la COX-2 en la investigación de Bokhtia y col.⁽²²⁾, son Ser-530 y Tyr-385, ambos coincidentes en nuestro estudio predictivo *in silico*. El primero, descrito en el mecanismo de acción de los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs)⁽¹⁴⁾, el segundo igual mostró unión con LPC en la predicción *in silico* mediante enlace alquil.

Celecoxib (fármaco inhibidor selectivo de la COX-2)⁽¹⁴⁾ participa en diferentes interacciones de las isoformas COX. Ligeras diferencias estructurales en el sitio activo modulan el perfil de selectividad de los compuestos inhibidores de las mismas. Los aminoácidos Arg106, Leu517, Val335 y Ala513 pueden establecer varias interacciones dentro del bolsillo de la enzima COX-2 y un resto de sulfonamida del fármaco de referencia (Celecoxib) interactúa con los aminoácidos Arg499, Leu338, Gln178 y Ser339 a través de enlaces por puente de hidrógeno. Por lo tanto, el análisis de los aminoácidos clave de la COX-2 que interactúan con la estructura química del inhibidor, permite la introducción de inhibidores de la COX-2 potentes, selectivos y seguros con un perfil de riesgo mejorado.⁽¹⁰⁾

El factor NFκB es un complejo protéico que controla la transcripción del ácido desoxirribonucleico (ADN) y es relevante en la regulación de la primera respuesta celular a estímulos celulares nocivos como el EO. Su regulación defectuosa está relacionada con enfermedades inflamatorias.⁽²³⁾ Los resultados obtenidos muestran que no es despreciable su posible participación en los mecanismos inflamatorios propuestos para la LPC.

El interés en el estudio predictivo *in silico* del acoplamiento molecular con la enzima NADPH oxidasa se basó en que los trastornos metabólicos, a menudo van acompañados de EO y señalización comprometida del óxido nítrico (NO), además las especies reactivas de oxígeno (ROS) también activan procesos proaterogénicos como la inflamación, la disfunción endotelial y la alteración del metabolismo de los lípidos.⁽²⁴⁾ La deficiencia de NO y la NADPH oxidasa desempeñan un papel clave en la disfunción endotelial y la formación de placas ateroscleróticas ya que las únicas enzimas conocidas, que se dedican exclusivamente a la generación de ROS, son las NADPH oxidasas con sus subunidades catalíticas (Nox).^{(25),(26)} Algunos de los mecanismos celulares involucrados incluyen respuesta inflamatoria y actividades pro-oxidantes de compuestos tóxicos.⁽²⁷⁾

La CAT es la segunda actividad enzimática más abundante (después de la enzima superóxido dismutasa), la cual atenúa los niveles de especies reactivas del oxígeno, nitrógeno y azufre (ERONS) que acompañan a diversos desórdenes patológicos.⁽²⁹⁾ La predicción *in silico* confirma una interacción débil de esta y el ligando.

Conclusiones

El estudio predictivo *in silico* reveló potencialidades de la lisofosfatidilcolina (LPC), constituyente del LECISAN, con posible actividad pro-inflamatoria mediante la vía de la enzima 5-LOX, con participación de la enzima COX, y el factor NFκB. Los resultados mostraron valores no promisorios de ΔG , K_i para las interacciones con enzimas antioxidantes.



