



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR**

**“Análisis del perfil metabolómico e identificación *in silico* de  
compuestos con potencial antihipertensivo del extracto de  
*Phaeodactylum tricornutum*”**

**TESIS**

Que presenta

**LIC. CINTHIA AYÓN FERNÁNDEZ**

Como requisito para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA MOLECULAR**

Directores:

**DRA. LORANDA CALDERÓN ZAMORA**

**DRA. CLAUDIA DESIREÉ NORZAGARAY VALENZUELA**

Asesores:

**DR. MARCO ANTONIO VALDEZ FLORES**

**DR. ALBERTO KOUSUKE DE LA HERRÁN ARITA**

**DR. JOSÉ JUAN ORDAZ ORTIZ**

Culiacán de Rosales, Sinaloa, México a Noviembre del 2024



Dirección General de Bibliotecas  
Ciudad Universitaria  
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios  
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.  
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57  
dgbuas@uas.edu.mx

## UAS-Dirección General de Bibliotecas

### Repositorio Institucional Buelna

#### Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial  
Compartir Igual, 4.0 Internacional



La presente investigación se llevó a cabo en laboratorio de Inmunogenética, perteneciente a la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Sinaloa con domicilio Calzada de las Américas y Blvd. Universitarios, Cd Universitaria, Universitaria, 80040, Culiacán Rosales, Sin; el Laboratorio de Fisiología Molecular perteneciente al Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública (CIASaP) en la Facultad de medicina de la Universidad Autónoma de Sinaloa con domicilio Calle Sauces, Los Fresnos s/n, Fraccionamientos, 80019 Culiacán Rosales, Sinaloa; y el Laboratorio de Espectrometría de Masas y Metabolómica, ubicado en la Unidad de Genómica Avanzada en México, perteneciente al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Unidad Irapuato (Cinvestav) con domicilio Libramiento Norte León Km 9.6, 36821 Irapuato, Gto.

Este estudio fue dirigido por la Dra. Loranda Calderón Zamora y la Dra. Claudia Desireé Norzagaray Valenzuela. Además, contó con la asesoría del Dr. Marco Antonio Valdez Flores, el Dr. Alberto Kousuke De la Herrán Arita y el Dr. José Juan Ordaz Ortiz.

El estudiante recibió una beca de manutención por parte del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) con número de expediente: CVU 1238733. El presente proyecto recibió financiamiento de Ciencia Básica y/o Ciencia de Frontera, Modalidad: Paradigmas y Controversias de la Ciencia 2022 con el número de proyecto 319930.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Medicina, por la formación y el apoyo brindado durante mi estancia en la Maestría en Ciencias en Biomedicina Molecular.

Al laboratorio de Inmunogenética de la Facultad de Biología, UAS. Por permitirme realizar una parte significativa de la metodología de esta investigación.

Al laboratorio de Fisiología de la Facultad de Medicina, UAS. Por apoyarme en la realización de la primera parte de los experimentos de este proyecto.

Al laboratorio Ambiental de la Facultad de Ingeniería, UAS. Por brindarme apoyo en la realización de una parte de la metodología de la presente investigación.

Al laboratorio de Espectrometría de Masas y Metabolómica, CINVESTAV. Por permitirme realizar una parte esencial del estudio.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por el apoyo económico proporcionado, el cual fue indispensable para completar satisfactoriamente la maestría.

A mis directoras de tesis, la Dra. Loranda Calderón Zamora y la Dra. Claudia Desireé Norzagaray Valenzuela, por aceptar guiarme durante la realización del proyecto y por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias de vida.

A mis asesores, el Dr. Marco Antonio Valdez Flores, el Dr. Alberto Kousuke De la Herrán Arita, por el apoyo brindado durante el desarrollo del proyecto y la maestría, y al Dr. José Juan

Ordaz Ortiz, por el apoyo recibido en CINVESTAV Irapuato, fundamental para esta investigación.

Un agradecimiento especial a la Dra. Carla Ernestina Angulo Rojo, quien lamentablemente ya no está con nosotros. Su apoyo incondicional y la oportunidad que me brindó para formar parte de la maestría fueron fundamentales en mi desarrollo. Su presencia fue una fuente constante de inspiración, no solo al inicio sino durante todo el posgrado. Su legado y enseñanzas siempre vivirán en mi corazón.

