



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"



EVALUACION DE ORIGINALIDAD

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Tesis** es:

DOCKING MOLECULAR DE FLAVONOIDES Y ÁCIDOS FENÓLICOS DE *Hylocereus megalanthus* (PITAHAYA AMARILLA) CON ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA SOBRE COX-2.

Presentado por:

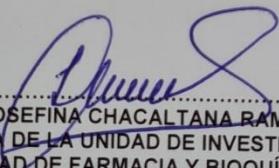
IBANA HUALLA, YESSENIA CINDY

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **13%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad. Observaciones:

Ica, 03 de Enero de 2022


.....
LUZ JOSEFINA CHACALTANA RAMOS
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CHRLJ/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Docking molecular de flavonoides y ácidos fenólicos de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla) con actividad antiinflamatoria sobre cox-2.

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

YESSENIA CINDY IBANA HUALLA

Ica, Perú

2021

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada con mucho amor a Dios por sus bendiciones del día a día, y a todas las personas que han influenciado en mi vida de manera positiva, dándome los mejores consejos, guiándome y haciéndome una persona de bien.

A mis padres Yeardenny y Mario por darme vida, apoyo incondicional y en ella la capacidad de superarme; mi hermano Mario a quien quiero mucho, espero ser tu ejemplo a seguir y que te esfuerces siempre en cada meta que te propongas, todo es posible con mucho esfuerzo y dedicación.

A mis tíos Jorge y Lidia por su apoyo incondicional en cada área de mi vida, mucho de mis logros se los debo a ustedes, por forjar una persona fuerte con muchas ganas de superar cualquier dificultad, por permitirme ser parte de su orgullo, ustedes son muy especiales para mí, ambos son un ejemplo a seguir.

A mis primas Evelyn y Yackelyn por sus consejos y motivación, por ser como unas hermanas para mí han influenciado enormemente en mi vida.

A mi abuelita Julia quien es mi ángel, su bendición a lo largo de mi vida me protege y a toda mi familia en general.

A Daniel por su confianza, constante motivación y cariño mutuo, eres una persona especial en mi vida.

A mis maestros por sus conocimientos aportados, que se verán reflejados en mi vida profesional.

AGRADECIMIENTO

A nuestra querida Alma Mater por acogernos en sus instalaciones durante estos años y a toda la plana docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica por guiarnos y proveernos de conocimientos y actitudes necesarias para aportar a nuestra comunidad.

A mi estimada asesora Dra. QF. Carmen Silvia Klinar Barbuza, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga, quien de forma muy amable me brindó su apoyo y tiempo durante todo el proceso del presente trabajo de investigación.

A mi estimado co asesor MSc. QF. Victor Eduardo Villarreal La Torre, docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, quien me apoyó durante todo el proceso del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	9
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	12
III. RESULTADOS.....	14
IV. DISCUSIÓN	16
V. CONCLUSIONES.....	18
VI. RECOMENDACIONES	19
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
VIII. ANEXOS.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1: Energía de afinidad y número de interacciones de los metabolitos activos de <i>Hylocereus megalanthus</i> sobre la enzima cox-2.....	15
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Búsqueda de información de metabolitos activos con actividad antiinflamatoria reportada en bases de datos	14
FIGURA 2: Valores RMSD de la estructura del receptor COX-2 predicha con el programa Pymol	14
FIGURA 3: Docking molecular del ácido caféico y la COX-2 en formato 2D	25
FIGURA 4: Docking molecular del ácido gálico y la COX-2 en formato 2D	26
FIGURA 5: Docking molecular de la quercetina y COX-2 en formato 2D	27
FIGURA 6: Docking molecular de la miricetina y COX-2 en formato 2D	28
FIGURA 7: Docking molecular del ácido mefenámico y la COX-2 en formato 2D	29

RESUMEN

La finalidad de la presente investigación ha sido identificar entre los metabolitos activos con actividad antiinflamatoria, reportados en la fruta pitahaya amarilla, *Hylocereus megalanthus* (K.Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer, el mejor candidato a fármaco activo sobre ciclooxigenasa-2.

Se inició la investigación con una búsqueda bibliográfica en buscadores como: Google Académico, PubMed y ScienceDirect, usando como palabras clave y conectores booleanos; “*Hylocereus megalanthus*” y “Antiinflamatorio” identificando 5 metabolitos: quercetina, miricetina, rutósido, ácido gálico y ácido caféico.

Con el servidor I-Tasser se realizó la predicción tridimensional de los *targets* seleccionados (COX-2), cuyas secuencias fueron extraídas de la base de datos NCBI, seleccionándose con el mejor C- Score. Toda secuencia óptima fue corroborada con cristales previamente seleccionados de la base de datos Protein Data Bank mediante el uso del programa Pymol 2.4.

Las estructuras de los ligandos fueron preparadas para el Docking Molecular mediante el programa Open Babel. Con la estructura del target y de los ligandos, se usó el programa AutoDock Vina para realizar el Docking molecular.

Los análisis se repitieron 50 veces para obtener los valores más cercanos a la realidad. De este modo se pudo obtener la energía de afinidad (EA) de las 5 moléculas y del ácido mefenámico (EA: -7.6), considerado como molécula control; solo 4 resultaron tener afinidad por dicho receptor: quercetina, miricetina, ácido gálico y ácido cafeico.

El rutósido o rutina tiene energía de afinidad con valores positivos, su probable actividad antiinflamatoria puede no darse por COX-2, siendo necesario otros estudios.

Palabras clave: *Hylocereus megalanthus*, flavonoides, antiinflamatorio, ciclooxigenasa-2, acoplamiento molecular

ABSTRACT

The purpose of the present investigation has been to identify among the active metabolites with anti-inflammatory activity, reported in the yellow pitahaya fruit, *Hylocereus megalanthus* (K.Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer, the best candidate for a drug active on cyclooxygenase-2.

The research began with a bibliographic search in search engines such as Google Scholar, PubMed and ScienceDirect, using keywords and Boolean connectors; "*Hylocereus megalanthus*" and "Anti-inflammatory" identifying 5 metabolites: quercetin, myricetin, rutoside, gallic acid and caffeic acid.

With the I-Tasser server, the three-dimensional prediction of the selected targets (COX-2) was carried out, whose sequences were extracted from the NCBI database, selecting them with the best C-Score. Any optimal sequence was corroborated with crystals previously selected from the Protein Data Bank database using the Pymol 2.4 program.

The structures of the ligands were prepared for Molecular Docking using the Open Babel program. With the structure of the target and the ligands, the AutoDock Vina program was used to perform molecular docking.

The analyzes were repeated 50 times to obtain the values closest to reality. In this way, it was possible to obtain the affinity energy (EA) of the 5 molecules and of mefenamic acid (EA: -7.6), considered as a control molecule; only 4 turned out to have affinity for said receptor: quercetin, myricetin, gallic acid and caffeic acid.

Rutoside or rutin has affinity energy with positive values, its probable anti-inflammatory activity may not be due to COX-2, and other studies are necessary.

