

## Estudio computacional de la capacidad antioxidante de tuna (*Opuntia Streptacantha*)

Diana Hernández-Méndez<sup>1</sup>, Lucero Fuentes-Ocampo<sup>2</sup>, Erik Diaz-Cervantes<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de alimentos, Centro interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, 37975 Tierra Blanca, Guanajuato.

<sup>2</sup>Departamento de enfermería y Obstetricia, Centro interdisciplinario del Noreste, Universidad de Guanajuato, 37975 Tierra Blanca, Guanajuato.

### RESUMEN

El presente proyecto está enfocado en evaluar de manera indirecta (empleando una peroxidasa) la capacidad antioxidante que existe en *Opuntia Streptacantha* mediante estudios *in silico*. Dicha especie posee compuestos fenólicos, de los cuales se evaluó su interacción con la proteína glutathione peroxidase, la cual está involucrada en los procesos de oxidación, para observar el acoplamiento de los fitoquímicos y conocer su posible efectividad para retrasar los procesos de oxidación.

**Palabras clave:** *Opuntia Streptacantha*, antioxidantes, *in silico*.

### ABSTRACT

This project is focused on evaluate the antioxidant capacity of *Opuntia Streptacantha* through *in silico* assays. This species has phenolic compounds which were coupled to glutathione peroxidase, which is involved in oxidation processes, to observe the coupling of phytochemicals and know their possible effectivity against the oxidation processes.

### INTRODUCCIÓN

En la actualidad el envejecimiento entre la población mundial es creciente, de manera que se lleva a cabo una vida diferente a la de nuestros ancestros, ya sea en alimentación, estilo de vida, entre otros; para las instituciones e investigadores es un reto buscar formas de retrasar el envejecimiento, el cual es un proceso comienza en el mismo momento en que nacemos y se desarrolla a lo largo de la vida. Este proceso dinámico no ocurre de manera similar en todas las personas, así como tampoco envejecen de igual manera todos los componentes del organismo de un individuo, lo cual infiere que existe una serie de factores que “modulan” este proceso.<sup>1</sup> Los procesos que condicionan el envejecimiento están mayormente relacionados con la influencia ejercida por el medio y su respuesta de adaptación por parte del organismo en cuestión. Un ejemplo muy demostrativo es el que ofrece la regresión de estructuras, celulares y extracelulares, por reacciones de radicales libres. El consumo de oxígeno, del que depende la vida del organismo, condiciona fenómenos de oxidación, cuya magnitud regula el sistema enzimático antioxidante.<sup>2</sup> La inadecuada producción de estas enzimas abre las puertas al daño oxidativo que establece un círculo vicioso de regresión progresiva. Por el contrario, este proceso no avanza si el sistema antioxidante permanece igualmente eficaz durante la vida del adulto.<sup>2</sup> Existen diferentes teorías sobre el envejecimiento pero haciendo énfasis en la teoría de los radicales libres, a la que actualmente se presenta mayor atención, esta explica un proceso progresivo de oxidación y peroxidación que paulatinamente afecta a estructuras celulares y extracelulares, conduciendo a una correspondiente disminución de capacidades funcionales.<sup>2</sup>

Por otra parte, se consideran radicales libres a aquellas moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en su orbital externo, dándole una configuración espacial

que genera una alta inestabilidad (o reactividad). Esto lo hace muy estable, extraordinariamente reactivo y de vida efímera.<sup>3</sup> Por lo anterior se origina el estrés oxidativo, el cual es un desequilibrio entre la producción de ERO Y ERN (especies reactivas de Oxígeno y Nitrógeno) y la capacidad antioxidante de la célula. Los ERO incluyen, entre otras, el anión superóxido, los radicales hidroxilos y el peróxido de hidrogeno; y las ERN incluyen el óxido nítrico, dióxido de nitrógeno y el peroxinitrito, entre otras moléculas. El daño a los tejidos causado por estrés oxidativo se relaciona con diversos fenómenos biológicos, incluyendo el envejecimiento.<sup>4</sup>

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través los cuales la célula anula la reactividad e inhibe la generación de radicales libres. Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluye la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. Recientemente se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, los compuestos fenólicos, la forma de suplir los antioxidantes para proteger el organismo del efecto oxidativo producido por los radicales libres es el consumo de alimentos ricos en vitamina E, vitamina C, carotenoides y otras sustancias que tiene función antioxidante, tales como compuestos fenólicos.<sup>5</sup> En la presente investigación se estará estudiando el destilado extraído de tuna (*Opuntia Streptacantha*). *Opuntia Streptacantha* también llamado nopal cardón, es una especie de planta de la familia de las cactáceas, Crecen en forma de arbusto, pero llega a alcanzar gran altitud formando bosques cerrados en varios lugares, regularmente habita en los climas templados y secos del centro de México y es uno de los nopales productores de tunas.<sup>6</sup> Se han llevado a cabo estudios en los cuales se reporta una actividad antioxidante asociada a su alto contenido de Ácidos fenólicos (3,4-di-O-cafeoylquinic acid, Acido Cafeico, Acido p-cumarico, Ácido protocatecuático, Acido quinico, Acido sirinico) y Flavonoides (Acacetina, Acido cinámico, Apigenina, Cirsilineol, Luteolina, Quercetina),<sup>6</sup> además de tradicionalmente ser utilizado para tratar la gastritis, cólico intestinal y úlceras, el cual podría considerarse como productos con calidad nutraceutica, por su valor nutricional y compuestos antioxidantes.<sup>7</sup>