Referencias

1. Schuhmacher A, Wilisch L, Kuss M, Kandelbauer A, Hinder M, Gassmann OR. Defficiency of leading pharmaceutical companies - A 20-year analysis. *Drug Discov Today*. 2021[citado 2023 Mayo 11]; 26(8): 1784-1789. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34022459/>
2. Majolo F, Oliveira LK de, Marmitt DJ, Bustamante-Filho IC, Goettert MI. Medicinal plants and bioactive natural compounds for cáncer treatment: Important advances for drug Discovery. *Phytochem Letters*. 2019[citado 2023 Mayo 11]; 31:196-207. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1874390018304968>
3. Ballón Paucara WG, Grados Torrez RE. Acomplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Rev.Cs.Farm. y Bioq*. 2019 [citado 2023 Mayo 11]; 7(2): 55-72. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652019000200006&lng=es.
4. Selzer PM, Marhöfer RJ, Koch O. *Applied Bioinformatics: An Introduction*: Springer; 2018. ISBN 978-3-319-68301-0(eBook). Disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-68301-0>
5. Bitencourt-Ferreira G, Pintro VO, de Azevedo WF. Docking with AutoDock4. *Methods in molecular biology*. 2019[citado 2023 Mayo 11]; 2053:125–148. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31452103/>
6. Meneses L, Cuesta S. Determinación Computacional de la Afinidad y Eficiencia de Enlace de Antinflamatorios No Esteroides Inhibidores de la Ciclooxygenasa-2. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*.2015 [citado 2023 Mayo 11]; 36(1-2):17-25. Disponible en: <https://doi.org/10.26807/remcb.v36i1-2.260>
7. Atkovska K, Samsonov SA, Paszkowski-Rogacz M, Pisabarro MT. Multipose binding in molecular docking. *International Journal of Molecular Sciences*. 2014[citado 2023 Mayo 11]; 15(2):2622-2645. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24481311/>
8. Gilbert NC, Newcomer ME, Werz O. Untangling the web of 5-lipoxygenase-derived products from a molecular and structural perspective: The battle between pro- and anti-inflammatory lipid mediators. *Biochemical Pharmacology*. 2021[citado 2023 Mayo 11]; 193:114759. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34487716/>
9. Kotlyarov S, Kotlyarova A. Molecular Pharmacology of Inflammation Resolution in Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*. 2022; 23(9): 4808. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35563200/>
10. Ahmadi M, Bekeschus S, Weltmann KD, von Woedtke T, Wende K. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: recent advances in the use of synthetic COX-2 inhibitors *RSC Med. Chem*. 2022[citado 2023 Mayo 11]; 13: 471-496. Disponible en: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2022/md/d1md00280e>
11. Huxford T, Huang DB, Malek S, Ghosh G. The Crystal Structure of the IκBα/NF-κB Complex Reveals Mechanisms of NF-κB Inactivation. *Cell*.



- 1998[citado 2023 Mayo 11];95:759–770. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9865694/>
12. Groemping Y, Lapouge K, Smerdon SJ, Rittinger K. Molecular Basis of phosphorylation-Induced Activation of the NADPH Oxidase. *Cell*. 2003[citado 2023 Mayo 11];113: 343-355. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12732142/>
13. de las Heras-Polo B. Productos naturales: De la medicina tradicional a cabezas de serie para el desarrollo de nuevos fármacos del siglo XXI. *An Real Acad Farm*. 2021[citado 2023 Mayo 11]; 87(1): 97-104. Disponible en: https://analesranf.com/articulo/8701_05/
14. Lorenzo-Fernández P, Moreno-González A, Leza-Cerro J, Velázquez: *Farmacología básica y clínica*. (19 ed.). Panamericana; 2018
15. Kretzer CJP, Bilancia R, Rossi A, Gür Maz T, Banoglu E, Schubert US et al. Shifting the Biosynthesis of Leukotrienes Toward Specialized Pro-Resolving Mediators by the 5-Lipoxygenase-Activating Protein (FLAP) Antagonist BRP-201. *J Inflamm Res*. 2022[citado 2023 Mayo 11]; 15: 911–925. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35173459/>
16. Kasikara C, Doran AC, Cai B, Tabas I. The role of non-resolving inflammation in atherosclerosis. *J. Clin. Investig*. 2018[citado 2023 Mayo 11]; 128: 2713–2723. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30108191/>
17. Tułowicka N, Kotłęga D, Prowans P, Szczuko M. The Role of Resolvins: EPA and DHA Derivatives Can Be Useful in the Prevention and Treatment of Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci*. 2020[citado 2023 Mayo 11]; 21: 7628. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7589657/>
18. Hansen TV, Vik A, Serhan CN. The Protectin Family of Specialized Pro-resolving Mediators: Potent Immunoresolvents Enabling Innovative Approaches to Target Obesity and Diabetes. *Front. Pharm*. 2018[citado 2023 Mayo 11]; 9: 1582. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.01582/full>
19. Chiang N, Riley IR, Dalli J, Rodriguez AR, Spur BW, Serhan CN. New maresin conjugates in tissue regeneration pathway counters leukotriene D (4)-stimulated vascular responses. *FASEB J*. 2018[citado 2023 Mayo 11]; 32:4043–4052. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29490167/>
20. Cochain C, Ait-Oufella H, Zerneck A. Neutrophils promotes atherosclerotic plaque destabilization in a mouse model of endotoxinaemia. *Cardiovasc. Res*. 2018[citado 2023 Mayo 11]; 114: 1573–1574. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29992257/>
21. Halade GV, Kain V, Hossain S, Parcha V, Limdi NA, Arora P. Arachidonate 5-lipoxygenase is essential for biosynthesis of specialized pro-resolving mediators and cardiac repair in heart failure. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*. 2022[citado 2023 Mayo 11]; 323(4): H721–H737. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36018758/>
22. Bokhtia RM, Panda, SS, Girgis AS, Samir N, Said MF, Abdelnaser A, et al. New NSAID Conjugates as Potent and Selective COX-2 Inhibitors: Synthesis, Molecular Modeling and Biological Investigation. *Molecules*. 2023[citado 2023 Mayo 11]; 28:1945. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36838932/>



