



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

ELUCIDACIÓN COMPUTACIONAL DE LAS POSIBLES VÍAS
METABÓLICAS RELACIONADAS CON EL EFECTO ANTIINFLAMATORIO
DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE LA HORCHATA

AUTOR

David Andre Báez Cevallos

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

ELUCIDACIÓN COMPUTACIONAL DE LAS POSIBLES VÍAS METABÓLICAS
RELACIONADAS CON EL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE COMPUESTOS
BIOACTIVOS DE LA HORCHATA

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Ingeniero en Biotecnología

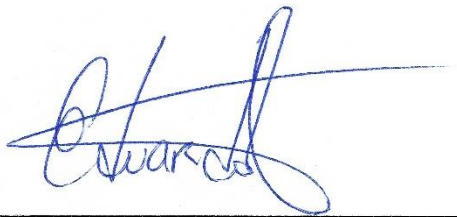
Profesora Guía
PhD. Eduardo Tejera Puente

Autor
David Andre Báez Cevallos

Año
2020

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, Elucidación computacional de las posibles vías metabólicas relacionadas con el efecto antiinflamatorio de compuestos bioactivos de la horchata, a través de reuniones periódicas con el estudiante David Andre Bález Cevallos, en el semestre 202010, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



Eduardo Tejera Puente

Doutor em Ciências Farmacéuticas - Especialidade Bioquímica

C.I. 1756501977

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Elucidación computacional de las posibles vías metabólicas relacionadas con el efecto antiinflamatorio de compuestos bioactivos de la horchata, de David Andre Báez Cevallos, en el semestre 202010, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".



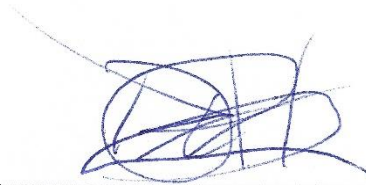
Yunierkis Pérez Castillo

Doctor en Ciencias

C.I. 1756959035

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

"Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes".

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned above a horizontal line.

David Andre Báez Cevallos

C.I.1716346612

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres por todo el apoyo brindado a lo largo de mi carrera, y permitirme alcanzar esta tan anhelada meta.

Al Doctor Eduardo Tejera Puente por toda su sabiduría, perspectiva y conocimientos brindados.

Al Grupo de Bio-Quimioinformática de la Dirección General de investigación de la Universidad de las Américas y el apoyo de todos los profesores que llegaron a encaminarme hasta este punto de mi vida profesional.

DEDICATORIA

A mis padres Gustavo y Ana por siempre guiarme y ser mi mejor ejemplo de perseverancia. A mi tutor Eduardo por haberme brindado esta oportunidad y todos sus consejos, a su única y singular manera. A Matt, Luck, Mary y Candy por su compañía durante muchas noches de desvelo. A Merryck por siempre estar ahí, a Camila y Andrea por soportarme, a Jochi y Jachi por las risas, a Melissa y Alexis por la confianza, a Carlos Emilia y el resto de mis amigos y profesores, por encaminarme a quien soy hoy en día.

RESUMEN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el bienestar del 80% de la población en países en vías de desarrollo depende principalmente del uso de plantas medicinales. La bebida horchata es una infusión de hierbas tradicional entre los indígenas de la región sur andina de Ecuador, con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y analgésicas. Se desconocen los mecanismos de las actividades antiinflamatorias de este grupo de plantas y desde el punto de vista experimental sería muy costoso un análisis de los múltiples compuestos que pueden estar presentes. Por esto se llevó a cabo un análisis bio y quimioinformático centrado en el estudio de las posibles rutas metabólicas involucradas en la inflamación. Para esto se partió de una lista de compuestos bioactivos de la horchata. Se emplearon varias herramientas computacionales de predicción de interacciones proteínas-ligando que predijeron un total de 357 posibles dianas. Los compuestos bioactivos de la horchata fueron agrupadas en 3 diferentes grupos de acuerdo a su estructura química y las dianas predichas fueron grupadas en estos tres grupos. Seguido a ello se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento para conocer los procesos biológicos y rutas metabólicas en donde cada grupo de proteínas predichas se encontraban presentes, destacando los procesos metabólicos de autofosforilación, migración de leucocitos, angiogénesis, respuestas inflamatorias, el metabolismo del nitrógeno, las vías de señalización de PI3K-Akt, VEGF y RAP-1, entre otras. Paralelamente se llevó a cabo un análisis de redes de interacción metabólica lo que permitió demostrar que la ruta metabólica del ácido araquidónico y su conexión con la inflamación serían las principales en estos compuestos.

ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO), the welfare of 80% of the population in developing countries depends mainly on the use of medicinal plants. The drink of horchata is an infusion of herbs, traditional among the indigenous people of the Andina southern region of Ecuador, with antioxidant, anti-inflammatory and analgesic properties. The mechanisms of the inflammatory activities of this group of plants are unknown and from an experimental point of view it would be very costly to analyse the multiple compounds that may be present.

In this way, a bio-cheminformatics analysis was carried out focusing on the study of possible metabolic pathways involved in inflammation.

For this purpose it was based on a list of bioactive compounds of the horchata. Several computational tools were used to predict protein-ligand interactions, with a total prediction of 357 potential targets. The molecules were grouped into three different clusters according to their chemical structure and the targets predicted were grouped into these three clusters. This was followed by an analysis enrichment to learn about biological processes and metabolic pathways in which each group of proteins predicted were present, highlighting the metabolic processes of autophosphorylation, leukocyte migration, angiogenesis, inflammatory responses, nitrogen metabolism, signaling pathways of PI3K-Akt, VEGF and RAP-1, among others. At the same time, an analysis of metabolic interaction networks was carried out, which showed that the metabolic pathway of arachidonic acid and its connection to inflammation would be the main ones in these compounds.

ÍNDICE

1. Capítulo I. Introducción	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Planteamiento del problema	2
1.3 Objetivos.....	3
1.3.1 General.....	3
1.3.2 Específicos	3
1.4 Justificación de la investigación	3
2. Capítulo II. Marco Teórico	4
2.1 Horchata y sus características	4
2.2 Antiinflamatorios	5
2.3 Herramientas computacionales.....	10
2.3.1 Predicción de interacciones ligando-proteínas	11
2.3.2 Bases de Datos experimentales.....	11
2.3.3 Agrupamiento de moléculas químicas.....	12
2.3.4 Análisis de Enriquecimiento	13
3. Capítulo III. Metodología y Procesos	14
3.1 Metodología	14
3.2 Procesos.....	16
3.2.1 Determinación de compuestos bioactivos de la horchata.....	16
3.2.2 Predicción de interacciones ligando-proteínas	17
3.2.2.1 Enfoque de conjunto de similitud (Similarity ensemble approach, SEA) ...	17
3.2.2.2 Predicción de objetivo molecular (Molecular Diana Prediction, MolTarPred)	17
3.2.2.3 Predicción de Objetivos (SwissTargetPrediction)	18
3.2.2.4 Predicción de objetivos basada en datos de interacción compuesto-objetivo (SuperPred).....	18
3.2.3 Normalización.....	18
3.2.4 Agrupamiento de moléculas químicas.....	19

3.2.5 Redes de Interacción metabólica	20
3.2.5.1 WPX	20
4. Capítulo IV. Resultados y Discusión	20
4.1 Predicción de posibles dianas	20
4.2 Agrupamiento	21
4.3 Análisis de enriquecimiento.....	22
4.4 Integración metabólica	32
5. Capítulo V. Conclusiones y recomendaciones.....	39
5.1 Conclusiones	39
5.2 Recomendaciones.....	39
REFERENCIAS	40
ANEXOS	52

1. Capítulo I. Introducción

1.1 Antecedentes

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el bienestar del 80% de la población en países en vías de desarrollo depende principalmente del uso de plantas medicinales a través de la medicina tradicional, terapias espirituales y prácticas de curación ancestral. Este hecho se ve reflejado en las prácticas ancestrales de múltiples comunidades tradicionales que habitan en áreas rurales del país. En Latinoamérica existen pocos estudios etnobotánicos de los mercados tradicionales, mucho menos estudios acerca de los mecanismos de acción específicos de cada planta medicinal popular (Tinitana, Rios, Romero-benavides, De la Cruz Rot, & Pardo-de-Santayana, 2016).

La bebida horchata es una infusión de hierbas tradicional entre los indígenas de la región sur andina de Ecuador. La bebida consiste en una mezcla de plantas medicinales, que normalmente oscila entre 16 y 32 plantas de producción local, a la que se le agrega azúcar, miel o azúcar de caña cruda y gotas de limón (Guevara et al., 2019; Villamagua Vergara, 2014). El 66% de sus plantas tienen propiedades antiinflamatorias y el 51% propiedades analgésicas (Bailon-Moscoso et al., 2017).

La horchata contiene compuestos bioactivos capaces de reducir el daño oxidativo celular, a través del aumento de los niveles de enzimas antioxidantes endógenas, y activa los mecanismos de autorregulación de procesos inflamatorios; llegando a modular la producción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias (Guevara et al., 2019). Resultados similares fueron reportados por (Torres-Carro et al., 2017) evidenciando el efecto antiinflamatorio de compuestos bioactivos similares.

El Código Químico Terapéutico Anatómico de la Organización Mundial de la Salud (OMS) afirma que los compuestos con propiedades fisicoquímicas similares exhiben una actividad biológica similar (Dunkel, Günther, Ahmed, Burghardt, & Preissner, 2008). A partir de ello, podemos adquirir conocimientos sobre el reposicionamiento de los medicamentos y predecir nuevas indicaciones médicas, así como clasificar los compuestos aun no clasificados (Nickel et al., 2014).

Dentro de la identificación y descubrimiento de fármacos nos encontramos con muchas interacciones no deseadas, efectos secundarios, debido a varias reacciones inespecíficas con dianas no previstas. Estas interacciones pueden generar reacciones adversas provocando problemas en quienes se emplee el fármaco. Estos mecanismos no deseados en ocasiones suelen limitar los estudios a las fases preclínicas (Ramsay, Nikolic, Nikolic, Uliassi, & Bolognesi, 2018). Sin embargo estas interacciones con dianas alternativas pueden llegar a ser utilizadas para otros descubrimientos en el reposicionamiento de fármacos y como información adicional para futuros proyectos de investigación (Liu et al., 2014; Medina-Franco, Fernán-Dezde Gortari, & Jesús Naveja, 2015).

Por otra parte, el desarrollo de fármacos es un proceso altamente costoso y que demanda mucho tiempo. El uso de métodos computacionales ha logrado el análisis y filtración de grandes cantidades de datos de forma eficiente, siendo posible priorizar moléculas con mayor probabilidad de producir los efectos deseados (Fradera & Babaoglu, 2017; K. Wang et al., 2013).

1.2 Planteamiento del problema

Existe evidencia sobre los beneficios medicinales de las especies de plantas utilizadas en la elaboración de la horchata (Bailon-Moscoso et al., 2017; Guevara et

al., 2019; Rios, Tinitana, Jarrín-v, Donoso, & Romero-Benavides, 2017). Dentro de los beneficios reportados encontramos que promueve una digestión saludable, mejora la memoria y actúa como un antiinflamatorio hepático y un diurético (Villamagua Vergara, 2014). Siendo esta una mezcla de plantas, y por ende de compuestos químicos estos posibles efectos pueden seguir diversas vías metabólicas. Sin embargo se desconocen los mecanismos de acción específicos asociados a estos beneficios terapéuticos.

1.3 Objetivos

1.3.1 General

- Obtener de forma computacional las posibles vías metabólicas relacionadas con el efecto antiinflamatorio de compuestos bioactivos contenidos en la horchata.

1.3.2 Específicos

- Identificar posibles dianas moleculares que interactúen con los compuestos bioactivos de la horchata, mediante herramientas de predicción ligando-proteínas.
- Analizar las redes metabólicas formadas por estas dianas.
- Seleccionar *in silico* las rutas metabólicas más enriquecidas con procesos antiinflamatorios mediante modelación computacional.

1.4 Justificación de la investigación

En los últimos años se ha observado una gran cantidad de evidencia nueva que destaca la importancia de la inflamación en el desarrollo de diversas patologías

crónicas como la neurodegeneración, diabetes, cáncer, enfermedades inflamatorias intestinales y enfermedades cardiovasculares, entre otras. Sin embargo, la mayoría de las terapias actuales no abordan el problema subyacente, por lo que un gran número de investigadores han descubierto varias vías de señalización que están asociadas con el inicio y la progresión de la inflamación (Yeung, Aziz, Guerrero-Castilla, & Arguelles, 2018).

La horchata ha demostrado tener efectos antiinflamatorios (Guevara et al., 2019). Desde el punto de vista experimental sería muy costoso evaluar todas las rutas metabólicas que pueden llevar a un efecto antiinflamatorio (Kishore, Kumar, Shanker, & Verma, 2019). Una estrategia computacional puede simplificar qué rutas metabólicas son aquellas que deberíamos estudiar en el laboratorio, ya que múltiples métodos de computacionales han tenido aportes significativos para desarrollar medicamentos que se encuentran en uso clínico (Saldívar-González, Prieto-Martínez, & Medina-Franco, 2017).

Un análisis bioinformático centrado en el estudio de las posibles rutas metabólicas involucradas en la inflamación puede simplificar el desarrollo de pruebas experimentales, en la búsqueda de vías metabólicas e identificar aquellos compuestos químicos más importantes con efecto antiinflamatorio. Lo que permite abrir nuevas posibilidades de generar nuevas moléculas con las mismas propiedades.

2. Capítulo II. Marco Teórico

2.1 Horchata y sus características

La bebida de horchata es una infusión de hierbas consumida en la provincia de Loja en la región sur-andina de Ecuador. La bebida consiste en una mezcla de plantas medicinales autóctonas y 66% de estas están asociadas tradicionalmente con

capacidades antiinflamatorias, mientras que el 51% son usadas por sus propiedades analgésicas (Bailon-Moscoso et al., 2017; Rios et al., 2017; Villamagua Vergara, 2014).