Keywords: Hylocereus megalanthus, flavonoids, antiinflammatory, cyclooxygenase- 2, docking molecular.

I. INTRODUCCIÓN

La especie *Hylocereus megalanthus* (K.Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer (pitahaya amarilla), pertenece al género *Hylocereus*, es una cactácea que crece de manera silvestre, es ampliamente cultivada al no requerir condiciones edafo climáticas exigentesa diferencia de otros cultivos; además, puede aprovecharse íntegramente, esto la hace muy valorada para la agricultura (1) (2).

El fruto (exótico) es de bajo costo en mercados nacionales e internacionales, por ello la pitahaya es un cultivo altamente rentable en Perú, especialmente para la región altoandina, donde es cultivada con mayor facilidad(actualmente está siendo adaptada para la Costa), lo que torna de primordial importancia la orientación de las investigaciones a resolver sus problemáticas (2).

Los flavonoides son metabolitos secundarios presentes en las plantas, cuyo elemento estructural común es un esqueleto de difenilpirano (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo (C) de pirano. Sobre este esqueleto pueden darse miles de sustituciones, lo que origina las diferentes clases de flavonoides: flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles (catequinas y proantocianidinas), antocianidinas, chalconas, auronas e isoflavonas (3).

La ciclooxigenasa 2 o COX-2 es una proteína de membrana periférica, ubicada en la membrana de microsomas y retículo endoplasmático. Participa en la síntesis de los prostanoïdes. En los humanos se expresa en un número limitado de tipos celulares y se regula por estímulos específicos. Esta proteína es inducible a determinadas citocinasproinflamatorias (4).

Hay un aumento de enzimas tales como la ciclooxigenasa (COX) y lipoxigenasa (LPO) que se producen durante el estrés oxidativo, estas enzimas están comprometidas en la liberación de factores como interleuquinas y quimosinas; se ha demostrado que los polifenoles y el más importante la quercetina inhiben la COX y LPO, por lo que se le atribuye el efecto antiinflamatorio (5). El rutósido o rutina es un ramglucósido de la quercetina que está presente en el trigo, cítricos, té negro, la piel de manzana, entre otros (6).

La actividad de los frutos de pitahaya puede estar asociada por aspectos particulares como la presencia de flavonoides y ácidos fenólicos.

El *Hylocereus megalanthus* (K.Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer (pitahaya amarilla) posee compuestos que han sido reportados como posibles responsables de su actividad antiinflamatoria, como son los flavonoides miricetina, quercetina y rutósido, además de los ácidos fenólicos: ácido caféico y ácido gálico (7).

Todos ellos, con probable actividad sobre COX-2. Si bien es cierto que existen diversos métodos de realizar investigaciones sobre actividades antiinflamatorias, actualmente las investigaciones

in silico han ganado gran relevancia; el análisis computacional, docking molecular o acoplamiento molecular es una técnica que contribuye como investigación previa, brindando información esencial para el desarrollo de investigaciones *in vivo*, aminorando costos y dirigiendo investigaciones, debido a que el objetivo del acoplamiento ligando-receptor, es predecir los modelos de unión predominantes, diferenciando moléculas de probable mayor actividad. En esta investigación, se busca, a partir del docking molecular y el análisis de datos, conocer cuál de los compuestos activos presentes en *H. megalanthus* (pitahaya amarilla) inhibe con mayor probabilidad la COX-2 humana, es decir la conformación tridimensional de la unión ligando – receptor. El objetivo de esta técnica consiste en encontrar la unión más probable entre el ligando y el receptor; es decir, la que menos energía requiera, (a menor energía, más fuerte la unión), así como el sitio idóneo de unión molecular (8).

Experimentalmente intentamos acercarnos a la situación real. Cada ciencia tiene sus modelos para la investigación; existen diferentes modelos experimentales para poner a prueba nuestras hipótesis: modelos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*.

Los estudios *in vivo* parece ser una manera más exacta para señalar los esquemas terapéuticos, sin embargo, estos modelos suelen ser más costosos y demandan el uso de animales de experimentación, los cuales sufren daños al ser expuestos a patógenos y a sufrimiento.

Según la investigación realizada sobre la bioactividad y citotoxicidad de compuestos de diferentes especies de pitahaya, se describe que la pitahaya amarilla (*H. megalanthus*) tiene compuestos tales como quercetina, miricetina, rutósido, ácido gálico y ácido caféico (7).

Sabemos que la acción antiinflamatoria radica en la inhibición que tiene sobre COX-2. Ahora bien, a partir de la investigación *in silico*, se determina los compuestos presentes de la pitahaya amarilla que inhiban a la enzima COX-2, para confirmar que tiene actividad antiinflamatoria.

Verona Ruiz y col (2020) manifiesta que la pitahaya es rica en compuestos fenólicos, antioxidantes, ácidos grasos insaturados, terpenos, muchos de los oligoelementos y otros (2).

Montadher y col (2018) explicaron la actividad fitoquímica, antioxidante de la pitahaya (Género *Hylocereus*), el estudio de su bioactividad frente a las bacterias patógenas y el estudio del efecto de la toxicidad en ratones. Los resultados mostraron que este fruto es una buena fuente de capacidad antioxidante observada por el método químico DPPH (Determinación cuantitativa del ensayo de actividad de captación de radicales libres). Del mismo modo, el extracto muestra un agente eficaz contra las bacterias gramnegativas y grampositivas. El estudio quirúrgico e histológico muestra que el extracto de esta fruta tiene un efecto tóxico muy pequeño.

El resultado final pareció que el extracto tenía buenos compuestos bioactivos y capacidad

antioxidante, con un papel aceptable en la curación de heridas, que puede aplicarse para muchas aplicaciones antibacterianas, antiinflamatorio y podría ser útil en la preparación de fármacos (9).

Pawel y col (2020) señalan en su investigación la bioactividad y citotoxicidad de los compuestos en diferentes especies de pitahaya, está demostrado que hay compuestos ya determinados en pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*). Se realizó un análisis cualitativo y cuantitativo de los compuestos bioactivos presentes; en el caso de la pitahaya amarilla (*H. megalanthus*) se obtuvo como resultado la presencia de flavonoides tales como **quercetina**, **rutósido** (aunque en menor cantidad) y **miricetina**, asimismo presenta ácidos fenólicos tales como **ácido gálico** y **ácido caféico**. Estos resultados sugirieron que, además de los **flavonoides**, **ácido fenólico** y las betalaínas, todavía hay algunos compuestos desconocidos que pueden aumentar la actividad de los extractos acuoso y metanólico de las frutas de pitahaya. Si bien esta investigación permitió ampliar nuestras ideas, se ha llegado a estimar que la pitaya amarilla, muy subestimada, también puede volverse importante y popular debido a sus propiedades citotóxicas. La determinación definitiva del grupo de fitoquímicos activos responsables de las propiedades antioxidantes y citotóxicas de los frutos de pitaya necesita más estudios (7).