A los profesores que impartieron clases durante el primer año de la maestría, y en particular a la Dra. Alma Marlene Guadrón Llanos, por su dedicación y por estar siempre pendiente de cada uno de nosotros. A Laura Urzuela, por hacer que todos los trámites fueran más llevaderos y por los momentos de charla y risas compartidas, que hicieron más amena esta etapa.

A mis compañeros del laboratorio de inmunogenética, Andrea, Jorge, Yocssiry y Abraham, por su invaluable apoyo tanto dentro del laboratorio como en los aspectos relacionados con este proyecto.

A mis amigos y compañeros, Andrea Fernanda Acosta, Javier Borbolla, Itzel Patrón, Adrián Ávila y Marco Aguilar. Su amistad ha sido un regalo invaluable, y los momentos que compartimos son recuerdos que atesoraré para siempre. Aprendí tanto al convivir con ustedes, y esa conexión es uno de los mayores tesoros que me llevo de la maestría.

A mis queridas amigas Legna Patricia, Atzin, Berenice, Sofía, Laura y Mericia Guadalupe. Han estado a mi lado durante los últimos nueve años, acompañándome en cada paso de mi crecimiento, desde la licenciatura hasta el presente. Su apoyo incondicional y su presencia en los momentos difíciles han sido un pilar en mi vida.

Con cariño, a mis amigos Adelita Acosta y Ángel Hernández, quienes han estado a mi lado brindándome comprensión y apoyo cuando más lo he necesitado. Su amistad ha sido un refugio en el que siempre he podido encontrar consuelo y les agradezco profundamente por estar siempre ahí.

Finalmente, quiero agradecer de manera especial y con todo mi cariño al doctorante Miguel Guzmán, quien fue mi sensei durante la realización del proyecto y que ahora es un gran amigo. Aprecio todas las enseñanzas académicas y personales que me ha brindado, por estar siempre dispuesto a escucharme y por ofrecerme su valioso consejo.

## **DEDICATORIA**

A mis compañeros de vida, mis hermanas Lucely y Jacqueline, y a mi sobrino Johan Felipe. Gracias por estar siempre a mi lado, tanto en las buenas como en las malas, por apoyarme incondicionalmente en cada decisión que tomo y por ser el pilar de mi vida.

A la Dra. Carla Ernestina Angulo Rojo, quien siempre brilló con su luz y sabiduría. Su legado y enseñanzas permanecerán grabados en nuestros corazones, guiándonos en cada paso que damos. Su ausencia se siente profundamente, pero su memoria vivirá en nosotros. Que descanse en paz.

*Ad successum, labor ante ingenium praevallet*

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS .....	VIII
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	3
<b>I INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>II ANTECEDENTES .....</b>	<b>7</b>
2.1 HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	7
2.1.1 Hipertensión primaria.....	8
2.1.2 Hipertensión secundaria .....	9
2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA HTA .....	11
2.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA HTA .....	11
2.3.1 Bomba sodio - potasio.....	12
2.3.2 Péptidos natriuréticos .....	14
2.3.3 Endotelio.....	15
2.1.1. Sistema nervioso simpático .....	17
2.3.5 Sistema inmunitario.....	18
2.3.6 Sistema renina angiotensina aldosterona .....	20
2.3.6.1 Renina.....	20
2.3.6.2 Angiotensina.....	22
2.3.6.3 Aldosterona.....	22
2.3.6.4 Enzima convertidora de angiotensina.....	23
2.4 TRATAMIENTO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL .....	26
2.4.1 Antagonistas de los receptores de angiotensina II.....	26
2.4.2 Diuréticos .....	28
2.4.3 Tiazidas.....	28
2.4.4 Inhibidores del contransportador sodio-glucosa 2 .....	28
2.4.5 Diuréticos de asa.....	29
2.4.6 Antagonistas de los receptores de mineralocorticoides.....	30
2.4.7 Antagonistas de canales de calcio dihidropiridínicos.....	30