A pesar de que no conocemos la composición química completa de la horchata (entre otras cosas por la variabilidad de las plantas que las componen), los múltiples experimentos llevados a cabo por Guevara et al. (Guevara et al., 2019) permitieron la identificación de algunos compuestos bioactivos, derivados de ácido fenólico y diversos flavonoides. De estos compuestos, los ácidos cafeoilquínicos están asociados a efectos antioxidantes, antibacterianos, anticancerígenos y antihistamáticos (Miyamae, Kurisu, Han, Isoda, & Shigemori, 2011). Por otro lado en lo que respecta a sus flavonoides, su alto contenido de quercetina y apigenina le otorga propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitumorales (Del Rio et al., 2013; J. Wang et al., 2014). Estas mismas propiedades las encontramos en su baja concentración de antocianinas; induciendo efectos beneficiosos en el sistema cardiovascular (Amatori et al., 2016; Gasparrini et al., 2017; Santhakumar, Battino, & Alvarez-Suarez, 2018).

2.2 Antiinflamatorios

La inflamación es una función biológica que se desencadena después de la interrupción mecánica del tejido o de las respuestas por una incidencia de agresiones físicas, químicas o biológicas sufridas en el cuerpo. Estas respuestas son un mecanismo esencial proporcionado por el sistema inmunitario durante la lesión tisular para mantener la homeostasis celular normal. Sin embargo, la inflamación es más que un simple sistema de defensa, ya que si no es regulada, puede provocar múltiples enfermedades, como la artritis, Huntington, Alzheimer, o inclusive la muerte. La inflamación es un proceso bastante complejo a nivel

molecular, con la participación de varias expresiones proinflamatorias (Kishore et al., 2019; Liou, 2011).

Algunos de los mediadores inflamatorios más comunes liberados por las células inmunes del cuerpo son: Los radicales libres, los cuales pueden desencadenar la activación de varias proteínas que a su vez activan la respuesta inflamatoria. La lista de citoquinas que se observan en la tabla 1, las cuales son proteínas que controlan la dirección, la amplitud y la duración de la respuesta inflamatoria. Las prostaglandinas que observamos en la figura 1, los cuales son químicos de corta duración que tienen efectos pro y antiinflamatorios, aumentan el flujo de oxígeno, previenen la agregación celular y disminuyen el dolor. (Liou, 2011).

Tabla 1.

Lista de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias comunes.

Citoquinas proinflamatorias	Citoquinas antiinflamatorias
IL-1	IL-4
IL-6	IL-10
TNF- α	IL-13
TGF- β	

Adaptado de (Liou, 2011).

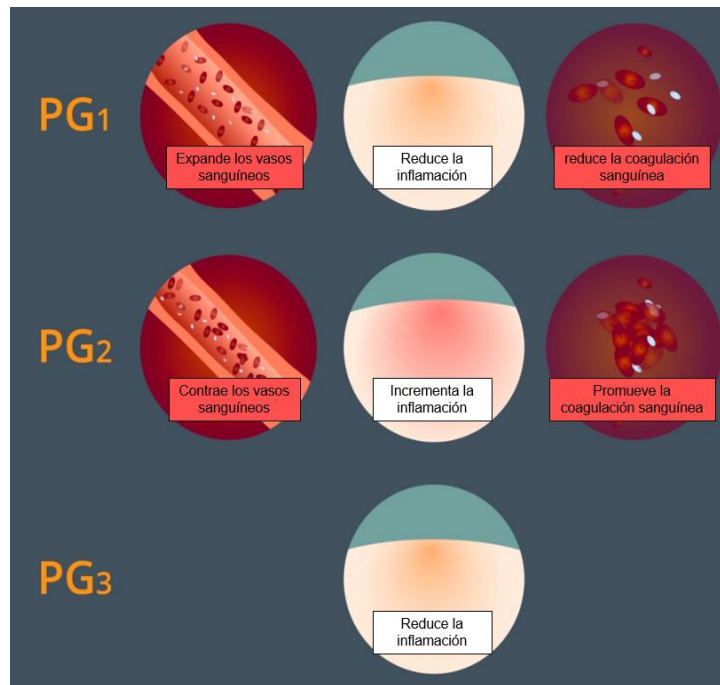


Figura 1. Propiedades de las prostaglandinas.

Adaptado de (Liou, 2011).

La mayoría de los medicamentos antiinflamatorios utilizados tienen un alto riesgo de efectos secundarios. El grupo de los antiinflamatorios esteroideos se basa principalmente en los glucocorticoides los cuales son hormonas secretadas en la corteza adrenal de las glándulas suprarrenales, muy usadas como fármacos antiinflamatorios, antialérgicos e inmunosupresores. Sin embargo en la actualidad los glucocorticoides figuran entre las drogas más usadas y, paralelamente, las más temidas por sus efectos secundarios, llegando a producir trastornos del metabolismo de los lípidos, trastorno de coagulación sanguínea, hipertensión, diabetes, osteoporosis y miopatía (Divins, 2014; Peppas, Krania, & Raptis, 2011; Serra, Roganovich, & Rizzo, 2012).

Como los compuestos que estudiaremos derivados de los estudios de composición química de la horchata no son esteroides, preferimos concentrarnos en los mecanismos de los antiinflamatorios no esteroideos. Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) son un grupo químicamente heterogéneo de fármacos que además de sus propiedades antiinflamatorias actúan en mayor o menor medida como analgésicos y antipiréticos (Anderson & Coté, 2019; Divins, 2014). Se conoce que todos los AINE actúan en mayor o menor medida sobre distintas enzimas implicadas en los mecanismos bioquímicos de producción de sustancias como las prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, conocida como la vía metabólica del ácido araquidónico; figura 2. (Anderson & Coté, 2019; Divins, 2014; Tarloff, 2010).

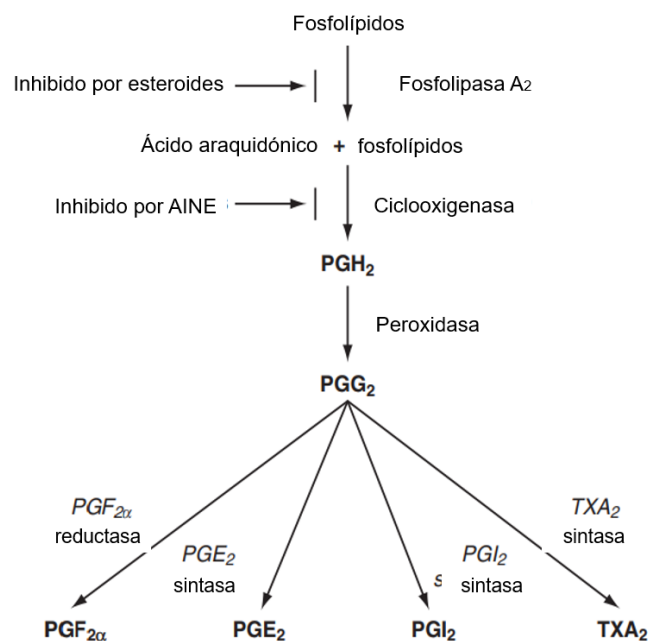


Figura 2. Vía metabólica del ácido araquidónico, conversión de ácido araquidónico a prostaglandina G2 (PGG2).

Adaptado de (Anderson, Lerman, & Coté, 2019)

Los AINE actúan reduciendo la biosíntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de sitios activos de las enzimas COX (COX-1 y -2), las cuales catalizan la conversión

primaria del ácido araquidónico a prostaglandinas G2 y H2 (PGG2 y PGH2). A partir de PGH2 y PGG2 se derivan múltiples componentes de la cascada metabólica (PGE2, PGI2, PGD2, PGF2 y TXA2), los que poseen funciones biológicas únicas para mediar las respuestas inflamatorias e involucrar procesos fisiopatológicos (Anderson & Coté, 2019; Li & Mansmann, 2013; Liou, 2010).

Cada tipo de ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2) facilita la producción de diferentes tipos de prostaglandinas. Por un lado COX-1 está involucrado en la producción de prostaglandinas que son necesarias para diversas funciones reguladoras del sistema gástrico. COX-2 por otro lado está involucrado en la producción de prostaglandinas que median la inflamación. La mayoría de los AINE en el mercado actualmente inhiben ambas formas de enzimáticas (COX-1 Y COX-2), produciendo efectos secundarios asociados al sistema gastrointestinal (Liou, 2010).

Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) más usados, como la aspirina y el ibuprofeno, figura 4, inhiben la actividad ciclooxigenasa (COX) de la prostaglandina H sintasa (PHS). La enzima PHS cataliza el paso inicial en la síntesis de prostaglandina G2 (PGG2) y prostaglandina H2 (PGH2), a partir del ácido araquidónico; figura 3. Debido a que las prostaglandinas están involucradas en la inflamación, la interrupción de la síntesis de prostaglandinas actúa para aliviar la inflamación que acompaña a muchas enfermedades, incluidas la artritis reumatoide, la osteoartritis y el lupus eritematoso sistémico.

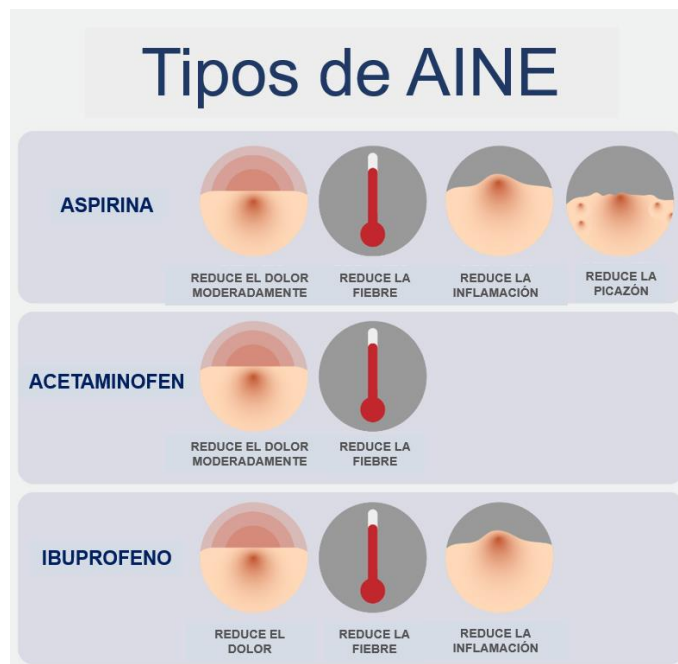


Figura 3. Los 3 AINE más reconocidos en la industria farmacéutica. Adaptado de (Liou, 2010).

En general la terapia con AINE es segura y efectiva, y los efectos adversos más significativos implican irritación y ulceración gastrointestinales. Los AINE se encuentran entre los medicamentos más utilizados y están disponibles tanto con receta como sin receta (Tarloff, 2010). Con el fin de minimizar los efectos secundarios atribuidos a los AINE y producir AINE de alta calidad, ha sido un interés principal identificar las vías relacionadas con los AINE, así como sus funciones fisiológicas y patológicas.

2.3 Herramientas computacionales

Muchas veces se niega la aprobación y el uso de varios compuestos farmacéuticos debido a inesperados efectos secundarios clínicos y reactividad cruzada de fármacos (reacción de 2 o más dianas diferentes ante el mismo compuesto) observados durante los ensayos clínicos. El descubrimiento computacional de medicamentos se ha vuelto muy relevante en las últimas décadas debido

principalmente a la reducción de riesgos, tiempo, rentabilidad y recursos en comparación con los enfoques experimentales tradicionales (Zhang, Pei, & Lai, 2017). En general hay dos estrategias en la modelación computacional de la interacción fármaco-proteína: 1) estrategia basada en ligandos y 2) estrategias basadas en estructura de la proteína. En nuestro caso no conocemos las posibles dianas (que es uno de nuestros objetivos) por lo que nuestro abordaje se realiza empleando la información relativa a los ligandos (moléculas de interés).

2.3.1 Predicción de interacciones ligando-proteínas

Debido a las limitaciones de tiempo y costo de los enfoques experimentales varias herramientas computacionales, intentan predecir las relaciones ligando-dianas *in silico*. Los métodos basados en ligandos suelen utilizar una variedad de descriptores moleculares para cuantificar y comparar las propiedades fisicoquímicas de las moléculas pequeñas (Mathai, Chen, & Kirchmair, 2019; C. Wang, Liu, Luo, Deng, & Hu, 2015). Por otro lado, la predicción computacional de dianas moleculares se ha convertido en un enfoque útil para comprender la eficacia y los efectos secundarios fenotípicos más fuertes (Lin, 2012).

Desde entonces estos agrupamientos o predicciones en función de la similitud química de sus ligandos, interacción de proteínas con pequeños compuestos orgánicos, principio de similitud, comparación de moléculas similares en 2D y 3D, e impulsados por diversas bases de datos, se han aplicado con éxito en la identificación de nuevos blancos moleculares (Keiser et al., 2007). Ya sea para fármacos conocidos, productos naturales, predicción de efectos secundarios e indicaciones terapéuticas de medicamentos aprobados (Z. Wang, Liang, Yin, & Lin, 2016).

2.3.2 Bases de Datos experimentales

Existen varias bases de datos que contienen información de millones de moléculas. 9Entre ellas se destaca ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>), la cual es la fuente de datos abiertos más grande. Conserva y almacena datos estandarizados de bioactividad, moléculas, diana y fármacos extraídos de múltiples fuentes, incluida la literatura de química médica primaria. La base de datos ChEMBL permite obtener información sobre asociaciones entre un ligando y un dianas biológicas que ya han sido medidos experimentalmente (Bento et al., 2014; Davies et al., 2015).

2.3.3 Agrupamiento de moléculas químicas

El agrupamiento (clustering) ha sido ampliamente reconocida como una poderosa técnica de minería de datos, basada en el agrupamiento de compuestos con características comunes, a partir de compuestos que requerirían métodos de análisis multivariados (Karthikeyan & Vyas, 2014; Kumar & Asger, 2015).

En nuestro caso, basándonos en el principio de que es probable que estructuras químicas similares, tengan propiedades biológicas similares, llevamos a cabo agrupamientos para analizar cientos y miles de moléculas en función de similitudes, descriptores, estructura, diversidad, andamios, etc. Las agrupaciones jerárquicas son las más comunes debido a sus fáciles interpretaciones gráficas. Uno de los métodos de agrupamientos jerárquicos para compuestos químicos similares utiliza el algoritmo de la Subestructura Común Máxima (MCS). El cual toma dos estructuras moleculares, representadas como gráficos, y extrae la subestructura común máxima, ya sea como un grafo conectado o desconectado, calculando una similitud que hace posible agrupar compuestos que comparten el mismo patrón (Golbamaki, Franchi, & Gini, 2017; Zloh et al., 2017). La subestructura máxima común (MCS) de dos moléculas se puede usar para búsquedas por similitud, agrupamiento jerárquico y alineación de moléculas.