Kiraly y col (2016) señalan que existen ácidos fenólicos y flavonoides que han reportado actividad sobre COX-2 tales como apigenina que es una clase de flavona (10).

Cabe mencionar que hasta la fecha no existe antecedentes de haberse realizado docking molecular de los compuestos fenólicos de *H. megalanthus* (pitahaya amarilla).

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

2.1. Material de estudio:

- Servidores: I-Tasser
- Programas: Pymol 2.4, Open Babel, AutoDock Vina, Discovery Studio.

2.2. Método:

➤ **Búsqueda de Información:**

Se realizó una búsqueda de información de metabolitos activos con actividad antiinflamatoria reportada en bases de datos:

-Google Académico, PubMed y ScienceDirect

Se utilizó como palabras claves y conectores booleanos: “*Hylocereus megalanthus*”AND “Antiinflammatory” (32).

➤ **Análisis de Docking Molecular:**

El servidor I-Tasser fue utilizado para la predicción tridimensional de los targets seleccionados, cuyas secuencias fueron extraídas de la base de datos NCBI, se seleccionó la predicción tridimensional con el mejor C-Score. Toda secuencia óptima fue corroborada con cristales (cristales de COX-2 de mayor resolución) previamente seleccionados de la base de datos Protein Data Bank mediante el uso del programa Pymol 2.4.

Las estructuras de los ligandos fueron preparadas para el Docking Molecular mediante el uso del programa Open Babel (33) (34) (35). Teniendo la estructura del target y de los ligandos, se usó el programa AutoDock Vina para realizar el Docking molecular. Los análisis se repitieron 50 veces para obtener los valores más cercanos a la realidad.

➤ **Análisis de Data:**

A. Análisis Farmacodinámico:

Energía libre de Gibbs (ΔG°): Sirve para determinar si una reacción se puede dar de forma espontánea, sin necesitar de energía adicional. Un valor negativo indicaría que la reacción es espontánea. Se obtuvo mediante VINA (36).

Constante de inhibición (Ki): concentración necesaria del metabolito en el sitio activo para poder ejercer la inhibición del receptor (37).

$$\Delta G^\circ = 2.303RT \log (K_i).$$

Energía de enlace (LE): es la energía necesaria para romper un mol de enlaces de una sustancia (38).

$$LE = \Delta G/n$$

donde “n” son los átomos no hidrógeno.

Número de interacciones: son todas las fuerzas atractivas o repulsivas entre moléculas y entre átomos no enlazados.

2.3. Diseño de investigación:

El diseño es de tipo experimental, haciendo uso de simulaciones químicas para buscar información desconocida y encontrar la dependencia de las variables independientes en función al resultado de la variable dependiente.

2.4. Técnica de procesamiento y análisis de datos:

Se realizó el procesamiento de docking hasta la obtención de 50 datos por molécula, cada uno de ellos fue analizado y se reporta el valor promedio de ΔG (energía libre), así como el valor mínimo obtenido. Además de ello, cada data fue analizada para la determinación el acoplamiento más estable por la mayor cantidad de puentes de hidrógeno presentes y ΔG más baja.

III. RESULTADOS

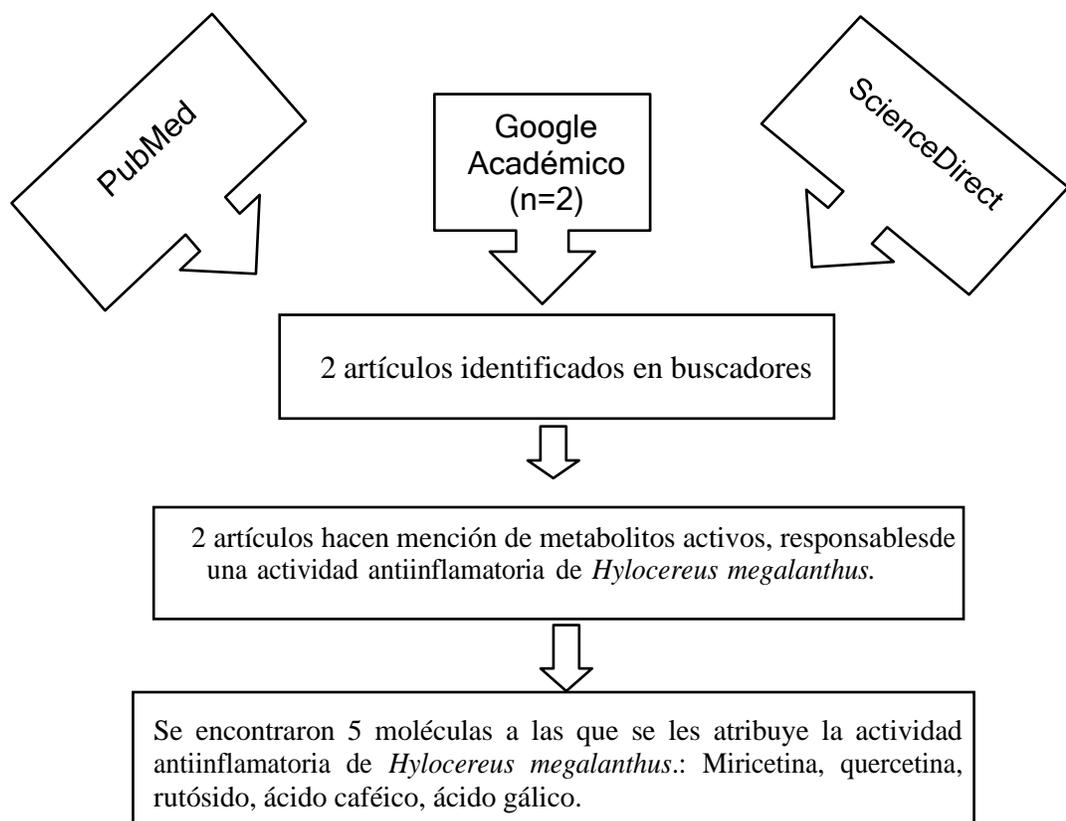


FIGURA 1: Búsqueda de información de metabolitos activos con actividad antiinflamatoria reportada en bases de datos

Executive RMSD: 261 atoms rejected during cycle 1 (RMSD=1.48).
Executive RMSD: 318 atoms rejected during cycle 2 (RMSD=1.03).
Executive RMSD: 231 atoms rejected during cycle 3 (RMSD=0.81).
Executive RMSD: 153 atoms rejected during cycle 4 (RMSD=0.71).
Executive RMSD: 81 atoms rejected during cycle 5 (RMSD=0.65).
Executive: RMSD = 0.628 (3656 to 3656 atoms)

FIGURA 2: Valores RMSD de la estructura del receptor COX-2 predicha con el programa Pymol

TABLA N°1: Energía de afinidad y número de interacciones de los metabolitos activos de *Hylocereus megalanthus*. sobre la enzima ciclooxygenasa 2 (COX-2). Datos obtenidos mediante el servidor Pubchem y el programa Discovery studio