23. Barnabei L, Laplantine E, Mbongo W, Rieux-Laucat F, Weil R. NF- κ B: At the Borders of Autoimmunity and Inflammation. *Front Immunol.* 2021; 12:716469.
24. Cordero-Herrera I, Kozyra M, Zhuge Z, McCann Haworth S, Moretti C, Peleli M, et al. Architecture of the NADPH oxidase family of enzymes. *Redox Biology.* 2022[citado 2023 Mayo 11]; 52: 102298. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8381650/>
25. Peng R, Luo M, Tian R, Lu N. Dietary nitrate attenuated endothelial dysfunction and atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice fed a high-fat diet: A critical role for NADPH oxidase. *Archives of biochemistry and biophysics.* 2020[citado 2023 Mayo 11]; 689: 108453. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32524996/>
26. Sui Y, Tian R, Lu N. NADPH oxidase is a primary target for antioxidant effects by inorganic nitrite in lipopolysaccharide-induced oxidative stress in mice and in macrophage cells. *Nitric oxide: biology and chemistry.* 2019[citado 2023 Mayo 11]; 89:46–53. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31063820/>
27. Gadnayak A, Dehury B, Nayak A, Jena S, Sahoo A, Panda PC, et al. Mechanistic insights into 5-lipoxygenase inhibition by active principles derived from essential oils of Curcuma species: Molecular docking, ADMET analysis and molecular dynamic simulation study. *PLoS ONE.* 2022[citado 2023 Mayo 11]; 17(7): e0271956. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35867724/>
28. González Méndez L, Ruíz Moré AA, de la Torre Santos AV, Carvajal Ciomina E, de Armas Fernández I, Águila Águila A. Las enzimas metalo-óxidorreductasas: posibles biomarcadores de tumores ginecológicos. *Rev. Finlay.* 2021 [citado 2023 Mayo 11]; 11(4): 436-443. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342021000400436&lng=es.

Conflicto de interés

Los autores declaran que no presentan conflictos de intereses.

Declaración de autoría

Conceptualización: Leidys Cala Calviño, Humberto Joaquín Morris Quevedo.

Análisis formal: Leidys Cala Calviño, Susana Suñol Santiago.

Investigación: Leidys Cala Calviño, Susana Suñol Santiago, Julio Alberto Rojas-Vargas.

Metodología: Julio Alberto Rojas-Vargas.

Administración del proyecto: Leidys Cala Calviño.

Software: Julio Alberto Rojas-Vargas.

Supervisión: Leidys Cala Calviño.

Visualización: Leidys Cala Calviño, Julio Alberto Rojas-Vargas.

Redacción–borrador original: Leidys Cala Calviño, Humberto Joaquín Morris Quevedo.

Redacción–revisión y edición: Leidys Cala Calviño, Humberto Joaquín Morris Quevedo.