2.3.4 Análisis de Enriquecimiento

Para analizar toda la información ómica (genómica, transcriptómica, proteómica y metabolómica) que abarca una lista genes y llegar a descubrir nuevas funciones biológicas, relaciones genotipo-fenotipo y mecanismos de enfermedades, se requiere una cantidad impráctica de literatura que debe ser interpretada de forma manual. Un enfoque para abordar este problema es el análisis de enriquecimiento, que resume las listas de genes en listas más pequeñas de rutas metabólicas, procesos biológicos, enfermedades, etc., más fáciles de interpretar. Estas nuevas listas poseen cierta relevancia estadística evaluada por el test de Fisher o alguna modificación de este (ej. Test hipergeométrico) (Reimand et al., 2019).

La base de datos para anotaciones, visualización y descubrimiento integrado (DAVID), es una herramienta de análisis bioinformático basado en la web diseñado para clasificar e interpretar funcionalmente de grandes listas de genes y proteínas (Dennis et al., 2003; Jiao et al., 2012). DAVID consta de una base de datos de conocimiento biológico integrado y un conjunto de herramientas de análisis para extraer una gran cantidad de información biológica de grandes listas de genes y proteínas. Esta información biológica deriva de estudios genómicos y proteómicos, incluida la identificación de vías biológicas sobrerrepresentadas, visualización de listas de genes superpuestas, asociaciones de genes y enfermedades e identificación de proteínas que interactúan (Huang, Sherman, Lempicki, & Lempicki, 2009; Jiao et al., 2012).

BioProfiling.de es un portal web analítico para biología celular de alto rendimiento que proporciona varias herramientas analíticas para la interpretación de listas de genes o proteínas. Estas interpretaciones se basan en el conocimiento previo disponible almacenado en bases de datos públicas, empleando enriquecimiento

avanzado (ProfCom, GeneSet2MiRNA, PLIPS, CCancer) o marcos estadísticos basados en redes (KEGG spider, PPI spider, R spider) (Antonov, 2011).

R spider es una herramienta web para el análisis de redes metabólicas integrando dos bases de datos: KEGG y Reactome. El objetivo es obtener, a partir de una lista inicial de genes o proteínas, la máxima red metabólica capaz de contener todos los datos de entrada y que al mismo tiempo sea estadísticamente diferente de una combinación aleatoria (Antonov, Schmidt, Dietmann, Krestyaninova, & Hermjakob, 2010). De esta forma, la red final representa los procesos centrales de los genes de entrada.

3. Capítulo III. Metodología y Procesos

3.1 Metodología

En el estudio se identificó el posible mecanismo de acción que siguen algunos compuestos bioactivos de la horchata. El diagrama de flujo de nuestra metodología general se muestra en la Figura 4. A partir de una lista de compuestos bioactivos previamente identificados por Guevara et al (Guevara et al., 2019) se llevó a cabo una predicción de interacciones ligando-proteínas para determinar las posibles dianas moleculares de cada uno de los compuestos por medio de 4 herramientas (SEA, MoltarPred, SwissTargetPrediction y SuperPred). Por medio de la base de datos ChEMBL, se identificaron aquellas interacciones ligando-proteínas ya conocidas, identificando dianas experimentales de cada uno de los compuestos. Una vez obtenidas todas las dianas potenciales, estas fueron filtradas, comparando las dianas predichas de las 4 herramientas, con las dianas experimentales de la base de datos ChEMBL.

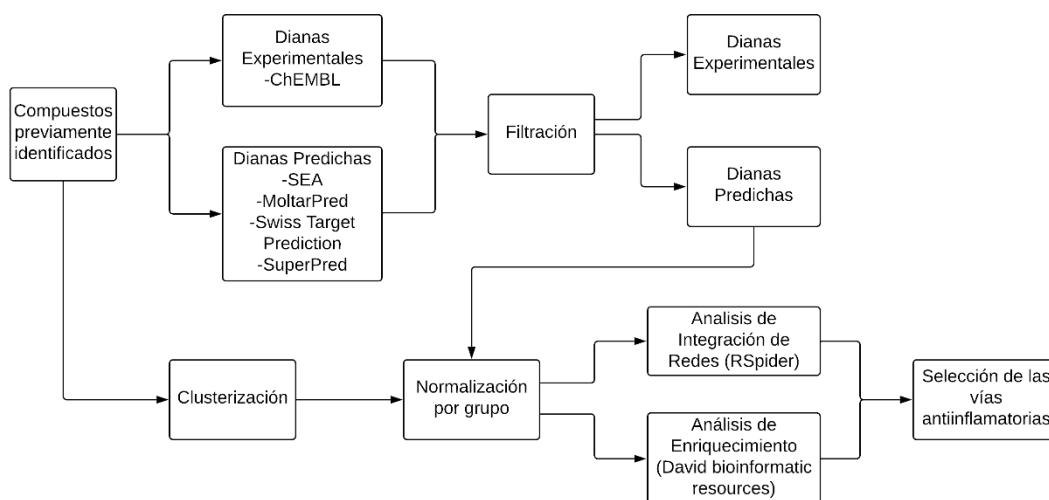


Figura 4. Diagrama de flujo del diseño experimental.

Paralelamente se llevó a cabo un agrupamiento de moléculas químicas por medio de la herramienta libMCS (Karthikeyan & Vyas, 2014) generando 3 diferentes grupos de compuestos basados en su similitud química estructural. A continuación se llevó a cabo una normalización y consenso, de las listas de dianas predichas de cada grupo, en base a sus valores de significancia estadística, obteniendo una lista final de posibles dianas implicadas en el mecanismo de cada grupo de compuestos, en base a un mismo y único puntaje de significancia (Final Score).

Por medio de la plataforma David Bioinformatic (Huang et al., 2009), se realizó un análisis de enriquecimiento para identificar las dianas que se encuentran agrupadas o relacionadas entre sí de acuerdo a dos tipos de enriquecimientos:

- Enriquecimiento biológico, de *gene ontology* (GO)
- Enriquecimiento biológico, de rutas metabólicas de la base de datos KEGG

De cada análisis más de un valor fue tomado en cuenta:

- Significación estadística (p-valor) del enriquecimiento.
- Enriquecimiento acumulado (Fold Enrichment), el cual indica cuantas veces fue enriquecido el proceso biológico o ruta metabólica, en contraste con una selección aleatoria.
- Tasa de descubrimiento de falsos (False Discovery Rate, FDR), la cual indica la probabilidad de error tipo II en el análisis (Chen, Robinson, & Storey, 2019).
- Peso de los enriquecimientos (WPx), valor establecido en base a un ponderado de los puntajes de significancia (Final Score) de las proteínas predichas en cada proceso biológico o ruta metabólica enriquecida.

Paralelamente se llevo a cabo un análisis de integración de redes metabólicas por medio de la herramienta RSpider (Antonov, 2011). En conjunto estos análisis nos permitieron determinar posibles mecanismos de acción antiinflamatorios relacionados con los compuestos bioactivos de la horchata.

3.2 Procesos

3.2.1 Determinación de compuestos bioactivos de la horchata

En el presente estudio se utilizó una lista de compuestos bioactivos de la mezcla de plantas de horchata (Tabla 2) obtenidos de la caracterización de extractos hidroalcohólicos e infusiones de horchata (Guevara et al., 2019). Utilizamos en cada herramienta el sistema de representación SMILES.

Tabla 2.

Compuestos bioactivos obtenidos de la horchata.

Compuestos Bioactivos	
Quercetina-O-galactósido	Acido 3-cafeoilquínico

Quercetina-O-glucósido	Syringaresinol
Kaempferol-O-rutinósido	Acido 5-cafeoilquínico
Quercetina	Miricetina glucurónido
Acido Dicafeoilquínico	Isorhamnetina glucurónido
Naringenina hexosa	Quercetina-O-rutinosida

3.2.2 Predicción de interacciones ligando-proteínas

Para determinar las dianas a las cuales podría unirse cada de uno de los 12 compuestos bioactivos (Tabla 2), se utilizaron las siguientes herramientas para la predicción ligando-proteína: SEA (Keiser et al., 2007), MoltraPred (Peón, A.; Naulaerts, S.; Ballester, 2017), SwissTargetPrediction (Gfeller et al., 2014), Prediction Charite (Nickel et al., 2014) y ChEMBL database (Bento et al., 2014).

3.2.2.1 Enfoque de conjunto de similitud (Similarity ensemble approach, SEA)

El Enfoque de Conjunto de Similitud Química (SEA) (<http://sea.bkslab.org/>), predice dianas biológicas de un compuesto en función de su similitud con ligandos agregando la similitud química entre conjuntos de ligandos, además de filtrar las señales poco confiables y normaliza los resultados para predecir la importancia de la similitud farmacológica de cada diana (Irwin, Gaskins, Sterling, Mysinger, & Keiser, 2018).

3.2.2.2 Predicción de objetivo molecular (Molecular Diana Prediction, MolTarPred)

La herramienta web MolTarPred (<http://moltarpred.marseille.inserm.fr/>) predice la interacción de proteínas con pequeños compuestos orgánicos, impulsado por una gran base de conocimiento que comprende 607659 compuestos y 4553 objetivos macromoleculares recopilados de la base de datos ChEMBL. Estas predicciones son enumeradas en una tabla, cada una con un puntaje de confianza que permite enfocar las pruebas experimentales futuras en las predicciones más confiables (Peón et al., 2019).

3.2.2.3 Predicción de Objetivos (SwissTargetPrediction)

SwissTargetPrediction (<http://SwissTargetPrediction.ch/index.php>) es una herramienta web proporcionada por el Instituto Suizo de Bioinformática, el cual predice las dianas proteicas más probables de moléculas pequeñas, las cuales están basadas en el principio de similitud; las predicciones se realizan comparando moléculas similares, en 2D y 3D, obteniendo una lista de dianas proteicas dentro de una gran colección de compuestos conocidos experimentalmente activos en un conjunto extendido de dianas macromoleculares registrados en ChEMBL y UniProt, en tan solo 15 a 20 segundos, estos datos se encuentran filtrados para eliminar dianas no proteicas, complejos de proteínas y grandes ligandos (Byrne & Schneider, 2019a; Daina, Michielin, & Zoete, 2019; Gfeller et al., 2014).

3.2.2.4 Predicción de objetivos basada en datos de interacción compuesto-objetivo (SuperPred)

El servidor web SuperPred (<http://prediction.charite.de/index.php?site=home>) unifica la similitud química de compuestos con dianas moleculares y el enfoque basado en estructura, ambos basados en el principio de similitud, además de nuevos enfoques como la similitud 3D y la concordancia de las propiedades fisicoquímicas; posee una alta estimación de confianza debido al creciente número de interacciones ligando-proteínas experimentales que ha aumentado desde el lanzamiento del servidor. Además, examina el efecto de diferentes huellas digitales en las predicciones (Byrne & Schneider, 2019b; Nickel et al., 2014).

3.2.3 Normalización

Como cada herramienta usa diferentes métodos y ordenamientos en sus predicciones, se le asignó a proteína “i” en cada método de predicción “j” y para el compuesto “k” un número de ordenamiento (ranking_{i,j}) en función a su valor de significancia. Con estos valores se calcula el puntaje de cada proteína “i” en el método “j” (Score_{i,j,k}) (Ecuación 1).

$$Score_{i,j,k} = \frac{(\max ranking_{j,k}) - ranking_{i,j,k}}{(\max ranking_{j,k}) - (\min ranking_{j,k})} \quad \text{Ecuación 1.}$$

Posteriormente el puntaje final de cada proteína predicha “i” para el compuesto “k” (Final Score_{i,k}) se calcula de acuerdo a la Ecuación 2:

$$Final\ Score_{i,k} = \sqrt{\frac{n_i}{N} \sum_{j=1}^N Score_{i,j,k}} \quad \text{Ecuación 2.}$$

Donde N es el número de métodos empleados (4) y n es el número de métodos que identificaron a la proteína “i”. Estas ecuaciones y el método empleado se encuentran detallado por López-Cortés et al. y Tejera et al. (López-Cortés et al., 2018; Tejera et al., 2017). A continuación, se llevó a cabo un segundo puntaje de todas las proteínas predichas teniendo en cuenta el número de grupos y el número de compuestos por grupo. Esta segunda puntuación de la proteína “i” en el grupo “m” (ScoreF_{i,m}) se realiza mediante la Ecuación 3.

$$ScoreF_{i,m} = \sqrt{\frac{nc}{nc_m} \sum_{k=1}^{nc_m} Final\ Score_{i,k}} \quad \text{Ecuación 3.}$$

Donde: nc es el número de moléculas en el grupo “m” que interactúan con la proteína “i” y nc_m es el número de moléculas en el grupo “m”.

3.2.4 Agrupamiento de moléculas químicas

El programa que empleamos para la Agrupamiento de moléculas químicas fue el ChemAxon. Este programa cuenta con una herramienta de agrupación denominada Library MCS (libMCS). Con esta herramienta podemos analizar muchas moléculas por medio del MCS utilizando posteriormente una representación jerárquica, la cual analiza cientos y miles de moléculas a través de subestructuras comunes máximas,

utilizando una representación jerárquica de clústeres (dendogramas) (Karthikeyan & Vyas, 2014).

3.2.5 Redes de Interacción metabólica

3.2.5.1 WPX

Además, se hizo un ponderado de las rutas metabólicas y procesos biológicos enriquecidos (Ecuación 4) en función de las dianas que estaban presentes en cada proceso/ruta utilizando los valores ($ScoreF_{i,m}$) obtenidos de cada diana en la normalización.

$$WPx = \frac{\sum \text{score de diana presente en el proceso/ruta}}{\sum \text{score de diana humana del cluster}} \quad \text{Ecuación 4.}$$

4. Capítulo IV. Resultados y Discusión

4.1 Predicción de posibles dianas

Utilizando 4 diferentes servicios web se lograron predecir proteínas que podrían interactuar con uno o más de los 12 compuestos bioactivos de la horchata (ver Tabla 12, en Anexos). Estos resultados mostraron un total de 218 dianas predichas con el método 1 (herramienta SEA) compartidas entre los compuestos, con el método 2 (herramienta MolTarPred) se obtuvieron un total de 163 dianas predichas que se comparten entre los compuestos, con el método 3 (herramienta SwissTargetPrediction) se obtienen un total de 354 dianas predichas que se comparten entre los compuestos, y con el método 4 (herramienta Prediction Charite) se identificaron 56 dianas predichas que se comparten entre los compuestos. El número de dianas predichas en común por los cuatro métodos fue de 28 como se

observa en la Figura 5. Este bajo número de predicciones comunes se debe a los diferentes enfoques que utilizan para sus predicciones cada método.