Molécula	Fórmula	ΔG (kcal/ mo)	Ki (M)	LE kcal/mol/átomos (no hidrógeno)	Número de puentes de hidrógeno	Aminoácidos enlazantes con Puentes de hidrógeno	Total de interacciones
Ácido cafeico	C ₉ H ₈ O ₄	-6.5	1.71x10 ⁻⁵	-0.50	2	SER339, SER516	6
Ácido gálico	C ₇ H ₆ O ₅	-6.4	2.02x10 ⁻⁵	-0.53	4	SER516(2), LEU338, MET506	7
Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	-6.4	2.02x10 ⁻⁵	-0.29	3	SER339(2), MET508	12
Miricetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	-6.3	2.39x10 ⁻⁵	-0.27	3	MET508, SER339, LEU338	14
Rutina o rutósido	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	4.9	-	-	-	-	-
Ácido mefenámico	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	-7.6	2.66x10 ⁻⁶	-0.42	1	SER516	NO APLICA POR SER MOLÉCULA CONTROL

Donde:

Ki = Constante de inhibición

ΔG° = Energía libre de Gibbs

LE = Eficiencia del enlace

- = Dato no calculado por energía de afinidad positiva

IV. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se buscó reconocer entre los metabolitos activos con actividad antiinflamatoria reportada, presentes en la fruta *Hylocereus megalanthus*, el mejor candidato a fármaco activo sobre COX-2 mediante un análisis computacional. Para ello se inició la investigación con una revisión de información en buscadores como: Pubmed, Google Académico y ScienceDirect; tal como se muestra en la **Figura 1** donde se obtuvieron 2 artículos en total, de los cuales se seleccionó 1 artículo que fue revisado en su totalidad, identificando 5 moléculas a las que se les atribuiría la actividad antiinflamatoria de *Hylocereus megalanthus*; siendo estas: miricetina, quercetina, rutósido, además de los ácidosfenólicos: ácido caféico y ácido gálico (7).

Posteriormente se procedió a realizar la predicción tridimensional del *target* seleccionado (COX-2), usando el servidor I-Tasser y el programa Pymol, tal como se muestra en la Figura 2 donde podemos observar un valor RMSD=0.628 obtenido al corroborar la estructura del receptor Ciclooxygenasa-2 (COX-2) en el programa pymol. El valor RMSD (desviación de la media cuadrática) es la medida de la distancia promedio entre los átomos de las moléculas superpuestas. Se espera que, al superponer estructuras de proteínas móviles, tengan mayores diferencias en su RMSD ya que los distintos conformeros, depositados en el PDB (Protein DataBank) dan muestras de mayores diferencias entre ellas, tal como se observa en la **Figura 2** donde el valor obtenido fue superior a 0.5 concluyéndose así que la estructura del receptor estuvo bien predicha y lista para realizar el docking molecular.

Cabe mencionar que la energía de afinidad (EA) está expresada en energía libre de Gibbs. En cuanto a los ligandos, usando el programa AutoDock Vina, se realizó el docking estructural para conocer la energía de afinidad (EA) de los 5 metabolitos encontrados en *Hylocereus megalanthus*. Esta energía de afinidad se refiere a que la interacción entre ambas moléculas (ligando y receptor COX-2) generaría que los átomos estructurales aceptaran electrones y se transformaran en iones negativos o aniones, con el consiguiente intercambio de energía. Por ello se podría establecer la regla; a menor energía de afinidad, mayor interacción entre los átomos de las moléculas. Además, se determinó la energía de afinidad del ácido mefenámico, la cual se consideró como molécula control; y se usó este resultado como base, tal y como se reporta en la **Tabla N°1**.

De acuerdo con ello se encontró que la molécula; rutósido o rutina tenía una energía de afinidad más positiva, lo cual nos demuestra la no afinidad por el receptor COX-2. Más aun, tomando en consideración la EA= -7.6 de nuestra molécula control, el ácido mefenámico. Al no presentar afinidad al receptor COX- 2, esta molécula probablemente tenga afinidad con otro tipo de receptor y su actividad antiinflamatoria se deba a mecanismos totalmente distintos.

Asimismo, con respecto a los compuestos, el ácido gálico presenta un total de 7 interacciones, EA -6.4, la LE es de -0.53 y la constante de inhibición (Ki) de esta estructura es de 2.02×10^{-5} M, lo cual es bastante alta, por otro lado la quercetina presenta 12 interacciones, EA -6.4 , la LE es de -0.29 y la constante de inhibición (Ki) de esta estructura es de 2.02×10^{-5} M; y la miricetina presenta un total de 14 interacciones, EA -6.3, la LE es de -0.27 y la constante de inhibición (Ki) de esta estructura es de 2.39×10^5 M, tal como se muestra en la **Tabla N°1**.

Por otro lado, se determinó que el ácido caféico tiene una EA cercana a la del ácido mefenámico; siendo la energía de afinidad del ácido caféico la más baja entre ellas(-6.5), encontrando que la constante de inhibición (Ki) de esta estructura es de 1.71×10^{-5} M, tal como se muestra en la **Tabla N°1**, lo cual es bastante bajo considerando que es la concentración necesaria de esta molécula en el sitio activo para poder ejercer la inhibición del receptor ciclooxigenasa 2.

La estructura del ácido caféico no tiene tantas interacciones, solo 6, tiene un puente de hidrógeno con la SER339 y SER516 como se observa en la **Figura 3** del Anexo 2.

La interacción con la SER516 es muy importante porque la interacción con este aminoácido es fundamental para la inhibición de todo el receptor COX-2 ya que los AINEs como el ácido acetilsalicílico, acetila el residuo 516 constituido por una serina; esta isoforma acetilada pasa a sintetizar 15(R)-HETE (15(R) hidroxieicosatetranoico), el cual, a su vez, forma un potente agente antiinflamatorio derivado de la 5-LOX, la 15 epilipoxina A4 (7).

V. CONCLUSIONES

1. Los metabolitos con actividad antiinflamatoria reportada, presentes en la fruta de *Hylocereus megalanthus* (K.Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer son: miricetina, quercetina, rutina, ácido gálico y ácido caféico.
2. Se determinó la unión al receptor COX-2 de la miricetina, quercetina, ácido gálico y ácido cafeico usando el programa AutoDock Vina, siendo el ácido cafeico el que tiene una menor energía de afinidad (EA: -6.5), cercano a la molécula control ácido mefenámico (EA: -7.6). La miricetina tuvo una EA de -6.3, la quercetina EA -6.4, ácido gálico -6.4. La rutina no se unió al receptor, debido a la EA positiva (4.9).
3. El ácido cafeico es el mejor candidato a fármaco antiinflamatorio.