### **Sistema de defensa antioxidante**

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presentes en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentren en las células vivas, como proteínas lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente- membrana plástica, citosol, núcleo o liquido extracelular. Algunas proteínas que co-adyuvan a controlar la oxidación son: superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa<sup>8</sup>

### **Características de la enzima antioxidante**

En este trabajo utilizamos como blanco la glutatión peroxidasa (GPx), la cual es una de las enzimas que participan en las transformaciones de especies reactivas del oxígeno, catalizando la reducción del peróxido o lipoperóxido, para lo cual utiliza como agente reductor al glutatión reducido; dicha enzima desempeña un importante papel en la defensa antioxidante, por su localización en todos los órganos y tejidos, como parte del sistema antioxidante del glutatión, por lo que está involucrada en la fisiopatología de varias enfermedades.<sup>9</sup> Dicha enzima, selenio-dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrogeno (L-OOH), usa como agente reductor el glutatión reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas (neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune)

Existen 3 formas de GPx: GPx-p o forma celular, tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrogeno que por el lipoperoxido; GPx-p o forma extracelular, presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tiene afinidad específica para los lipoperoxidos. <sup>8</sup>

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Estudio *in silico*

Los ligandos se modelaron y optimizaron con el paquete computacional Avogadro y Gaussian 09<sup>10</sup>, utilizando el campo de fuerza universal (UFF)<sup>11</sup>. Además, la diana biológica seleccionada de descargó del Protein Data Bank (PDB), con el código 2I3Y (Crystal structure of human glutathione peroxidase 5). Se realizó el acoplamiento molecular a través de la función de scoring MolDock con el software Molegror Virtual Docker (MVD)<sup>1213</sup>

#### Calibración de proteína

Se llevo a cabo la calibración del blanco en el MVD<sup>12</sup>, preparando el blanco con la detección de cavidades, seleccionando 5 cavidades, posterior a esto se realizó el *Docking* ciego, el cuál fue en toda la proteína, obteniendo un RMSD del ligando co-cristalizado de 1.218Å, lo cuál indica que nuestro método reproduce datos experimentales.

#### Modelado y Acoplamiento (Molecular Docking)

Posteriormente se modelaron los fitoquímicos principales de la tuna: Ácidos fenólicos (ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico, ácido Cafeico, ácido p-cumárico, ácido protocatecuático, ácido quínico, ácido sirinico), Flavonoides (Acacetina, ácido cinámico, apigenina, cirsilineol, luteolina, quercetina), para finalmente ponerlos a interactuar con la proteína calibrada y realizar el *docking* en el paquete MVD.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Calibración de proteína

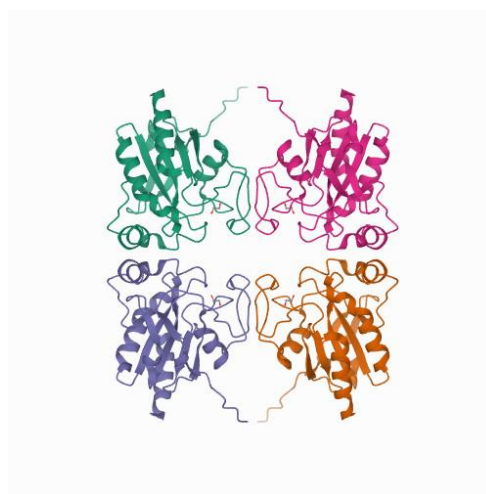


Figura 1. Estructura cristalina de la glutatión peroxidasa

En la Figura 2 se observan los resultados que se obtuvieron al calibrar la proteína de interés (Figura 1), cuyo RMSD fue de 1.218 Å.

### Modelado y acoplamiento molecular *in silico*

Para el modelado de los fitoquímicos en el software Avogadro, se realizó una búsqueda en la literatura de las moléculas de interés, en este caso flavonoles, se insertaron de forma individual cada uno de los átomos que conforman las moléculas estudiadas (Figura 2), para al final optimizarlas y realizar el acoplamiento con la proteína calibrada.