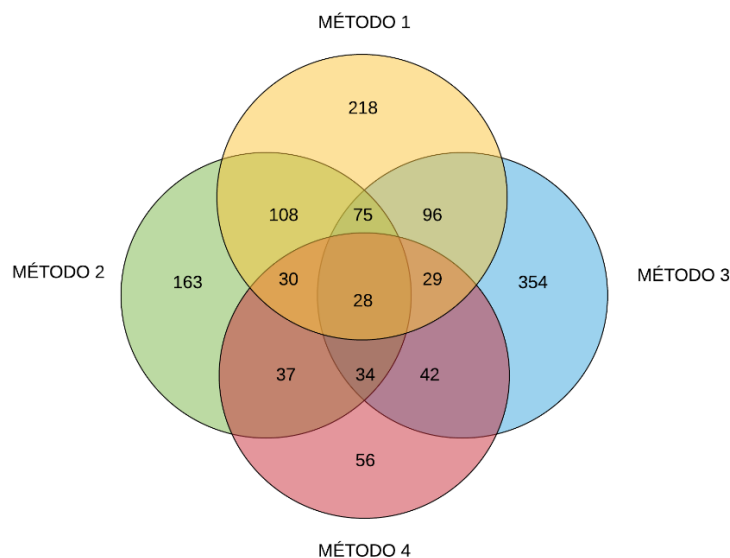


Figura 5. Diagrama de Venn con las dianas predichas de cada método, Método 1: SEA, Método 2: MoltarPred, Método 3: Swiss, Método 4: SuperPred.

4.2 Agrupamiento

A fin de enriquecimientos más específicos de acuerdo al tipo de compuestos, se llevó a cabo un agrupamiento de moléculas químicas identificando la subestructura máxima común (MCS), obteniendo 3 grupos (grupos o conjuntos) de moléculas, el Grupo 1 formado por 7 moléculas derivadas de la quercetina, el Grupo 2 formado por 3 moléculas cuya subestructura común es un un éster de alquil-cafeato, y el Grupo 3 formado por 2 moléculas cuya única subestructura común es un fenol, como se observa en la Figura 6. En base a los puntajes obtenidos por medio de la normalización y los grupos obtenidos por la Agrupamiento se obtuvo un total de 253 proteínas predichas en el grupo 1, 67 proteínas predichas en el grupo 2 y 164 proteínas predichas en el grupo 3.

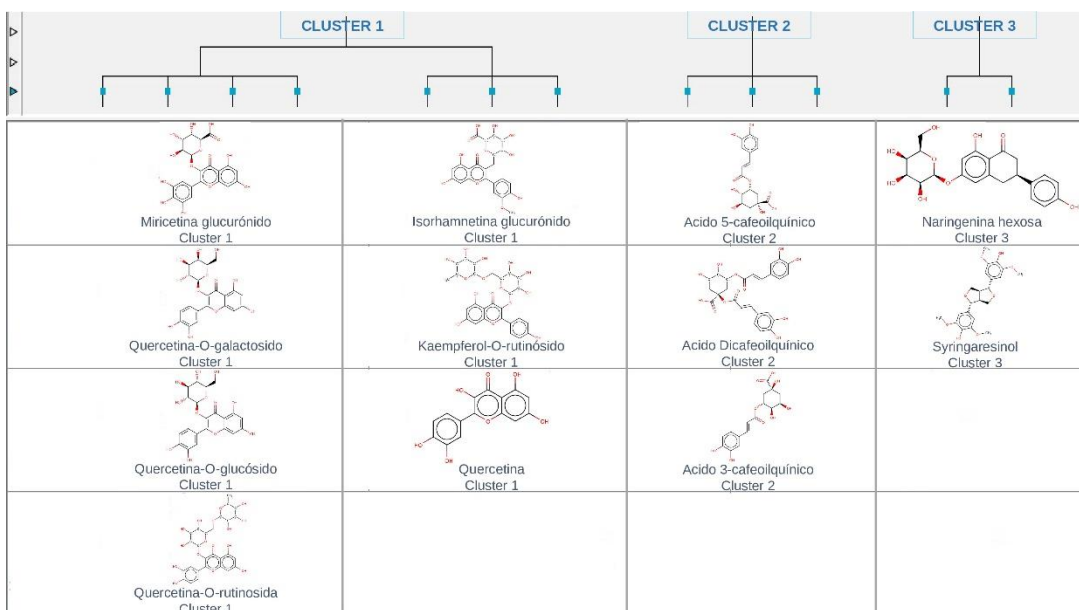


Figura 6. Resultados obtenidos de la Agrupamiento llevada a cabo con la herramienta Library MCS (libMCS).

4.3 Análisis de enriquecimiento

A partir del análisis de enriquecimiento de los procesos biológicos (Tablas 3, 4 y 5) y por medio de un diagrama de Venn (Figura 7) se observa una mayor diversidad de procesos biológicos en los grupos 1 y 3, mientras que todos los procesos biológicos del grupo 2 se encuentran integrados entre los otros dos grupos. De la misma manera, a partir del análisis de enriquecimiento de las rutas metabólicas (Tablas 6, 7 y 8) y por medio de un diagrama de Venn (Figura 8) se observa una mayor diversidad de rutas metabólicas en los grupos 1 y 3, mientras que la única ruta metabólica del grupo 2 esta integrada en los otros dos grupos.

Tabla 3.

Procesos biológicos enriquecidos a partir de las dianas predichas del grupo 1.

Código	Procesos Biológicos	Fold Enrichment	WPx	p-Valor	FDR
GO:0046777	Autofosforilación de proteínas	10.5	1.03E-01	2.59E-13	4.44E-10
GO:0006730	Proceso metabólicos de un carbono	31.6	8.53E-02	1.47E-11	2.53E-08
GO:0043406	Regulación positiva de la actividad MAP quinasa	19.3	7.32E-02	2.22E-11	3.80E-08
GO:0015701	Transporte de bicarbonato	23.7	9.05E-02	2.26E-11	3.87E-08
GO:0050900	Migración de leucocitos	8.6	5.13E-02	6.20E-07	1.06E-03
GO:0001525	Angiogénesis	6.0	7.28E-02	6.64E-07	1.14E-03
GO:0030198	Organización de matriz extracelular	5.8	5.09E-02	7.09E-06	1.22E-02
GO:0006954	Respuesta Inflamatoria	4.0	8.54E-02	1.12E-05	1.93E-02
GO:0010629	Regulación negativa de la expresión génica	6.9	5.38E-02	1.41E-05	2.42E-02
GO:0070374	Regulación positiva de la cascada ERK1 y ERK2	6.0	6.77E-02	1.60E-05	2.74E-02

Tabla 4.

Procesos biológicos enriquecidos a partir de las dianas predichas del grupo 2.

Código	Procesos Biológicos	Fold Enrichment	WPx	p-Valor	FDR
GO:0015701	Transporte de bicarbonato	80.7	2.44E-01	5.95E-17	1.67E-13
GO:0006730	Procesos metabólicos de un carbono	107.6	2.21E-01	1.41E-16	1.67E-13
GO:0022617	Desmontaje de la matriz extracelular	25.5	1.27E-01	3.32E-06	4.90E-03
GO:0044267	Procesos metabólicos de las proteínas celulares	16.4	1.35E-01	2.86E-05	4.22E-02
GO:0050900	Migración de leucocitos	15.9	6.45E-02	3.35E-05	4.95E-02

Tabla 5.

Procesos biológicos enriquecidos a partir de las dianas predichas del grupo 3.

Código	Procesos Biológicos	Fold Enrichment	WPx	p-Valor	FDR
GO:0071456	Respuesta celular a la hipoxia	17.0	9.23E-02	1.31E-11	2.21E-08
GO:0046777	Autofosforilación de proteínas	10.9	1.02E-01	8.74E-11	1.48E-07
GO:0018105	Fosforilación de peptidil-serina	13.0	8.90E-02	3.04E-10	5.14E-07

GO:0043406	Regulación positiva de la actividad MAP quinasa	21.2	6.99E-02	8.39E-10	1.42E-06
GO:0030335	Regulación positiva de la migración celular	9.5	9.43E-02	2.44E-09	4.13E-06
GO:0006730	Proceso metabólico de un carbono	29.2	5.71E-02	1.12E-07	1.90E-04
GO:0022617	Desmontaje de la matriz extracelular	14.8	7.41E-02	1.50E-07	2.54E-04
GO:0001525	Angiogénesis	7.3	9.22E-02	2.09E-07	3.54E-04
GO:0006954	Respuesta inflamatoria	5.3	1.14E-01	3.30E-07	5.58E-04
GO:0050900	Migración de leucocitos	9.2	6.45E-02	5.66E-06	9.58E-03

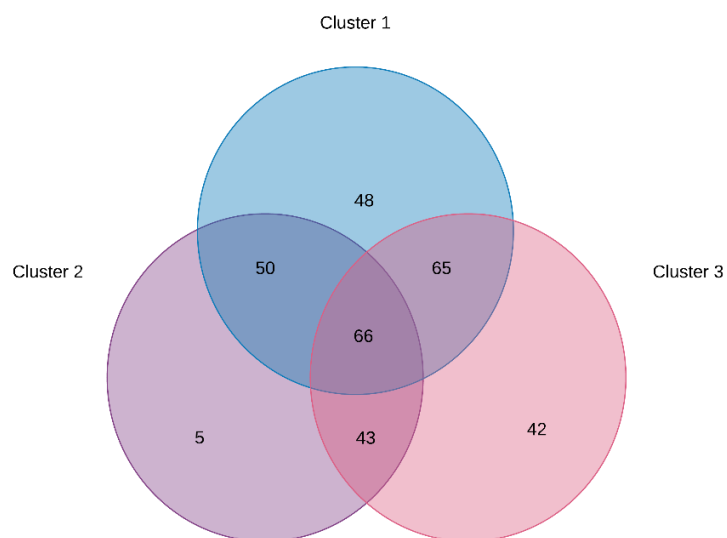


Figura 7. Diagrama de Venn con los procesos biológicos de cada enriquecimiento con valores significativos.

Como se observa en las tablas 3, 4 y 5, los procesos biológicos que encontramos en los 3 grupos que están relacionados con la inflamación son el metabolismo de un carbono y la migración de leucocitos. El Metabolismo de un carbono posee importantes interrelaciones con varias reacciones inflamatorias, debido a asociaciones entre vitaminas B, homocisteína y biomarcadores inflamatorios en enfermedades degenerativas y enfermedades cardiovasculares (Abbenhardt et al., 2014). La migración de leucocitos circulantes de la sangre a sitios de lesión tisular e infecciones es necesaria con el objetivo de eliminar una respuesta inflamatoria primaria y contribuir a la reparación del tejido (Nourshargh & Alon, 2014).

Por otro lado, las tablas 3 y 5 indican directamente el proceso biológico de respuesta inflamatoria tanto en el grupo 1 como en el grupo 3, además de los procesos biológicos de la autofosforilación de proteínas, angiogénesis y regulación positiva de la actividad MAP quinasa, que tienen relación con la inflamación. Según Ardito et al. (Ardito, Giuliani, Perrone, Troiano, & Muzio, 2017) la autofosforilación de proteínas, es uno de los pasos iniciales, y vital, para la coordinación de las funciones celulares y orgánicas, como la regulación del metabolismo, la proliferación, la apoptosis, el tráfico subcelular, la inflamación y otros procesos fisiológicos importantes.

La angiogénesis es el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos capilares a partir de la vasculatura preexistente, necesario para la embriogénesis, la reparación de tejidos después de una lesión y el ciclo reproductivo femenino. El tejido inflamatorio a menudo es hipóxico, y la hipoxia puede inducir angiogénesis a través de la regulación positiva del factor proinflamatorio VEGF. Por otro lado, muchas citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF)- α , pueden tener actividad angiogénica además de la actividad proinflamatoria (Granger & Senchenkova, 2010; Walsh & Pearson, 2001).

Las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) son una familia de proteínas que regulan procesos biológicos fundamentales y respuestas celulares a las señales externas de estrés. El aumento de la actividad de MAPK y su participación en la regulación de la síntesis de mediadores inflamatorios a nivel de transcripcional y traduccional, las convierten en objetivos potenciales para una terapia antiinflamatoria (Kaminska, 2005).

La única ruta metabólica estadísticamente significativa perteneciente al enriquecimiento del grupo 2 (tabla 7), la podemos encontrar en los enriquecimientos de rutas metabólicas de los grupos 1 y 3 (tabla 6 y 7); esta única ruta que se encontró dentro de los 3 diferentes grupos con valores significativos fue el metabolismo del nitrógeno, cuya relación se limita al momento de una inflamación crónica del tracto digestivo, con citosinas que producen grandes cantidades de metabolitos reactivos de oxígeno y nitrógeno, entre las que destaca una isoforma inducible de óxido nítrico sintasa (iNOS) y radicales libres de óxido nítrico (NO) (Grisham, Jourd'heuil, & Wink, 2000).

Tabla 6.

Rutas metabólicas enriquecidas de la base de bases KEGG a partir de las dianas predichas del grupo 1.

Código	Rutas metabólicas	Fold Enrichment	WPx	p-Valor	FDR
hsa00910	Metabolismo del Nitrógeno	30.9	9.05E-02	1.89E-13	2.40E-10
hsa05205	Proteoglicanos en cáncer	5.7	1.13E-01	1.38E-11	1.76E-08

hsa04151	Vía de señalización PI3K-Akt	4.2	1.44E-01	5.93E-11	7.55E-08
hsa05200	Vías en el cáncer	3.4	1.41E-01	2.54E-08	3.24E-05
hsa04510	Adhesión Focal	4.6	9.55E-02	3.93E-08	5.00E-05
hsa05222	Cáncer de pulmón de células pequeñas	7.3	6.37E-02	1.47E-07	1.87E-04
hsa04914	Maduración de ovocitos mediada por progesterona	7.1	6.35E-02	1.91E-07	2.43E-04
hsa04015	Vía de señalización Rap1	4.3	9.15E-02	2.82E-07	3.59E-04
hsa04370	Vía de señalización VEGF	7.8	5.10E-02	3.90E-06	4.96E-03
hsa04668	Vía de señalización TNF	5.4	5.59E-02	1.20E-05	1.52E-02

Tabla 7.