VI. RECOMENDACIONES

1. Realizar ensayos *in vitro* e *in vivo* para corroboración de los datos obtenidos en este estudio computacional.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agraria-INIA INdI. Guía Técnica del cultivo de pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) en la región Amazonas. [Online].; 2020 [cited 2021. Available from: <https://repositorio.inia.gob.pe/handle/20.500.12955/1052>.
2. Verona Ruiz A, Urcia Cernía J, Paucar Menacho LM. Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. Scielo Perú - Scientia Agropecuaria. 2020 Julio- Septiembre; 11(3).
3. Duarte F, Perez Viscaíno F. Cardiovascular protection by flavonoids. Pharmacokinetic mystery. *Ars Pharmaceutica*. 2015 Octubre.
4. Beltran Delgado Y, Rojas Vargas JA, Morales Gonzales I, Morris Quevedo HJ. Acoplamiento molecular de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* con proteínas del balance redox. *Revista Cubana Química*. 2019; 31(3).
5. Quiñones M, M M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables. Scielo. 2011-2012;; p. 14.
6. Lopez Luengo M. Tránsito. Flavonoides. *ELSEVIER*. 2002 Abril; 21(4).
7. Pasko P, Galanty A, Zagrodzki P, Gyu Ku Y, Luksirikul P, Weisz M, et al. Bioactivity and cytotoxicity of different species of pitaya fruits – A comparative study with advanced chemometric analysis. *ELSEVIER*. 2020 Mayo; 40.
8. Scior T, Martinez E, Salinas E. Los modelos *in silico*, una herramienta para el conocimiento farmacológico. [Online]. [cited 2021 julio 18. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/294/29406806.pdf>.
9. Montadher Ali Mahdi. PHYTOCHEMICAL CONTENT AND ANTI-OXIDANT ACTIVITY OF TOXICITY AND THE ABILITY. *Plant Archives*. 2018; 18(2).
10. Kiraly J. A, Soliman E, Jenkins A, Van Dross T. R. Apigenin inhibits COX-2, PGE2, and EP1 and also initiates terminal differentiation in the epidermis of tumor bearing mice. *Elsevier*. 2016; 104: p. 44-53.
11. Canaqué Rodríguez I. I., Ramírez Aley G.M. Efecto del extracto etanólico del fruto de *Hylocereus*.

12. TROPICOS connecting the world to botanical data since 1982. [Online]. [cited 2021. Available from: <https://www.tropicos.org/name/50251405>.
13. Martínez RC. Aprovechamiento de la pitahaya: bondades y problemática. *Caos Conciencia*. 2006;: p. 13-18.
14. EcuRed. Pymol. [Online]. [cited 2021. Available from: <http://ecuadmin.ecured.cu/PyMOL>.
15. OPEN BABEL. [Online]. Available from: <https://www.nsc.liu.se/software/installed/tetralith/openbabel/>.
16. Oleg T, J.Olson A. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. [Online].;2010. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3041641/>.
17. BIOVIA Discovery studio. [Online]. [cited 2021. Available from: <https://www.addlink.es/productos/discovery-studio>.
18. I-TASSER Protein structure and funtion predictions. [Online]. [cited 2021. Available from: <https://zhanggroup.org/I-TASSER/>.
19. Divins JM. ANTIINFLAMATORIOS- Elsevier. [Online]. [cited 2021 agosto 22. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-X0213932414516582>
20. Gómez H. Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. 2011 Mayo; 10(3).
21. Righorn , Ringbom T, Huss U, Stenholm A, Flock S, Skattebøl. COX-2 Inhibitory Effects of Naturally Occurring and Modified Fatty Acids. 2001 Junio.
22. DBpedia LatAm. [Online]. [cited 2021. Available from: [http://es-la.dbpedia.org/page/resource/Ligando_\(bioqu%C3%ADmica\)](http://es-la.dbpedia.org/page/resource/Ligando_(bioqu%C3%ADmica)).
23. National Human Genome Research Institute. [Online]. [cited 2021. Available from: <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Proteina>.
24. Velasquez M, Drosos J, Gueto C, Marquez J, Vivas Reyes R. Método acopladoAutodock–PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Revista Colombiana de Química*. 2013 Abril; 42(1).
25. Cartaya O., Reynaldo I. FLAVONOIDES: CARACTERISTICAS QUÍMICAS Y

- APLICACIONES. Cultivos tropicales-Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. 2001; 22(2): p. 5-14.
26. Peñarrieta JM, Tejeda L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. Revista Boliviana de Química. 2014 Julio- Diciembre;31(2): p. 68-81.
 27. UE CCR didl. Comisión Europea- La medicina *in silico*. [Online]. [cited 2021. Available from: <https://cordis.europa.eu/article/id/86061-project-success-stories-in-silico-medicine-reaches-the-clinic/es>.
 28. Carugo O. Journal of Applied Crystallography. [Online].; 2003 [cited 2021. Available from: <https://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?he0302>.
 29. T M P, S B. X-Ray Crystallography. .
 30. H.M B, K. H, H. N. Announcing the worldwide Protein Data Bank. Nat Struct Biol. 2003.
 31. QUIMICA.ES. [Online]. [cited 2021. Available from: https://www.quimica.es/enciclopedia/Centro_Nacional_para_la_Informaci%C3%B3n_Biotecnol%C3%B3gica.html.
 32. Antoine D, Olivier M, Vicent Z. SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules, Nucl. AcidsRes. 2019 mayo 20; 47.
 33. MF S. Python: a programming language for software integration and development. 1999 Febrero.
 34. Harris R OAGD. Automated prediction of ligand-binding sites in proteins. Proteins. 2008. 2008 marzo;(70(4):1506-17).
 35. BIOVIA. Dassault Systemes BIOVIA Discovery Studio. 2020; 21.
 36. Academy K. Energía libre. [Online]. [cited 2021 agosto 15. Available from: <https://es.khanacademy.org/science/biology/energy-and-enzymes/free-energy-tutorial/a/gibbs-free-energy>.
 37. Moreno-Brea MR. Tolerabilidad de Aspirina. Revista de la Sociedad Española del Dolor- SCIELO. 2005 agosto-septiembre; 12(6).

38. Mora JG. Parámetros de enlace. [Online]. [cited 2021 agosto 22. Available from:
<http://depa.fquim.unam.mx/QI/didactica/parametros%20de%20enlace.pdf>.
39. Ortiz Hernandez Y, Carrillo Salazar J. Pitahaya (*Hylocereus* spp). Scielo-
Comunicata Scientiae. 2012.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problema.	Hipótesis.	Variables.	Objetivos.	Metodología.
<p>¿Cuál de los flavonoides o ácidos fenólicos de <i>H. megalanthus</i> (pitahaya amarilla) es el mejor candidato <i>in silico</i> a antiinflamatorio con acción sobre COX-2?</p>	<p>El <i>H. megalanthus</i> (pitahaya amarilla) presenta un ácido fenólico que es el mejor candidato <i>in silico</i> a antiinflamatorio con acción sobre COX-2.</p>	<p><u>Independiente:</u></p> <p>La acción de los compuestos flavonoides y ácidos fenólicos de <i>Hylocereus megalanthus</i> (pitahaya amarilla) sobre COX-2</p> <p><u>Dependientes:</u></p> <p>Actividad antiinflamatoria por inhibición a COX-2</p>	<p><u>General.</u></p> <p>-Determinar cuál de los compuestos presentes en la pitahaya amarilla (miricetina, quercetina, rutósido, ácido caféico, ácido gálico) tiene mayor actividad antiinflamatoria según su unión a la enzima COX-2.</p> <p><u>Específicos.</u></p> <p>-Determinar el número de interacciones que se forma entre los compuestos flavonoides y ácidos fenólicos de pitahaya amarilla con el receptor COX-2.</p>	<p>-Análisis de docking molecular.</p> <p>-Análisis de data.</p>