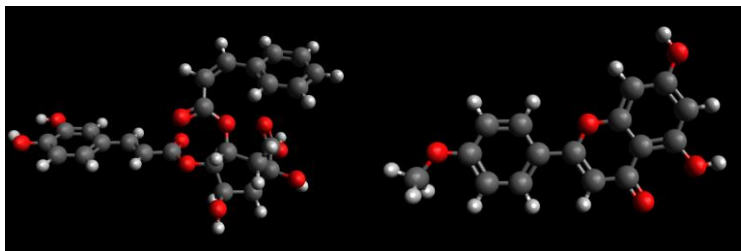


Figura 2. Modelos de 3,4-di-O-cafeoylquinic acid y Acetamina

El acoplamiento molecular específico que se realizó con los ligandos modelados en el sitio activo de la proteína de interés se muestra en la tabla 1, observando que los ligandos se acoplaron de manera similar entre ellos. La tabla 1 muestra las energías de enlace de hidrogeno (Hbond), las interacciones electrostáticas (Electro), y la eficiencia del ligando (LE) obtenidos de los ligandos seleccionados, así como también las energías de Van der Waals (VdW), en este caso interactuaron dos ligandos en 5 corridas cada uno, así se puede evaluar el mejor ligando acoplado en el blanco seleccionado. Considerando la LE (eficiencia del ligando), se puede decir que los ligandos estudiados, la pose [04] del ácido 4-di-O-cafeoilquinico y el ácido cafeico tienen los valores más negativos de LE en la tabla, lo cual los hace ligandos con mejor interacción.

Name	LE	Energía	Hbond	Electro	VdW
[00] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.603	-126.131	-8.268	-2.667	-6.062
[01] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.885	-135.998	-8.884	0.014	1.039
[02] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.354	-117.398	-8.200	1.886	-8.653
[03] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.430	-120.084	-6.966	0.790	-33.099
[04] Ácido 3,4-di-O-cafeoilquinico	-3.203	-112.119	-8.642	1.283	-15.344
[00] Ácido cafeico	-6.229	-80.986	-5.855	0.354	-19.176

Tabla 1. Energías de interacción entre los ligandos modelados y la peroxidasa estudiada, LE es la eficiencia del ligando, Hbond significa las interacciones del enlace hidrogeno, Electro las energías electrostáticas y VdW indica la energía de Van der Waals.

## CONCLUSIÓN

Se observo que después de realizar los acoplamiento moleculares, la pose [04] del ácido 3,4-di-O-caffeoilquinico es el ligando más eficiente, debido a su valor más negativo de LE, como se explicó en resultados y discusión. Por lo tanto, se puede concluir que los fitoquímicos que contiene la tuna pudieran actuar de manera indirecta como antioxidante contra el retraso del envejecimiento.

### BIBLIOGRAFÍA

- Herrera de la Uz ME. El envejecimiento Reflexiones acerca de la atención al anciano. *BIOÉTICA. BIOÉTICA*. Published online 2009:4-8.
- Ruiz Torres A. Envejecimiento: Causa, mecanismos y regulacion. *Esp Geriatr Gerontol*. 2001;0:27-33.
- Rodríguez Perón JM, Menedez Lopez J., Trujillo Lopez Y. Radicales libres en la biomedicina y estres oxidativo. *Rev Cuba Med Mil*. 2001;30:15-20.
- Samaro Martinez J, Torres Duran P., Oropeza Juarez M. El glutation y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Dep Bioquímica, Fac Med UNAM*. 2011;2:56-67.
- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de proteccion. *Atenea (Concepción)*. 2006;0:161-172.
- Hfaiedh M, Brahmi D, Gharsallah N, Zourgui L. Phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities of *Opuntia streptacantha* fruit skin. *J Food Meas Charact*. 1:1-15.
- Ramos Hernandez L. Valor nutracéutico y nutricional de aguamiel y miel de maguey obtenida por tres metodos de deshidratación. *Univ Autónoma Chapingo, México Bibl del Dep Ing Agroindustrial*. 2014;1:102-107.
- Venereo gutierrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cuba Med Mil*. 2002;31:126-133.
- Cisneros Prego E, Pupo Balboa J, Céspedes Miranda E. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutación peroxidasa. *Rev Cuba Investig Biomédicas*. 1997;16:10-15.
- Frisch MJ. et al. Gaussian 09, Revisions C.01; Gaussian. *Inc Wallingford, CT, USA*. Published online 2009.
- Rappe AK, Casewit CJ, Colwell KS, Skif WM. a Full Periodic Table Force Field for Molecular Mechanics and Molecular Dynamics Simulations. Published online 1992:10024–10035.
- Yang JM, Chen CC. A generic evolutionary method for molecular docking. Published online 2014:288–304.
- Segura Olvera D. et al. Synthesis of Pyrrolo[3,4-b]pyridin-5-ones via Multicomponent Reactions and In Vitro–In Silico Studies Against SiHa, HeLa, and CaSki Human Cervical Carcinoma Cell Lines. *Molecules*. 2009;0:2–15.