Rutas metabólicas enriquecidas de la base de datos KEGG a partir de las dianas predichas del grupo 2.

Código	Rutas metabólicas	Fold Enrichment	WPx	p-Valor	FDR
---------------	--------------------------	------------------------	------------	----------------	------------

hsa00910	Metabolismo del Nitrógeno	96,8	2,44E-01	9,22E-19	1,07E-15
----------	---------------------------	------	----------	----------	----------

Tabla 8.

Rutas metabólicas enriquecidas de la base de datos KEGG a partir de las dianas predichas del grupo 3.

Código	Rutas metabólicas	Fold Enrichment	WPx	p-Valor	FDR
hsa04914	Maduración de ovocitos mediada por progesterona	11.5	1.18E-01	6.52E-13	8.16E-10
hsa05200	Vías en el cáncer	4.6	2.18E-01	9.76E-13	1.22E-09
hsa05205	Proteoglicanos en cáncer	6.8	1.64E-01	1.27E-12	1.59E-09
hsa04012	Vía de señalización ErbB	10.1	1.01E-01	1,31E-10	1.64E-07
hsa04370	Vía de señalización VEGF	12.5	8.76E-02	2.59E-10	3.24E-07
hsa04151	Vía de señalización PI3K-Akt	4.4	1.86E-01	3.37E-10	4.22E-07
hsa04015	Vía de señalización Rap1	5.3	1.30E-01	1.03E-08	1.29E-05

hsa00910	Metabolismo del Nitrógeno	27.7	6.52E-02	5.47E-09	6.84E-06
hsa04066	Vía de señalización HIF-1	8.0	8.75E-02	5.66E-08	7.08E-05
hsa04750	Inflamación regulada por canales TRP	6.0	6.77E-02	3.62E-05	4.52E-02

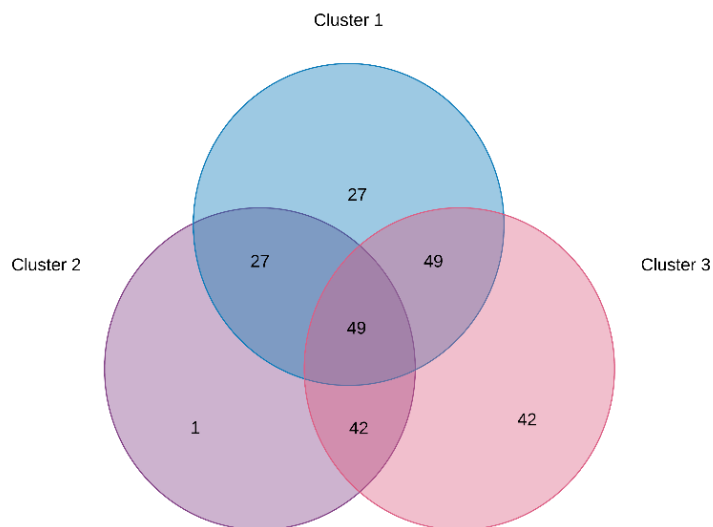


Figura 8. Diagrama de Venn con las rutas metabólicas de cada enriquecimiento con valores significativos.

Las tablas 7 y 9 indican las 3 mismas rutas de señalización con valores significativos de enriquecimiento que se relacionadas directamente con los factores inflamatorios: PI3K-Akt, VEGF y RAP-1. Las moléculas de señalización fosfoinositida 3 quinasa (PI3K) / Akt y el factor nuclear κ B (NF- κ B) juegan un papel importante en la vía de la activación de células microgliales (células involucradas en la respuesta inmune del sistema nervioso central, SNC) y la neuroinflamación. Cuando se activan estas células, liberan una serie de factores neurotóxicos, incluidas citocinas

proinflamatorias, como la interleucina (IL) -1 β , IL-6 y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) (Cianciulli et al., 2016).

Por otro lado, el aumento en la producción del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) conduce a la inflamación crónica en células epiteliales celulares (IEC), proporcionando un vínculo molecular entre la inflamación y el desarrollo de cáncer de colon (Waldner et al., 2010). Mientras que la proteína Rap1 al ser liberada en el citoplasma induce la producción de citocinas proinflamatorias, a través de la señalización del factor nuclear kappa B (NF κ B) en macrófagos, contribuyendo al desarrollo y progresión de aterosclerosis (Cai et al., 2015).

Como se observa en la tabla 9, las 3 rutas con valores significativos de enriquecimiento, relacionadas con mecanismos de acción inflamatorios, que se encuentran solo en el grupo 3 son: ErbB, HIF-1 y la regulación inflamatoria de canales TRP. Y de la misma manera se identificó la ruta de señalización TNF con valores significativos de enriquecimiento solo en el grupo 1, como se observa en la tabla 7.

Las tirosina quinasas ErbB son receptores del factor de crecimiento de la superficie celular en el tracto intestinal, llegando a relacionarlas como agentes terapéuticos para enfermedades intestinales pediátricas, incluidas las enfermedades inflamatorias del intestino (EII) y la inflamación asociada con la nutrición parenteral total (TPN) (Frey & Polk, 2017); además de un estudio reciente donde se menciona

el uso de inhibidores de ErbB como tratamiento para la enfermedad inflamatoria neutrofílica crónica (Rahman et al., 2019).

La familia de factores de transcripción del factor inducible por hipoxia (HIF-1 α y HIF-2 α) regula las funciones inflamatorias esenciales de las células inmunes, además de estar relacionadas en el aumento de la actividad del factor nuclear kappa B (NF- κ B), una citosita proinflamatoria (Palazon et al., 2015).

Inflamación regulada por canales TRP, los canales de cationes de la familia del potencial receptor transitorio (TRP) son un grupo de canales iónicos ubicados en la membrana plasmática, expresados por las células tisulares residentes, los cuales regulan una variedad de procesos celulares proinflamatorios, como la producción de citocinas, la diferenciación celular y la citotoxicidad (Parenti, De Logu, Geppetti, & Benemei, 2016).

La superfamilia de factores de necrosis tumoral (TNF) y sus receptores regulan una serie de funciones celulares críticas que incluyen la proliferación celular, la supervivencia, la diferenciación y la apoptosis. Además de desempeñar un papel fundamental en la orquestación de la cascada de citocinas en muchas enfermedades inflamatorias (Parameswaran & Patial, 2010).

4.4 Integración metabólica

En función de los procesos biológicos y las rutas metabólicas se identifico al grupo 2 como poco representativo, por lo tanto a partir de este punto solo nos enfocamos en los grupos 1 y 3.

Para determinar las redes metabólicas integrales se utilizó la herramienta RSpider del servicio web BioProfiling.de. Las tablas 9 y 10 resumen los resultados de los grupos 1 y 3, respectivamente.

Tabla 9.

Resultados de la integraciones metabólicas pertenecientes a la lista de proteínas predichas del Grupo 1 obtenidos por medio de RSpider.

Redes metabólicas enriquecidas		
Modelo	Número de genes	Valor p
1	22	<0.005
2	79	<0.005
3	90	<0.005

Tabla 10.

Resultados de la integraciones metabólicas pertenecientes a la lista de proteínas predichas del Grupo 3 obtenidos por medio de RSpider.

Redes metabólicas enriquecidas		
Modelo	Número de genes	Valor p
1	8	<0.005
2	41	<0.005
3	63	<0.01

Las redes que pertenecen al Modelo 1 son aquellas que utilizan únicamente las proteínas iniciales (aquellas que pertenecen a la lista de proteínas predichas) que se relacionan entre sí para la integración. Los otros modelos adicionan otras proteínas que interactúan por medio de 1 o 2 genes intermediarios con las redes de los Modelos 1, llegando a integrar rutas metabólicas distantes.



Figura 9. Red metabólica del Grupo 1, Modelo 1, obtenida por medio de RSpider. Las proteínas relacionadas con procesos de Oxidación Biológica están representados con rectángulos de color turquesa, las proteínas relacionadas con procesos de Biosíntesis de Hormonas Esteroides están representados con rectángulos de color rojo, las proteínas relacionadas con procesos del Metabolismo de Acido Araquidónico están representados con rectángulos de color verde, las proteínas experimentales están marcadas con las siglas EXP en la parte superior de los rectángulos, y todos los metabolitos que interactúan con estas proteínas están representados con óvalos amarillos.

En la Figura 9 podemos observar como posibles mecanismos de acción: la oxidación biológica, la biosíntesis de hormonas esteroideas y el metabolismo del ácido araquidónico; en donde sus respectivas dianas están interconectadas entre sí por diferentes metabolitos demostrando que las propiedades antiinflamatorias de la horchata son dadas por más de un solo mecanismo de acción.

El estrés oxidativo y la inflamación son procesos fisiopatológicos estrechamente relacionados, uno de los cuales puede ser fácilmente inducido por otro (Castellani, Balza, & Rubartelli, 2014; Mittal, Siddiqui, Tran, Reddy, & Malik, 2014). Las células inflamatorias liberan un gran número de especies reactivas en el sitio de la inflamación, lo que conduce a un gran estrés oxidativo. Por otro lado, varias especies reactivas de oxígeno/nitrógeno pueden iniciar una cascada de señalización intracelular que mejora la expresión de genes proinflamatorio (Biswas, 2016). Por lo cual se identificaron aquellas proteínas y metabolitos integrados en la oxidación biológica que se relacionen con algún mecanismo de acción o respuesta inflamatoria en la tabla 11.

Tabla 11.

Lista de proteínas y metabolitos integrados con oxidación biológica relacionados con mecanismos de acción o respuesta inflamatoria.

Proteínas		Metabolitos
ALDH2_HUMAN	CP2D6_HUMAN	Prostaglandina G2
CP1B1_HUMAN	CP2C9_HUMAN	Benzopireno
CP1A1_HUMAN	CP3A4_HUMAN	1-Metilxantina
CP1A2_HUMAN	PGH1_HUMAN	Linoleato
CP2CJ_HUMAN	PGH2_HUMAN	Araquidonato

Dentro de las proteínas encontramos al aldehído deshidrogenasa 2 (ALDH2), el cual inhibe la respuesta inflamatoria en enfermedades cardíacas (Pan et al., 2016). Por

otro lado los citocromos (CP1B1, CP1A1, CP1A2, CP2CJ, CP2D6, CP2C9, CP3A4) son una familia de proteínas, las cuales, mientras unas de ellas reducen la eficacia antiinflamatoria en macrófagos y monocitos, otras están reguladas negativamente durante una respuesta inflamatoria en el hígado (Stavropoulou, Pircalabioru, & Bezirtzoglou, 2018). Y las prostaglandinas G/H sintetas (PGH1 y PGH2) son responsables de la producción de prostaglandinas inflamatorias a partir del ácido araquidónico (Ricciotti, A, & Fitzgerald, 2011).

Con respecto a los metabolitos, observamos en la red a la prostaglandina G2 (PGG2), el cual es un intermediario en la ruta metabólica del ácido araquidónico, esta ruta es provocada como respuesta proinflamatoria ante estímulos físicos en la membrana celular (Alhouayek & Muccioli, 2014). Por otro lado el benzopireno estimula la producción de especies reactivas de oxígeno en las células, lo que conduce a la producción de citocinas inflamatorias (Malik, David, & Gooderham, 2018; Shi, Godschalk, & van Schooten, 2017). La 1-metilxantina es el principal metabolito de la cafeína en el ser humano, además de ser eficaz para atenuar la inflamación de las vías respiratorias en cuadros asmáticos (Tilley, 2011). Y el linoleato es un ácido graso esencial que regula citocinas proinflamatoria (Maruyama, Takahashi, Sekimoto, Shimada, & Yokosuka, 2014).

La ruta metabólica del ácido araquidónico integrada por el araquinodato y las proteínas fosfolipasa A2 (PA21B), (LOX5) y (LOX12) es la observación más directa de los compuestos dentro de las rutas inflamatorias, dado que el ácido araquidónico es un ácido graso poliinsaturado unido covalentemente en forma esterificada en las membranas celulares de la mayoría de las células del cuerpo; al momento de una lesión o irritación, el ácido araquidónico es liberado y oxigenado por múltiples sistemas enzimáticos que conducen a la formación de un importante grupo de mediadores inflamatorios, los eicosanoides. (Higgins & Lees, 1984). La fosfolipasa

A2 libera el ácido araquidónico del conjunto de fosfolípidos en las membranas celulares. Mientras que las lipoxigenasas (LOX5 y LOX12) son intermediarios tanto en la formación de mediadores proinflamatorios, como en la formación de mediadores antiinflamatorios a partir del ácido araquidónico (Turman & Marnett, 2010; Wisastra & Dekker, 2014).

La red metabólica del Grupo 3 está compuesta únicamente por dianas relacionadas con los puntos de control del ciclo celular y la degradación de Ciclina A mediada por phospho-APC/C, como se observa en la Figura 10. En esta red de integración solo el proceso de los puntos de control del ciclo celular posee una relación con la inflamación, ya que el proceso de es una subruta relacionada con los puntos de control del ciclo celular (Dachineni et al., 2017). Según (Baldassarre, Nicoloso, Schiappacassi, Chimienti, & Belletti, 2005) agentes antiinflamatorios y antioxidantes pueden actuar sobre la expresión y la función de varias proteínas reguladoras del ciclo celular.

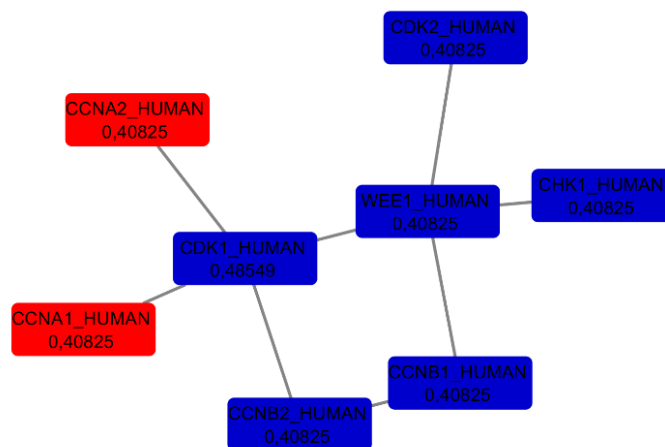


Figura 10. Red metabólica del Grupo 3, Modelo 1 obtenida por medio de RSpider. Las proteínas relacionadas con procesos de los Puntos de Control del Ciclo Celular están representados con rectángulos de color azul, las proteínas relacionadas con proceso de Degradación de Ciclina A mediada por Phospho-APC/C están representadas con rectángulos de color rojo.