ANEXO 2: DOCKING MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS DE LAPITAHAYA AMARILLA

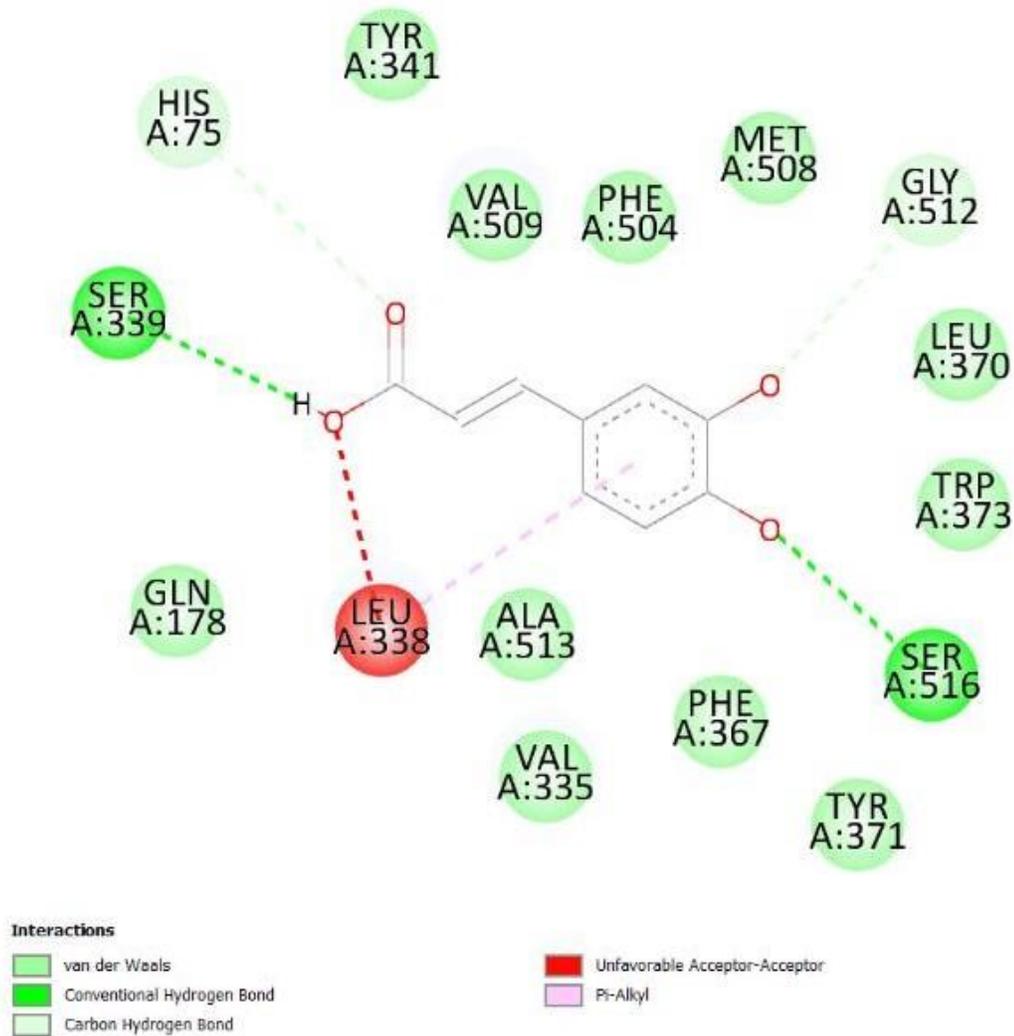
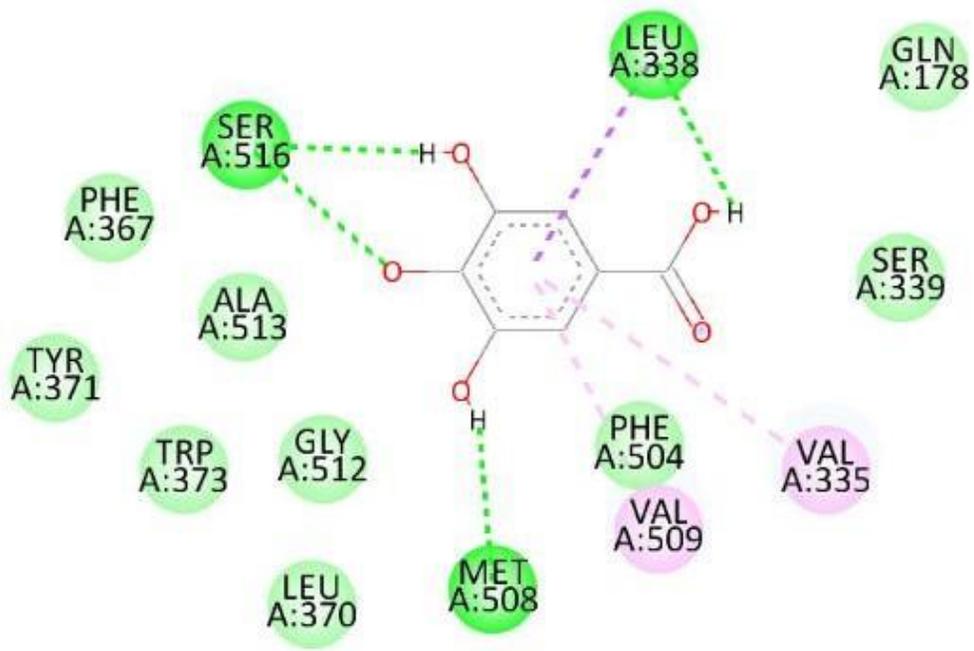


FIGURA 3: Docking molecular del ácido caféico y la COX-2 en formato 2D Fuente: programa Discovery studio



Interactions

 van der Waals	 Conventional Hydrogen Bond	 Pi-Sigma	 Pi-Alkyl
---	--	--	--

FIGURA 4: Docking molecular del ácido gálico y la COX-2 en formato 2D
Fuente: programa Discovery studio