2.4.8	<i>Beta y alfa bloqueadores</i> .....	30
2.4.9	<i>Inhibidores de la renina</i> .....	31
2.4.10	<i>Bloqueadores de los receptores de angiotensina-neprilisina</i> .....	32
2.4.11	<i>Inhibidores de la ECA</i> .....	33
2.4.11.1	Captopril® .....	33
2.4.11.2	Enalapril® .....	34
2.4.11.3	Lisinopril® .....	34
2.4.11.4	Ramipril® .....	35
2.4.11.5	Perindopril® .....	35
2.5	RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS.....	36
2.6	MICROALGAS Y SU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO .....	38
2.6.2	<i>Microalgas</i> .....	38
2.6.3	<i>Estructura de las microalgas</i> .....	38
2.6.4	<i>Clasificación de las microalgas</i> .....	39
2.6.3.1	Clorofíceas.....	42
2.6.3.2	Rhodofíceas .....	42
2.6.3.3	Criptofíceas.....	42
2.6.3.4	Crisofíceas .....	43
2.6.3.5	Euglenofíceas.....	43
2.6.3.6	Diatomeas .....	43
2.6.4	<i>Metabolitos primarios y secundarios</i> .....	45
2.6.4.1	Polisacáridos.....	45
2.6.4.2	Pigmentos .....	46
2.6.4.3	Péptidos .....	46
2.6.4.4	Polifenoles .....	47
2.6.4.5	Lípidos.....	47
2.6.5	<i>Actividades biológicas de las microalgas</i> .....	48
2.6.5.1	Potencial antiviral.....	50
2.6.5.2	Potencial antibacteriano.....	50
2.6.5.3	Potencial anticancerígeno.....	51
2.6.5.4	Potencial antioxidante.....	52

2.6.5.5	Potencial antiinflamatorio.....	53
2.6.5.6	Potencial antihipertensivo.....	54
2.7	<i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> .....	58
2.7.1	<i>Cultivo de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	61
2.7.2	<i>Aplicaciones de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	62
2.8	METABOLÓMICA .....	63
2.8.1	<i>Perfil metabólico</i> .....	63
2.8.1.1	Cromatografía líquida.....	64
	<b>2.8.1.1.1 Depósito del disolvente</b> .....	64
	<b>2.8.1.1.2 Bomba de HPLC</b> .....	65
	<b>2.8.1.1.3 Columnas de HPLC</b> .....	67
	<b>2.8.1.1.4 Detector</b> .....	67
	<b>2.8.1.1.5 Tipos de HPLC</b> .....	68
2.8.1.2	Espectrómetro de masas .....	68
	<b>2.8.1.2.1 Entrada de la muestra</b> .....	69
	<b>2.8.1.2.2 Métodos de ionización</b> .....	70
	<b>2.8.1.2.3 Analizador de masas</b> .....	70
	<b>2.8.1.2.4 Detector</b> .....	71
	<b>2.8.1.2.5 Espectro de masas</b> .....	72
2.9	ACOPLAMIENTO MOLECULAR.....	73
2.9.1	<i>Tipos de acoplamiento molecular</i> .....	74
2.9.1.1	Acoplamiento rígido .....	74
2.9.1.2	Acoplamiento flexible .....	75
2.9.1.3	Acoplamiento semiflexible.....	75
2.9.1.4	Acoplamiento ciego.....	75
2.9.1.5	Acoplamiento dirigido.....	76
2.9.2	<i>Elementos del acoplamiento molecular</i> .....	76
2.9.2.1	Optimización de la estructura del receptor .....	76
2.9.2.2	Optimización de la estructura de los ligandos .....	78
2.9.3	<i>Softwares específicos para acoplamiento molecular</i> .....	78
2.9.4	<i>Análisis predictivo de las propiedades ADME</i> .....	80