El ciclo celular es un proceso altamente complejo que está regulado por muchos factores. Entre ellos se encuentran las quinasas dependientes de ciclina (CDK), las cuales cumplen un papel importante en la regulación del ciclo celular, mismas que se encuentran en nuestra red metabólica. En las células de mamíferos, varias CDK funcionan en diferentes etapas del ciclo celular y las actividades de las CDK están reguladas por varios cofactores y enzimas modificadoras (Yang et al., 1999), entre ellas se encuentra la quinasa WEE1, la cual suprime las actividades de quinasa CDK1 y CDK2 para regular la transición entre la fase G1 y fase S (Moiseeva, Qian, Sugitani, Osmanbeyoglu, & Bakkenist, 2019).

El proceso de degradación de ciclina A mediada por phospho-APC/C se encarga de degradar la proteína ciclina A2 asociada a CDK, durante la pro-metafase a través de una ubiquitinación por el complejo promotor de la anafase / ciclosoma (APC/C), una vez que esta ciclina impulsó la condensación cromosómica y la descomposición de la envoltura nuclear en la transición de fase G2 a M (Dachineni et al., 2017). Las CDK además de desempeñar un papel integral en la regulación del ciclo celular, también son reconocidas como participantes en procesos de apoptosis y regulación transcripcional de células del sistema inmune. Existen fármacos inhibidores de CDK usados como agentes antiinflamatorios, ya que esta inhibición promueve la apoptosis de neutrófilos (globulos blancos) (Leitch, Haslett, & Rossi, 2009; Lim & Kaldis, 2013). Los neutrófilos fagocitan un organismo nocivo, la siguiente etapa es eliminar estos organismos invasores, junto con los neutrófilos, y otros desechos celulares del sitio inflamatorio; los neutrófilos son células de vida corta que abandonan el sistema de circulación en horas, sin embargo pueden verse influidos por factores de supervivencia presentes en los sitios inflamatorios para extender su longevidad a días. Por lo que la inhibición de CDK promueve la apoptosis de neutrófilos in vitro inclusive en presencia de estos factores de supervivencia (Leitch et al., 2009).

En la Figura 9 podemos observar como posibles mecanismos de acción: la oxidación biológica, la biosíntesis de hormonas esteroideas y el metabolismo del ácido araquidónico; en donde sus respectivas dianas están interconectadas entre sí por distintos metabolitos demostrando que las propiedades antiinflamatorias de la horchata son dadas por más de un solo mecanismo de acción.

5. Capítulo V. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

- Por medio de las herramientas de predicción ligando-proteínas se identificó una lista de posibles dianas moleculares de los compuestos quercetina-O-galactósido, ácido 3-cafeoilquínico, quercetina-O-glucósido, syringaresinol, kaempferol-O-rutinósido, ácido 5-cafeoilquínico, quercetina, miricetina glucurónido, ácido dicafeoilquínico, isorhamnetina glucurónido, naringenina hexosa y quercetina-O-rutinosida, previamente identificados en la horchata.
- En base al análisis de enriquecimiento llevado a cabo en cada grupo de compuestos bioactivos de la horchata se identificaron 66 procesos biológicos y 49 rutas metabólicas enriquecidas por las listas de dianas predichas de los compuestos bioactivos de la horchata.
- Por medio del análisis de las rutas metabólicas y empleando la herramienta RSpider encontramos que las posibles rutas principales que justifican el mecanismo antiinflamatorio de los compuestos bioactivos de la horchata son: vía del ácido araquidónico y sus conexiones con las prostaglandinas.

5.2 Recomendaciones

- Hacer un análisis más enfocado hacia las rutas metabólicas.
- Hacer estudios de dinámica molecular para la interacción entre las dianas específicas.

- Validar experimentalmente las proteínas que fueron identificadas.
- Puede ser posible mejorar nuestros resultados adicionando redes de interacción de proteínas.

REFERENCIAS

- Abbenhardt, C., Miller, J. W., Song, X., Brown, E. C., Cheng, T.-Y. D., Wener, M. H., ... Ulrich, C. M. (2014). Biomarkers of One-Carbon Metabolism Are Associated with Biomarkers of Inflammation in Women. *The Journal of Nutrition*, *144*(5), 714–721. <https://doi.org/10.3945/jn.113.183970>
- Alhouayek, M., & Muccioli, G. G. (2014). COX-2-derived endocannabinoid metabolites as novel inflammatory mediators. *Trends in Pharmacological Sciences*, *35*(6), 284–292. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.03.001>
- Amatori, S., Mazzoni, L., Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., Gasparri, M., Forbes-Hernandez, T. Y., ... Battino, M. (2016). Polyphenol-rich strawberry extract (PRSE) shows in vitro and in vivo biological activity against invasive breast cancer cells. *Scientific Reports*, *6*(July), 1–13. <https://doi.org/10.1038/srep30917>
- Anderson, B. J., & Coté, C. J. (2019). Pharmacokinetics and Pharmacology of Drugs Used in Children. In *A Practice of Anesthesia for Infants and Children* (Sixth Edit). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42974-0.00007-0>
- Anderson, B. J., Lerman, J., & Coté, C. J. (2019). Pharmacokinetics and Pharmacology of Drugs Used in Children. In *A Practice of Anesthesia for Infants and Children* (pp. 100-176.e45). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42974-0.00007-0>
- Antonov, A. V. (2011). BioProfiling.de: Analytical web portal for high-throughput cell biology. *Nucleic Acids Research*, *39*(SUPPL. 2), 323–327. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr372>
- Antonov, A. V., Schmidt, E. E., Dietmann, S., Krestyaninova, M., & Hermjakob, H. (2010). R spider: A network-based analysis of gene lists by combining signaling

- and metabolic pathways from Reactome and KEGG databases. *Nucleic Acids Research*, 38(SUPPL. 2), 78–83. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq482>
- Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G., & Muzio, L. Lo. (2017). The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as a diagnostic therapy (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 40(2), 271–280. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3036>
- Bailon-Moscoso, N., Tinitana, F., Martínez-Espinosa, R., Jaramillo-Velez, A., Palacio-Arpi, A., Aguilar-Hernandez, J., & Romero-Benavides, J. C. (2017). Cytotoxic, antioxidative, genotoxic and antigenotoxic effects of Horchata, beverage of South Ecuador. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-2048-x>
- Baldassarre, G., Nicoloso, M., Schiappacassi, M., Chimienti, E., & Belletti, B. (2005). Linking Inflammation to Cell Cycle Progression. *Current Pharmaceutical Design*, 10(14), 1653–1666. <https://doi.org/10.2174/1381612043384691>
- Bento, A. P., Gaulton, A., Hersey, A., Bellis, L. J., Chambers, J., Davies, M., ... Overington, J. P. (2014). The ChEMBL bioactivity database: an update. *Nucleic Acids Research*, 42(Database issue), D1083-90. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1031>
- Biswas, S. K. (2016). Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 17–19. <https://doi.org/10.1155/2016/5698931>
- Byrne, R., & Schneider, G. (2019a). In silico dianna prediction for small molecules. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1888, pp. 273–309). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8891-4_16
- Byrne, R., & Schneider, G. (2019b). In silico dianna prediction for small molecules. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1888, pp. 273–309). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8891-4_16
- Cai, Y., Sukhova, G. K., Wong, H. K., Xu, A., Tergaonkar, V., Vanhoutte, P. M., & Tang, E. H. C. (2015). Rap1 induces cytokine production in pro-inflammatory macrophages through NFκB signaling and is highly expressed in human

- atherosclerotic lesions. *Cell Cycle*, 14(22), 3580–3592.
<https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1100771>
- Castellani, P., Balza, E., & Rubartelli, A. (2014). Inflammation, DAMPs, tumor development, and progression: A vicious circle orchestrated by redox signaling. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(7), 1086–1097.
<https://doi.org/10.1089/ars.2012.5164>
- Chen, X., Robinson, D. G., & Storey, J. D. (2019). The functional false discovery rate with applications to genomics. *Biostatistics*, 1–14.
<https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxz010>
- Cianciulli, A., Calvello, R., Porro, C., Trotta, T., Salvatore, R., & Panaro, M. A. (2016). PI3k/Akt signalling pathway plays a crucial role in the anti-inflammatory effects of curcumin in LPS-activated microglia. *International Immunopharmacology*, 36, 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.05.007>
- Cubero, J. C., & Berzal, F. (2015). Estadística Descriptiva y Preprocesamiento. Introducción a SPSS. *Universidad de Granada Departamento de Ciencias de La Computación*, 1–34. Retrieved from <http://elvex.ugr.es/decsai/intelligent/workbook/D0 SPSS.pdf>
- Dachineni, R., Ai, G., Kumar, D. R., Sadhu, S. S., Tummala, H., & Bhat, G. J. (2017). Cyclin A2 and CDK2 as Novel Dianas of Aspirin and Salicylic acid: a Potential Role in Cancer Prevention. *Physiology & Behavior*, 176(1), 139–148.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein dianas of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W357–W364.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
- Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). Dietary (poly)phenolics in human health: Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(14), 1818–1892.
<https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581>

- Dennis, G., Sherman, B. T., Hosack, D. A., Yang, J., Gao, W., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2003). DAVID: Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery. *Genome Biology*, 4(5). <https://doi.org/10.1186/gb-2003-4-5-p3>
- Divins, M.-J. (2014). Antiinflamatorios. In *Farmacia Profesional* (Vol. 28). Retrieved from <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antiinflamatorios-X0213932414516582>
- Dunkel, M., Günther, S., Ahmed, J., Burghardt, W., & Preissner, R. (2008). SuperPred: drug classification and diana prediction. *Nucleic Acids Research*, 36(55–59), 55–59. <https://doi.org/10.1093/nar/gkn307>
- Fradera, X., & Babaoglu, K. (2017). Overview of Methods and Strategies for Conducting Virtual Small Molecule Screening. *Current Protocols in Chemical Biology*, 9(3), 196–212. <https://doi.org/10.1002/cpch.27>
- Frey, M. R., & Polk, B. D. (2017). ErbB receptors and their growth factor ligands in pediatric intestinal inflammation. *Physiology & Behavior*, 176(1), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Gasparri, M., Forbes-Hernandez, T. Y., Giampieri, F., Afrin, S., Alvarez-Suarez, J. M., Mazzoni, L., ... Battino, M. (2017). Anti-inflammatory effect of strawberry extract against LPS-induced stress in RAW 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 102, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.01.018>
- Gfeller, D., Grosdidier, A., Wirth, M., Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). SwissTargetPrediction: A web server for diana prediction of bioactive small molecules. *Nucleic Acids Research*, 42(W1), 32–38. <https://doi.org/10.1093/nar/gku293>
- Golbamaki, A., Franchi, A. M., & Gini, G. (2017). The Maximum Common Substructure (MCS) Search as a New Tool for SAR and QSAR. In K. Roy (Ed.), *Advances in QSAR Modeling. Challenges and Advances in Computational Chemistry and Physics* (Department, pp. 149–165). https://doi.org/10.1007/978-3-319-56850-8_5
- Granger, D. N., & Senchenkova, E. (2010). Angiogenesis. In *Inflammation and the*

- Microcirculation* (Vol. 2, pp. 23–28).
<https://doi.org/10.4199/c00013ed1v01y201006isp008>
- Grisham, M. B., Jourd'heuil, D., & Wink, D. A. (2000). Chronic inflammation and reactive oxygen and nitrogen metabolism - Implications in DNA damage and mutagenesis. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics, Supplement*, 14(1), 3–9. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2036.2000.014s1003.x>
- Guevara, M., Tejera, E., Iturralde, G. A., Jaramillo-Vivanco, T., Granda-Albuja, M. G., Granja-Albuja, S., ... Álvarez-Suarez, J. M. (2019). Anti-inflammatory effect of the medicinal herbal mixture infusion, Horchata, from southern Ecuador against LPS-induced cytotoxic damage in RAW 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 131(June), 110594. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110594>
- Higgins, A. J., & Lees, P. (1984). The acute inflammatory process, arachidonic acid metabolism and the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Equine Veterinary Journal*, 16(3), 163–175. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1984.tb01893.x>
- Huang, D. W., Sherman, B. T., Lempicki, R. A., & Lempicki, R. A. (2009). Systematic and Integrative Analysis of Large Gene Lists Using DAVID Bioinformatics Resources. *Nature Protocols*, (301), 1–43.
- Irwin, J. J., Gaskins, G., Sterling, T., Mysinger, M. M., & Keiser, M. J. (2018). Predicted Biological Activity of Purchasable Chemical Space. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 58(1), 148–164. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.7b00316>
- Jiao, X., Sherman, B. T., Huang, D. W., Stephens, R., Baseler, M. W., Lane, H. C., & Lempicki, R. A. (2012). DAVID-WS: A stateful web service to facilitate gene/protein list analysis. *Bioinformatics*, 28(13), 1805–1806. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts251>
- Kaminska, B. (2005). MAPK signalling pathways as molecular dianas for anti-inflammatory therapy - From molecular mechanisms to therapeutic benefits. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1754(1–2), 253–262.