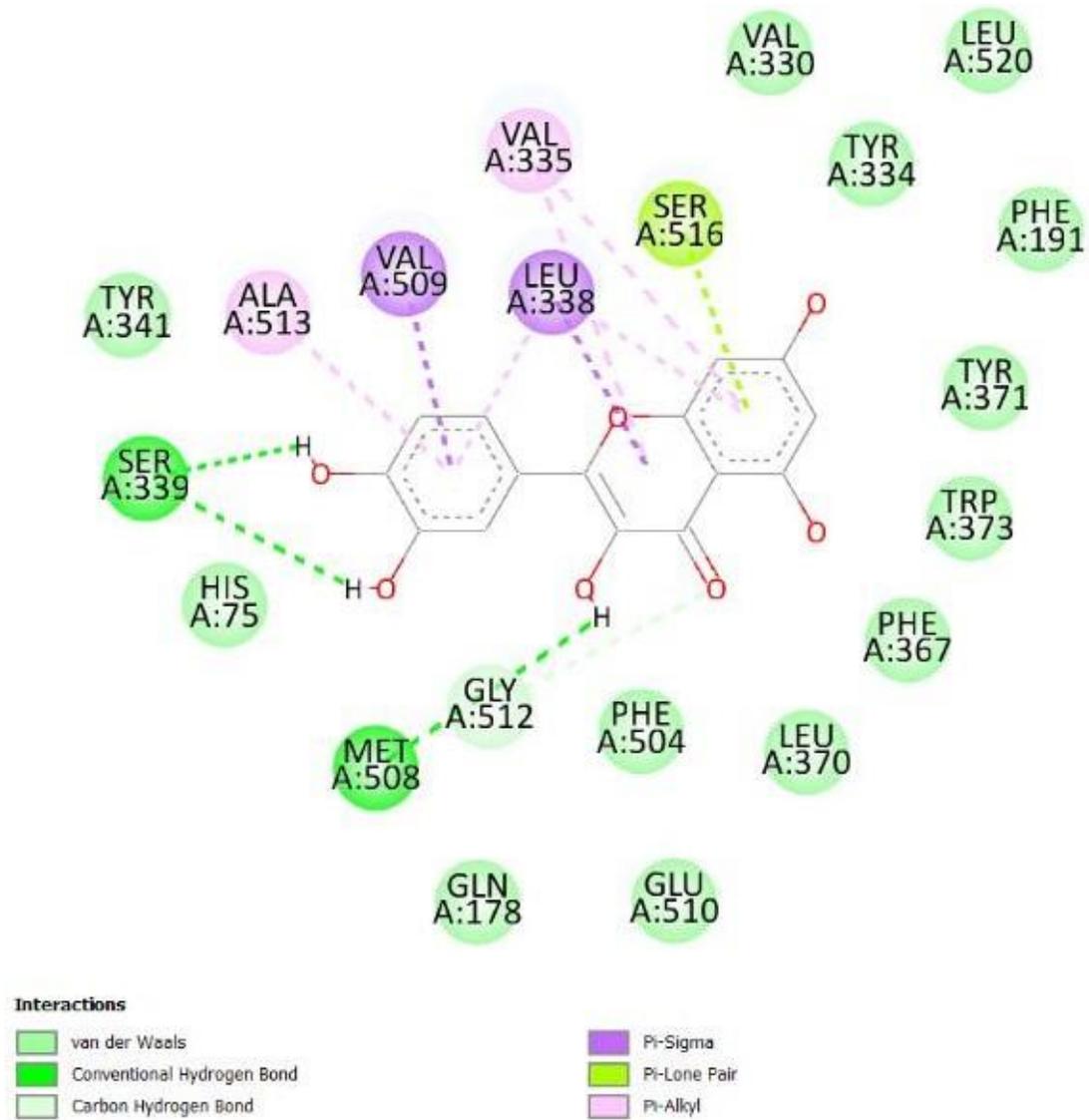


FIGURA 5: Docking molecular de la quercetina y COX-2 en formato 2D.Fuente: Programa Discovery studio

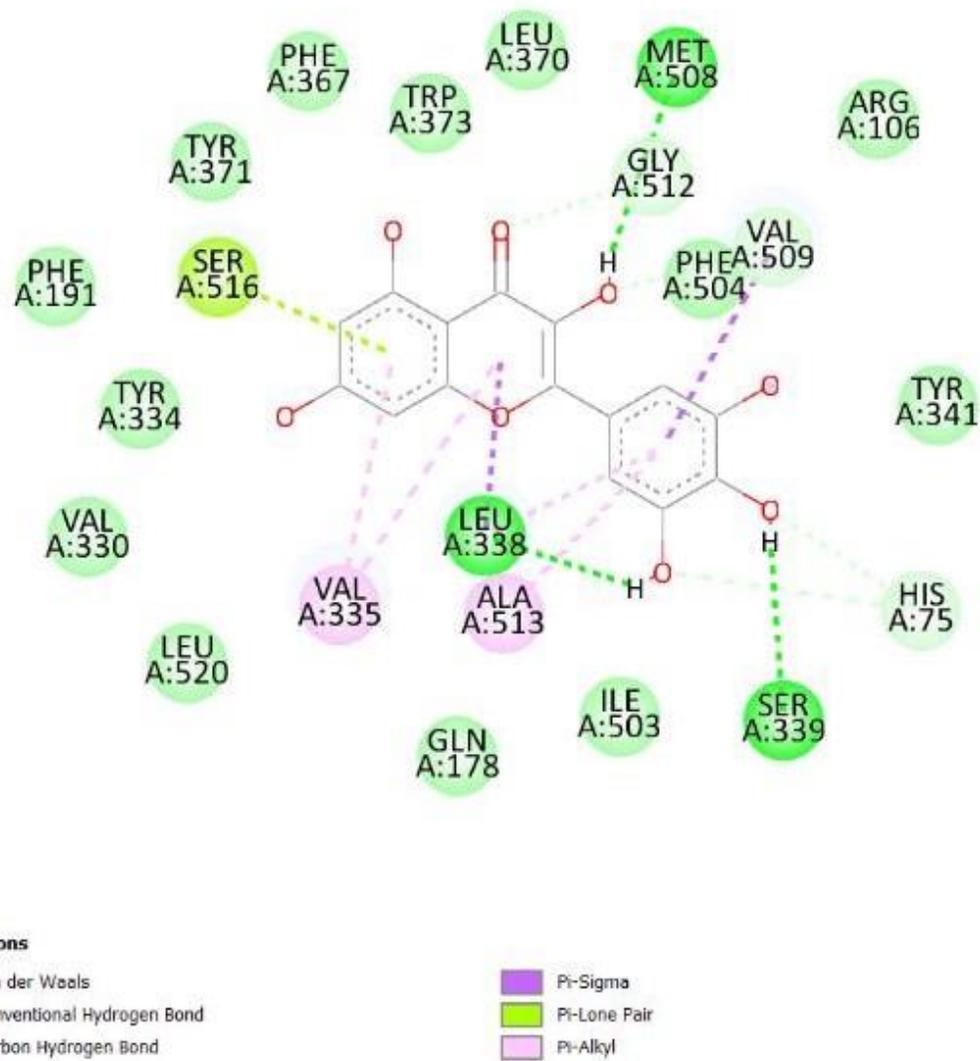


FIGURA 6: Docking molecular de la miricetina y COX-2 en formato 2D. Fuente: Programa Discovery studio