- <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2005.08.017>
- Karthikeyan, M., & Vyas, R. (2014). Practical chemoinformatics. In *Practical Chemoinformatics*. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-1780-0>
- Keiser, M. J., Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. (2007). Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *NATURE BIOTECHNOLOGY*, *25*(2), 197–206. <https://doi.org/10.1038/nbt1284>
- Kishore, N., Kumar, P., Shanker, K., & Verma, A. K. (2019). Human disorders associated with inflammation and the evolving role of natural products to overcome. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *179*, 272–309. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.06.034>
- Kumar, S., & Asger, M. (2015). Analysis Grouping Techniques in Biological Data with R. *International Journal of Computer Science and Information Technologies*, *6* (2)(0975–9646), 1859–1864. Retrieved from <http://kdd.ics.uci.edu/>.
- Leitch, A. E., Haslett, C., & Rossi, A. G. (2009). Cyclin-dependent kinase inhibitor drugs as potential novel anti-inflammatory and pro-resolution agents. *British Journal of Pharmacology*, *158*(4), 1004–1016. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00402.x>
- Li, J., & Mansmann, U. R. (2013). Modeling of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Effect within Signaling Pathways and miRNA-Regulation Pathways. *PLoS ONE*, *8*(8), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072477>
- Lim, S., & Kaldis, P. (2013). Cdks, cyclins and CKIs: Roles beyond cell cycle regulation. *Development (Cambridge)*, *140*(15), 3079–3093. <https://doi.org/10.1242/dev.091744>
- Lin, J.-H. (2012). Diana Prediction of Small Molecules with Information of Key Molecular Interactions. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *12*(17), 1903–1910. <https://doi.org/10.2174/156802612804547362>
- Liou, S. (2010). NSAIDs. Retrieved December 23, 2019, from HOPES Huntington's Disease Information website: <https://hopes.stanford.edu/nsaids/>
- Liou, S. (2011). About Inflammation. Retrieved December 23, 2019, from HOPES

Huntington's Disease Information website: <https://hopes.stanford.edu/about-inflammation/>

- Liu, X., Xu, Y., Li, S., Wang, Y., Peng, J., Luo, C., ... Jiang, H. (2014). In Silico diana fishing: addressing a "Big Data" problem by ligand-based similarity rankings with data fusion. *Journal of Cheminformatics*, 6(1), 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-6-33>
- López-Cortés, A., Paz-y-Miño, C., Cabrera-Andrade, A., Barigye, S. J., Munteanu, C. R., González-Díaz, H., ... Tejera, E. (2018). Gene prioritization, communality analysis, networking and metabolic integrated pathway to better understand breast cancer pathogenesis. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35149-1>
- Malik, D. e. shahwa., David, R. M., & Gooderham, N. J. (2018). Mechanistic evidence that benzo[a]pyrene promotes an inflammatory microenvironment that drives the metastatic potential of human mammary cells. *Archives of Toxicology*, 92(10), 3223–3239. <https://doi.org/10.1007/s00204-018-2291-z>
- Maruyama, H., Takahashi, M., Sekimoto, T., Shimada, T., & Yokosuka, O. (2014). Linoleate appears to protect against palmitate-induced inflammation in Huh7 cells. *Lipids in Health and Disease*, 13(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-78>
- Mathai, N., Chen, Y., & Kirchmair, J. (2019). Validation strategies for diana prediction methods. *Briefings in Bioinformatics*, 00(November 2018), 1–12. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz026>
- Medina-Franco, J. L., Fernán-Dezde Gortari, E., & Jesús Naveja, J. (2015). Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educacion Quimica*, 26(3), 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2015.05.002>
- Mittal, M., Siddiqui, M. R., Tran, K., Reddy, S. P., & Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(7), 1126–1167. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.5149>
- Miyamae, Y., Kurisu, M., Han, J., Isoda, H., & Shigemori, H. (2011). Structure-activity relationship of caffeoylquinic acids on the accelerating activity on ATP

- production. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(4), 502–507. <https://doi.org/10.1248/cpb.59.502>
- Moiseeva, T. N., Qian, C., Sugitani, N., Osmanbeyoglu, H. U., & Bakkenist, C. J. (2019). WEE1 kinase inhibitor AZD1775 induces CDK1 kinase-dependent origin firing in unperturbed G1- and S-phase cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116, 23891–23893. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915108116>
- Nickel, J., Gohlke, B. O., Erehman, J., Banerjee, P., Rong, W. W., Goede, A., ... Preissner, R. (2014). SuperPred: Update on drug classification and diana prediction. *Nucleic Acids Research*, 42(W1), 26–31. <https://doi.org/10.1093/nar/gku477>
- Nourshargh, S., & Alon, R. (2014). Leukocyte Migration into Inflamed Tissues. *Immunity*, 41(5), 694–707. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.10.008>
- Palazon, A., Goldrath, A., Nizet, V., Johnson, R. S., Jolla, L., Diego, S., ... Jolla, L. (2015). HIF Transcription Factors, Inflammation, and Immunity Asis. *Immunity*, 41(4), 518–528. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.09.008.HIF>
- Pan, C., Xing, J. H., Zhang, C., Zhang, Y. M., Zhang, L., Wei, S. J., ... Chen, Y. G. (2016). Aldehyde dehydrogenase 2 inhibits inflammatory response and regulates atherosclerotic plaque. *Oncodiana*, 7(24), 35562–35576. <https://doi.org/10.18632/oncodiana.9384>
- Parameswaran, N., & Patial, S. (2010). Tumor Necrosis Factor- α Signaling in Macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 39(2), 415–419. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9531-3_7
- Parenti, A., De Logu, F., Geppetti, P., & Benemei, S. (2016). What is the evidence for the role of TRP channels in inflammatory and immune cells? *British Journal of Pharmacology*, 173(6), 953–969. <https://doi.org/10.1111/bph.13392>
- Peón, A.; Naulaerts, S.; Ballester, P. J. (2017). *Predicting the Reliability of Drug-diana Interaction Predictions with Maximum Coverage of Diana Space*.
- Peón, A., Li, H., Ghislat, G., Leung, K. S., Wong, M. H., Lu, G., & Ballester, P. J. (2019). MolTarPred: A web tool for comprehensive diana prediction with

- reliability estimation. *Chemical Biology and Drug Design*, (February), 1390–1401. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13516>
- Peppas, M., Kraniou, M., & Raptis, S. A. (2011). Hypertension and other morbidities with Cushing's syndrome associated with corticosteroids: A review. *Integrated Blood Pressure Control*, 4, 7–16. <https://doi.org/10.2147/IBPC.S9486>
- Rahman, A., Henry, K. M., Herman, K. D., R Thompson, A. A., Isles, H. M., Tulotta, C., ... Prince, L. R. (2019). Inhibition of ErbB kinase signalling promotes resolution of neutrophilic inflammation. *ELife*, 8, 1–23. <https://doi.org/10.7554/eLife.50990>
- Ramsay, R. R., Nikolic, M. R. P., Nikolic, K., Uliassi, E., & Bolognesi, M. L. (2018). A perspective on multi-targeted drug discovery and design for complex diseases. *Clinical and Translational Medicine*. <https://doi.org/10.1186/s40169-017-0181-2>
- Reimand, J., Isserlin, R., Voisin, V., Kucera, M., Tannus-Lopes, C., Rostamianfar, A., ... Bader, G. D. (2019). Pathway enrichment analysis and visualization of omics data using g:Profiler, GSEA, Cytoscape and EnrichmentMap. *Nature Protocols*, 14(2), 482–517. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0103-9>
- Ricciotti, E., A, G., & Fitzgerald. (2011). Prostaglandins and Inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*, 31(5), 986–1000. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.110.207449>. Prostaglandins
- Rios, M., Tinitana, F., Jarrín-v, P., Donoso, N., & Romero-Benavides, J. C. (2017). “Horchata” drink in Southern Ecuador: Medicinal plants and people's wellbeing. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0145-z>
- Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. D., & Medina-Franco, J. L. (2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química*, 28(1), 51–58. <https://doi.org/10.1016/J.EQ.2016.06.002>
- Santhakumar, A. B., Battino, M., & Alvarez-Suarez, J. M. (2018). Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis. *Food and Chemical Toxicology*, 113(January), 49–65. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.022>

- Serra, H. A., Roganovich, J. M., & Rizzo, L. F. L. (2012). GLUCOCORTICOIDES : PARADIGMA DE MEDICINA TRASLACIONAL DE LO MOLECULAR AL USO CLINICO. *Medicina*, (72), 158–170. Retrieved from <http://www.scielo.org.ar/pdf/medba/v72n2/v72n2a15.pdf>
- Shi, Q., Godschalk, R. W. L., & van Schooten, F. J. (2017). Inflammation and the chemical carcinogen benzo[a]pyrene: Partners in crime. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 774(August), 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.08.003>
- Stavropoulou, E., Pircalabioru, G. G., & Bezirtzoglou, E. (2018). The role of cytochromes P450 in infection. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 9, pp. 1–7). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00089>
- Tarloff, J. B. (2010). Analgesics and Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs. In *Biomedical Sciences Comprehensive Toxicology, Second Edition* (Second, Vol. 7, pp. 387–403). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-046884-6.00821-6>
- Tejera, E., Cruz-Monteagudo, M., Burgos, G., Sánchez, M. E., Sánchez-Rodríguez, A., Pérez-Castillo, Y., ... Rebelo, I. (2017). Consensus strategy in genes prioritization and combined bioinformatics analysis for preeclampsia pathogenesis. *BMC Medical Genomics*, 10(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12920-017-0286-x>
- Tilley, S. L. (2011). Methylxanthines in asthma. In *Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol. 200, pp. 439–456). https://doi.org/10.1007/978-3-642-13443-2_17
- Tinitana, F., Rios, M., Romero-benavides, J. C., De la Cruz Rot, M., & Pardo-de-Santayana, M. (2016). Medicinal plants sold at traditional markets in southern Ecuador. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 12:29, 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13002-016-0100-4>
- Torres-Carro, R., Isla, M. I., Thomas-Valdés, S., Jiménez-Aspee, F., Hirschmann-Schmeda, G., & Alberto, M. R. (2017). Inhibition of pro-inflammatory enzymes by medicinal plants from the Argentinean highlands (Puna). *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 57–68. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2017.04.013>

- Turman, M. V., & Marnett, L. J. (2010). Prostaglandin Endoperoxide Synthases: Structure, Function, and Synthesis of Novel Lipid Signaling Molecules. In *Comprehensive Natural Products II* (pp. 35–63). <https://doi.org/10.1016/b978-008045382-8.00028-9>
- Villamagua Vergara, R. (2014, August). La horchata: la bebida de color “escacel.” *PCI Patrimonio Cultural Inmaterial Revista Del Instituto Nacional de Patrimonio Cultural*, 28–31. Retrieved from <https://issuu.com/inpc/docs/pci13>
- Waldner, M. J., Wirtz, S., Jefremow, A., Warntjen, M., Neufert, C., Atreya, R., ... Neurath, M. F. (2010). VEGF receptor signaling links inflammation and tumorigenesis in colitis-associated cancer. *Journal of Experimental Medicine*, 207(13), 2855–2868. <https://doi.org/10.1084/jem.20100438>
- Walsh, D. A., & Pearson, C. I. (2001). Angiogenesis in pathogenesis of inflammatory joint and lung diseases. *Arthritis Research*, 3(3), 147–153. <https://doi.org/10.1186/ar292>
- Wang, C., Liu, J., Luo, F., Deng, Z., & Hu, Q. N. (2015). Predicting diana-ligand interactions using protein ligand-binding site and ligand substructures. *BMC Systems Biology*, 9(Suppl 1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1752-0509-9-S1-S2>
- Wang, J., Liu, Y. T., Xiao, L., Zhu, L., Wang, Q., & Yan, T. (2014). *Anti-Inflammatory Effects of Apigenin in Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory in Acute Lung Injury by Suppressing COX-2 and NF-kB Pathway*. *Inflammation*, 37(6), 2085–2090. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-9942-x>
- Wang, K., Sun, J., Zhou, S., Wan, C., Qin, S., Li, C., ... Yang, L. (2013). *Prediction of Drug-Diana Interactions for Drug Repositioning Only Based on Genomic Expression Similarity*. *PLoS Computational Biology*, 9(11), e1003315. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003315>
- Wang, Z., Liang, L., Yin, Z., & Lin, J. (2016). *Improving chemical similarity ensemble approach in diana prediction*. *Journal of Cheminformatics*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s13321-016-0130-x>
- Wisastra, R., & Dekker, F. J. (2014). *Inflammation, cancer and oxidative lipooxygenase activity are intimately linked*. *Cancers*, 6(3), 1500–1521.

<https://doi.org/10.3390/cancers6031500>

- Yang, R., Müller, C., Huynh, V., Fung, Y. K., Yee, A. S., & Koeffler, H. P. (1999). *Functions of Cyclin A1 in the Cell Cycle and Its Interactions with Transcription Factor E2F-1 and the Rb Family of Proteins. Molecular and Cellular Biology*, 19(3), 2400–2407. <https://doi.org/10.1128/mcb.19.3.2400>
- Yeung, Y. T., Aziz, F., Guerrero-Castilla, A., & Arguelles, S. (2018). *Signaling Pathways in Inflammation and Anti-inflammatory Therapies. Current Pharmaceutical Design*, 24(14), 1449–1484. <https://doi.org/10.2174/1381612824666180327165604>
- Zhang, W., Pei, J., & Lai, L. (2017). *Computational Multidiana Drug Design. Journal of Chemical Information and Modeling*, 57(3), 403–412. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00491>
- Zloh, M., Samaras, E. G., Calvo-Castro, J., Guirguis, A., Stair, J. L., & Kirton, S. B. (2017). *Drowning in diversity? A systematic way of grupoing and selecting a representative set of new psychoactive substances. RSC Advances*, 7(84), 53181–53191. <https://doi.org/10.1039/c7ra09066h>

ANEXOS

Tabla 12.

Lista de dianas predichas.

UNIPROT ID	UNIPROT ID	UNIPROT ID
3MG_HUMAN	ERN1_HUMAN	OPRD_PIG
5NTD_HUMAN	ERR1_HUMAN	OPRM_HUMAN
5NTD_RAT	ERR2_HUMAN	P2RX3_HUMAN
A0MJA4_CANLF	ESR1_HUMAN	P2Y14_HUMAN
A0MJA5_MACMU	ESR2_HUMAN	P53_HUMAN
A4_HUMAN	F263_HUMAN	P85A_HUMAN
AA1R_HUMAN	FABI_ECOLI	P89582_9HIV2
AA1R_RAT	FAK1_HUMAN	P90584_PLAFA
AA2AR_HUMAN	FAS_CHICK	PA21B_HUMAN
AA2AR_RAT	FCER2_HUMAN	PAFA_HUMAN
AA3R_HUMAN	FGF1_HUMAN	PARG_RAT
ABC3G_HUMAN	FGF2_HUMAN	PARP1_HUMAN
ABCG2_HUMAN	FIMH_ECOLI	PDE1B_HUMAN
ABL1_HUMAN	FLT3_HUMAN	PDE4D_HUMAN
ACES_HUMAN	FPS_FUJSV	PDE5A_HUMAN
ADA17_HUMAN	FYN_HUMAN	PDE9A_HUMAN
ADA2A_HUMAN	G6PT1_HUMAN	PDIA1_HUMAN
ADA2C_HUMAN	GASR_HUMAN	PDK1_HUMAN
ADA33_HUMAN	GDE_RABIT	PERM_HUMAN
ADO_HUMAN	GGTA1_PIG	PGDH_HUMAN
ADRB3_HUMAN	GPR35_HUMAN	PGH1_HUMAN
AHR_HUMAN	GSK3B_HUMAN	PGH2_HUMAN
AK1A1_HUMAN	HCAR2_HUMAN	PI4KB_HUMAN
AK1A1_RAT	HCD2_HUMAN	PIM1_HUMAN
AK1BA_HUMAN	HCK_HUMAN	PK3CA_HUMAN
AK1C1_HUMAN	HES1_MOUSE	PK3CB_HUMAN

AK1C2_HUMAN	HIF1A_HUMAN	PK3CD_HUMAN
AK1C3_HUMAN	HIF1A_MOUSE	PK3CG_HUMAN
AK1C4_HUMAN	HS90A_HUMAN	PKN1_HUMAN
AK1CL_MOUSE	HS90B_HUMAN	PLGF_HUMAN
AKT1_HUMAN	IBP3_HUMAN	PLK1_HUMAN
AL1A7_RAT	IGF1R_HUMAN	POL_RSVP
ALDH2_HUMAN	IKKB_HUMAN	PPAC_BOVIN
ALDH2_RAT	IL2_HUMAN	PPAC_HUMAN
ALDR_BOVIN	IL5_MOUSE	PPBI_HUMAN
ALDR_HUMAN	IMDH2_HUMAN	PPBI_MOUSE
ALDR_PIG	IMPA1_RAT	PPO2_AGABI
ALDR_RAT	INSR_HUMAN	PRKDC_HUMAN
ALK_HUMAN	ITA2B_HUMAN	PTAFR_HUMAN
AMPC_ECOLI	ITA5_HUMAN	PTN1_HUMAN
AMY1_HUMAN	ITAV_HUMAN	PTN2_HUMAN
ANO1_HUMAN	ITB1_HUMAN	PTN22_HUMAN
AOFA_BOVIN	ITB3_HUMAN	PTPRS_HUMAN
AOFA_HUMAN	JAK3_HUMAN	PYGL_HUMAN
APEX1_HUMAN	JUN_HUMAN	PYGM_RABIT
ARGI1_HUMAN	KCC2B_HUMAN	Q1R2J4_ECOUT
AROB_ECOLI	KDM4A_HUMAN	Q3I4V7_CRYNV
AURKB_HUMAN	KDM4C_HUMAN	Q43570_TOBAC
B4GT1_BOVIN	KDM4E_HUMAN	Q49PX0_9POXV
B4GT1_HUMAN	KPCA_HUMAN	Q66HS9_RAT
BACE1_HUMAN	KPCB_HUMAN	Q7ZJM1_9HIV1
BGLR_RAT	KPCD_HUMAN	Q8HY88_BOVIN
BKRB1_HUMAN	KS6A3_HUMAN	Q8I2J3_PLAF7
BMP1_HUMAN	KSYK_HUMAN	Q965D5_PLAFA
CAH1_HUMAN	LCK_HUMAN	Q965D6_PLAFA

CAH12_HUMAN	LEF_BACAN	Q965D7_PLAFA
CAH13_HUMAN	LGUL_HUMAN	Q96QA9_HUMAN
CAH13_MOUSE	LIPP_PIG	Q9BJJ9_PLAFA
CAH14_HUMAN	LOX1_SOYBN	Q9S497_ECOLX
CAH2_HUMAN	LOX12_HUMAN	R1AB_CVHSA
CAH3_HUMAN	LOX15_HUMAN	RAB9A_HUMAN
CAH4_HUMAN	LOX15_RABIT	RASH_HUMAN
CAH5A_HUMAN	LOX5_HUMAN	RASN_HUMAN
CAH5B_HUMAN	LOX5_RAT	RECQ1_HUMAN
CAH6_HUMAN	LRRK2_HUMAN	REST_BORBU
CAH7_HUMAN	LX15B_RAT	S22AC_HUMAN
CAH9_HUMAN	LYAG_HUMAN	S28A3_HUMAN
CASP1_HUMAN	LYAM1_HUMAN	S29A1_HUMAN
CBR1_HUMAN	LYAM2_HUMAN	S5A1_HUMAN
CCKAR_HUMAN	LYAM3_HUMAN	SC5A1_HUMAN
CCNA1_HUMAN	LYSC1_RAT	SC5A1_RAT
CCNA2_HUMAN	M3K12_HUMAN	SC5A2_HUMAN
CCNB1_HUMAN	MALX3_YEAST	SC5A2_RAT
CCNB2_HUMAN	MCL1_HUMAN	SC5A4_HUMAN
CCNB3_HUMAN	MDH_THETH	SC5AB_HUMAN
CCR4_HUMAN	MDR1_HUMAN	SC6A2_HUMAN
CD22_HUMAN	MDR1A_MOUSE	SC6A4_HUMAN
CD22_MOUSE	MET_HUMAN	SENP1_HUMAN
CD38_HUMAN	MK01_HUMAN	SHBG_HUMAN
CD5R1_HUMAN	MK09_HUMAN	SIAT1_HUMAN
CDK1_HUMAN	MK10_HUMAN	SIAT1_RAT
CDK2_HUMAN	MK14_HUMAN	SIAT6_RAT
CDK5_HUMAN	MMP1_HUMAN	SO1A1_RAT
CDK6_HUMAN	MMP12_HUMAN	SO1B1_HUMAN

CHK1_HUMAN	MMP13_HUMAN	SOAT1_HUMAN
CNR2_HUMAN	MMP2_HUMAN	SOAT2_HUMAN
CP19A_HUMAN	MMP2_RAT	SRC_HUMAN
CP1A1_HUMAN	MMP3_HUMAN	SYK_HUMAN
CP1A2_HUMAN	MMP7_HUMAN	SYUA_HUMAN
CP1B1_HUMAN	MMP8_HUMAN	T2R31_HUMAN
CP2C9_HUMAN	MMP9_HUMAN	TAU_HUMAN
CP2CJ_HUMAN	MPI_HUMAN	TERT_HUMAN
CP2D6_HUMAN	MRP1_HUMAN	TF_HUMAN
CP3A4_HUMAN	MRP2_RAT	THRB_HUMAN
CREB1_HUMAN	MRP3_RAT	TNFA_HUMAN
CSF1R_HUMAN	MTOR_HUMAN	TNKS1_HUMAN
CSK21_HUMAN	MTSI_SPISQ	TNKS2_HUMAN
CXCR1_HUMAN	MYLK_HUMAN	TOP1_HUMAN
CXCR2_HUMAN	NANH_CLOPF	TOP1_MOUSE
DAPK1_HUMAN	NEK2_HUMAN	TOP1_RAT
DDL_HELPH	NEK6_HUMAN	TOP2A_HUMAN
DHB1_HUMAN	NEUR4_HUMAN	TOP2B_HUMAN
DHB2_HUMAN	NF2L2_HUMAN	TRY1_BOVIN
DHB3_RAT	NFKB1_HUMAN	TTHY_HUMAN
DHPR_HUMAN	NMUR2_HUMAN	TYDP1_HUMAN
DHPR_RAT	NOX4_HUMAN	TYRO_HUMAN
DPO1_THEAQ	NPC1_HUMAN	TYRO_MOUSE
DPOLB_HUMAN	NPCL1_RAT	TYSY_HUMAN
DPOLB_RAT	NQO1_HUMAN	UBP2_HUMAN
DRD4_HUMAN	NQO2_HUMAN	UFO_HUMAN
DRTS_PLABA	NR0B1_HUMAN	ULA1_HUMAN
DYR1A_HUMAN	NR0B2_HUMAN	V2R_HUMAN
DYR1A_RAT	NRAM_I34A1	VE2_HP1

E2AK3_HUMAN	NUAK1_HUMAN	VE6_HP16
EDNRA_HUMAN	O49150_SOLTU	VEGFA_HUMAN
EGFR_HUMAN	O93874_COCLU	VGFR2_HUMAN
ELNE_HUMAN	O96394_LEIAM	WEE1_HUMAN
EPHB4_HUMAN	O97447_GIAIN	XDH_BOVIN
ERG1_HUMAN	OPRD_HUMAN	XDH_HUMAN

Tabla 13.

Lista completa de los procesos biológicos enriquecidos a partir de las dianas predichas con valores estadísticamente significativos.

Código	Procesos Biológicos	Código	Procesos Biológicos
GO:0055114	proceso de oxidación-reducción	GO:0045944	regulación positiva de la transcripción del promotor de la ARN polimerasa II
GO:0046777	autofosforilación de proteínas	GO:0071395	respuesta celular al estímulo de ácido jasmónico
GO:0043066	regulación negativa del proceso apoptótico	GO:0030198	organización de matriz extracelular
GO:0006730	proceso metabólico de un carbono	GO:0007169	vía de señalización de la proteína tirosina quinasa del receptor transmembrana
GO:0043406	regulación positiva de la actividad MAP quinasa	GO:0001938	regulación positiva de la proliferación de células endoteliales
GO:0015701	transporte de bicarbonato	GO:0019372	vía lipoxigenasa

GO:0006468	fosforilación de proteínas	GO:0006954	respuesta inflamatoria
GO:0008202	proceso metabólico de esteroides	GO:0010629	regulación negativa de la expresión génica
GO:0018105	fosforilación de peptidil-serina	GO:0070374	regulación positiva de la cascada ERK1 y ERK2
GO:0042493	respuesta a la droga	GO:0045907	regulación positiva de la vasoconstricción
GO:0008284	regulación positiva de la proliferación celular	GO:0046483	proceso metabólico heterociclo
GO:0044598	proceso metabólico de la doxorubicina	GO:0042737	proceso catabólico de drogas
GO:0044597	proceso metabólico de daunorubicina	GO:2000811	regulación negativa de anoikis
GO:0051897	regulación positiva de la señalización de la proteína quinasa B	GO:0045766	regulación positiva de la angiogénesis
GO:0048010	vía de señalización del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular	GO:0030307	regulación positiva del crecimiento celular
GO:0030335	regulación positiva de la migración celular	GO:0022617	desmontaje de la matriz extracelular
GO:0006805	proceso metabólico xenobiótico	GO:0044267	proceso metabólico de la proteína celular
GO:0016098	proceso metabólico monoterpenoide	GO:0048015	señalización mediada por fosfatidilinositol

GO:0017144	proceso metabólico de la droga	GO:0007204	regulación positiva de la concentración de iones de calcio citosólico
GO:0008283	proliferación celular	GO:0010628	regulación positiva de la expresión génica
GO:0030168	activación plaquetaria	GO:0045429	Regulación positiva del proceso biosintético de óxido nítrico
GO:2000379	Regulación positiva del proceso metabólico de especies reactivas de oxígeno	GO:0048661	regulación positiva de la proliferación de células musculares lisas
GO:0050900	migración de leucocitos	GO:0030574	proceso catabólico de colágeno
GO:0018108	fosforilación de peptidil-tirosina	GO:0046854	fosforilación de fosfatidilinositol
GO:0001525	Angiogénesis	GO:0001666	respuesta a la hipoxia
GO:0071456	respuesta celular a la hipoxia	GO:0014066	regulación de la señalización de fosfatidilinositol 3-quinasa
GO:0001934	regulación positiva de la fosforilación de proteínas	GO:0007173	vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico

GO:0007568	Envejecimiento	GO:0038096	Vía de señalización del receptor Fc-gamma implicada en la fagocitosis
GO:0097267	vía omega-hidroxilasa P450	GO:0006950	respuesta al estrés
GO:0000187	activación de la actividad MAPK	GO:0001933	regulación negativa de la fosforilación de proteínas
GO:0018107	fosforilación de peptidil-treonina	GO:0038128	Vía de señalización ERBB2
GO:0038083	peptidil-tirosina autofosforilación	GO:0007200	vía de señalización del receptor acoplado a la proteína G activadora de fosfolipasa C
GO:0007165	transducción de señales	GO:0007265	Transducción de señal de proteína Ras

Tabla 14.

Lista completa de las rutas metabólicas enriquecidas a partir de las dianas predichas con valores estadísticamente significativos.

Código	Rutas metabólicas	Código	Rutas metabólicas
hsa00910	Metabolismo del nitrógeno	hsa04722	Vía de señalización de neurotrofina
hsa05205	Proteoglicanos en cáncer	hsa04660	Vía de señalización del receptor de células T
hsa04151	Vía de señalización de PI3K-Akt	hsa04012	Vía de señalización ErbB

hsa05200	Vías en el cáncer	hsa05230	Metabolismo central del carbono en el cáncer
hsa04510	Adhesión focal	hsa05214	Glioma
hsa05222	Cáncer de pulmón de células pequeñas	hsa04919	Vía de señalización de la hormona tiroidea
hsa04914	Maduración de ovocitos mediada por progesterona	hsa04071	Vía de señalización de esfingolípidos
hsa00140	Biosíntesis de hormonas esteroideas	hsa04664	Fc epsilon RI vía de señalización
hsa04015	Vía de señalización Rap1	hsa05223	Cáncer de pulmón de células no pequeñas
hsa04913	Esteroidogénesis ovárica	hsa05231	El metabolismo de la colina en el cáncer.
hsa04068	Vía de señalización de FoxO	hsa05213	Cáncer endometrial
hsa05218	Melanoma	hsa05203	Carcinogénesis viral
hsa04917	Vía de señalización de prolactina	hsa04150	vía de señalización de mTOR
hsa05215	Cancer de próstata	hsa04110	Ciclo celular
hsa00590	Metabolismo del ácido araquidónico	hsa05211	Carcinoma de células renales
hsa04370	VEGF vía de señalización	hsa05160	Hepatitis C
hsa05212	Cáncer de páncreas	hsa04650	Citotoxicidad mediada por células asesinas naturales
hsa05161	Hepatitis B	hsa05169	Infección por el virus de Epstein-Barr

hsa04668	TNF vía de señalización	hsa04062	Vía de señalización de quimioquinas
hsa04931	Resistencia a la insulina	hsa04930	Diabetes mellitus tipo II
hsa04014	Vía de señalización de ras	hsa04662	Vía de señalización del receptor de células B
hsa05219	Cáncer de vejiga	hsa05220	Leucemia mieloide crónica
hsa00980	Metabolismo de xenobióticos por el citocromo P450	hsa04750	Regulación mediadora inflamatoria de canales TRP
hsa04066	Vía de señalización HIF-1	hsa05221	Leucemia mieloide aguda
hsa04915	Vía de señalización de estrógenos		