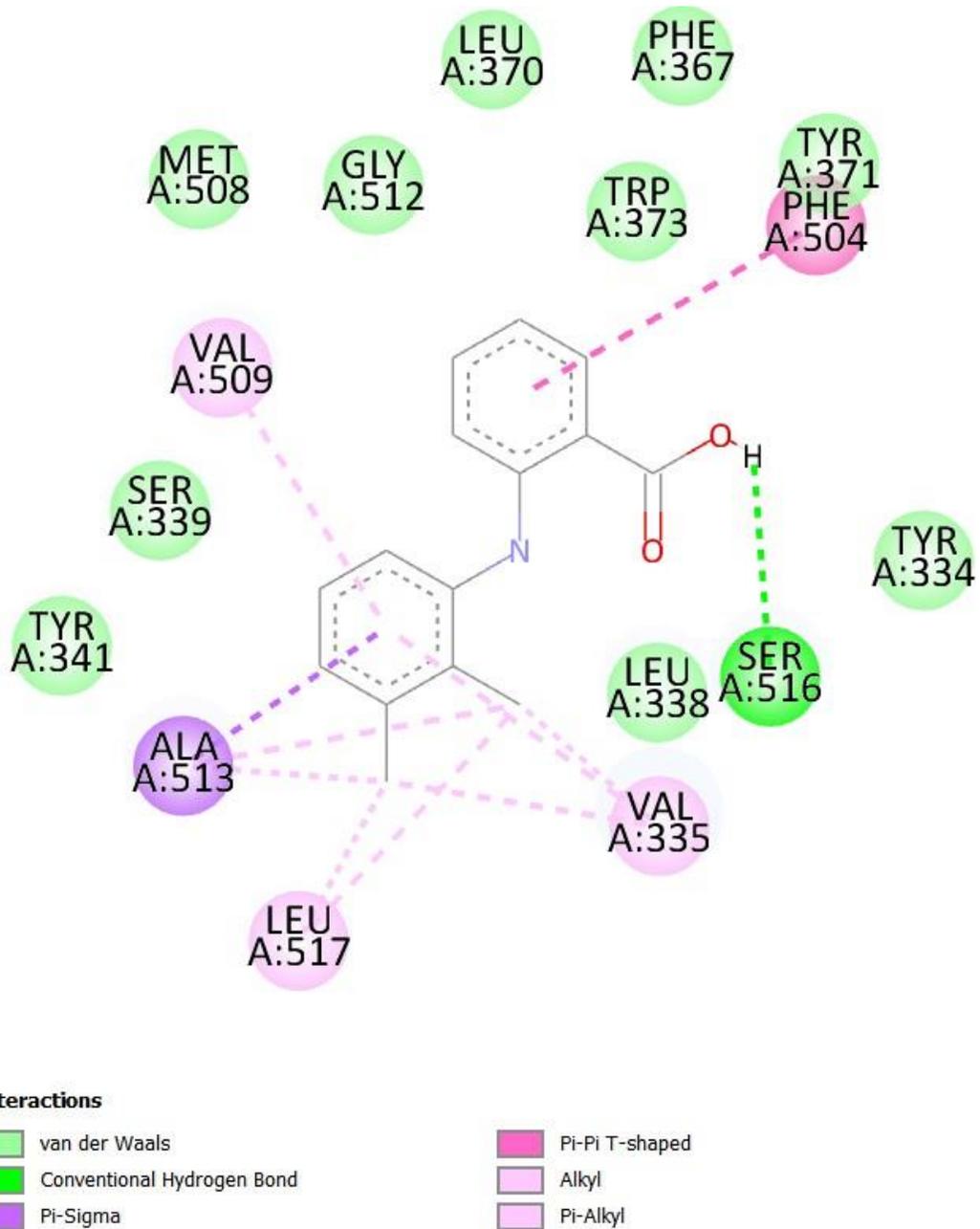


FIGURA 7: Docking molecular del ácido mefenámico y la COX-2 en formato 2D Fuente: programa Discovery studio

ANEXO 3: Cálculos para completar la tabla N°11.

-Energía de enlace (LE)

$$LE = \boxed{\Delta G/n}$$

Donde “n” son todos los átomos presentes en la molécula diferentes del hidrógeno.

- Constante de Inhibición (Ki)

$$\Delta G^\circ = \boxed{2.303RT \log (Ki)}$$

Donde “R” es la constante de los gases expresada en términos de energía (1.9853832 cal/K.mol) y “T” es la temperatura en Kelvin (25 °C = 298.15 K)

Por lo tanto:

$$2.303RT = 1363.24242849 \text{ cal/mol}$$

Entonces:

$$\Delta G^\circ = 1363.24242849 \frac{\text{cal}}{\text{mol}} \log Ki$$

$$\frac{\Delta G^\circ \times 1000}{1363.2}$$

$$\frac{\Delta G^\circ \times 1000}{101363.24242849 \text{ cal/mol}} = Ki$$

$$\# \text{ de Moles} = Ki$$

ANEXO 4: RESULTADOS DE ENERGIA DE AFINIDAD DEL DOCKING DERUTINA O RUTÓSIDO

Rutin

June 22, 2021

```
[8]: %%bash
#Cambiar ligando de 2D a 3D
obabel rutin.sdf -O rutin.sdf --gen3D
```

1 molecule converted

```
[9]: %%bash
#agregar hidrógenos y pH 7.4
obabel rutin.sdf -O rutin.sdf -h -p 7.4
```

=====

*** Open Babel Warning in DoTransformations

Both -p and -h options are set. All implicit hydrogens (-h) will be added without considering pH.

1 molecule converted

```
[13]: %%bash
#Minimización energética de ligando
obminimize -o sdf -ff MMFF94 -n 25000 -sd -c 1e-7 rutin.sdf > Molecule.sdf
```

```
[23]: % bash
#Docking 2
vina --config config.txt
```

```
#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:      #
#                                                           #
# G. Trott, A. J. Olson,                                     #
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking #
# with a new scoring function, efficient optimization and   #
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010) #
# 455-461                                                    #
#                                                           #
# DOI 10.1002/jcc.21334                                     #
#                                                           #
# Please see http://vina.scripps.edu for more information. #
#####
```

```
Detected 4 CPUs
Reading input - done.
Setting up the scoring function - done.
Analyzing the binding site - done.
Using random seed: 344140020
Performing search -
0% 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100%
|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
.....
done.
Refining results - done.
```

mode	affinity (kcal/mol)	dist from best mode rmsd l.b. rmsd u.b.
1	2.1	0.000 0.000
2	3.2	1.492 5.240
3	3.3	1.454 5.219
4	4.8	2.072 4.552
5	4.9	1.812 8.207

Writing output - done.

Fuente: Programas Open Babel, AutoDock Vina

ANEXO 5: FRUTA DE PITAHAYA AMARILLA (*Hylocereus megalanthus*)



ANEXO 6: EVIDENCIA DEL DESARROLLO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