2.9.4.1	SwissADME.....	83
2.9.4.2	ADMETlab.....	85
<b>III</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>87</b>
<b>IV</b>	<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>88</b>
<b>V</b>	<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>89</b>
<b>VI</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>90</b>
6.1	OBJETIVO GENERAL.....	90
6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	90
<b>VII</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>91</b>
7.1	OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE <i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> .....	91
7.1.1	<i>Cultivo de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	91
7.1.2	<i>Obtención de la biomasa</i> .....	91
7.1.3	<i>Obtención del extracto de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	92
7.2	PERFIL METABOLÓMICO DE <i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> .....	94
7.2.1	<i>Preidentificación de los compuestos</i> .....	94
7.3	ANÁLISIS MEDIANTE ACOPLAMIENTO MOLECULAR.....	95
7.4	ANÁLISIS PREDICTIVOS.....	96
<b>VIII</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>97</b>
8.1	PREIDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS.....	97
8.2	ACOPLAMIENTO MOLECULAR.....	101
8.2.1	<i>Interacciones de los compuestos con la ECA</i> .....	102
8.3	ANÁLISIS PREDICTIVOS.....	110
8.3.1	PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS.....	110
8.3.2	<i>Análisis in silico de las propiedades fisicoquímicas de compuestos derivados de P. tricornutum</i> .....	110
8.3.3	<i>Análisis in silico de las propiedades fisicoquímicas de compuestos derivados de P. tricornutum</i> .....	114
8.4	PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS.....	117

8.4.1	<i>Evaluación in silico de las propiedades farmacocinéticas de compuestos derivados de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	117
8.4.2	<i>Evaluación in silico de los compuestos derivados de P. tricornutum como inhibidores de subfamilias del CYP450</i> .....	120
8.4.3	<i>Evaluación in silico de la similitud a otros fármacos de los compuestos derivados de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	122
8.4.4	<i>Evaluación in silico de la química medicinal de los compuestos derivados de Phaeodactylum tricornutum</i> .....	125
8.5	EVALUACIÓN <i>IN SILICO</i> DEL PERFIL DE TOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DE <i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> .....	127
8.5.1	<i>Predicción in silico de los parámetros de bloqueadores hERG, hepatotoxicidad humana, lesión hepática inducida por fármacos y toxicidad AMES</i> .....	127
8.5.2	<i>Predicción in silico de los parámetros de toxicidad aguda en ratas, dosis diaria máxima recomendada, sensibilización de la piel y carcinogenicidad</i> .....	130
8.5.3	<i>Predicción in silico de los parámetros irritación ocular, corrosión ocular, toxicidad respiratoria, factor de bioconcentración</i> .....	133
8.5.4	<i>Predicción in silico de las reglas RGCM, SChEMBL, no biodegradable, sensibilización de la piel y toxicidad acuática aguda</i> .....	136
<b>IX</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>139</b>
9.1	PRE-IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS DE <i>PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM</i> .....	139
9.1.1	ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DE <i>P. TRICORNUTUM</i> 141	
9.1.2	<i>Análisis de las interacciones de los compuestos</i> .....	143
9.3	ANÁLISIS PREDICTIVOS LOS COMPUESTOS DERIVADOS DE <i>P. TRICORNUTUM</i> .....	147
9.3.1	<i>Biodisponibilidad</i> .....	147
9.3.1.1	Absorción gastrointestinal .....	147
9.3.1.2	Barrera hematoencefálica .....	150
9.3.1.3	Sustratos de la glicoproteína P (P-gp) .....	151
9.3.1.4	Permeabilización de la piel (log Kp) .....	153
9.3.2	<i>Probabilidad de interacción de los compuestos derivados de P. tricornutum como inhibidores de subfamilias del CYP450</i> .....	154

9.3.2.1	Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP1A2	155
9.3.2.2	Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP2C19	156
9.3.2.3	Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP2C9	157
9.3.2.4	Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP2D6	159
9.3.2.5	Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor de CYP3A4	160
9.3.3	SIMILITUD A OTROS FÁRMACOS DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DE <i>P. TRICORNUTUM</i>	161
9.3.4	<i>Criterios de Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge</i>	161
9.3.5	<i>Puntuación de biodisponibilidad de Abbott</i>	162
9.4	QUÍMICA MEDICINAL DE COMPUESTOS DERIVADOS DE <i>P. TRICORNUTUM</i>	164
9.4.2	<i>Compuestos de interferencia de ensayos pan</i>	164
9.4.3	<i>Alertas estructurales Brenk</i>	165
9.4.4	<i>Accesibilidad sintética</i>	166
9.5	PERFIL DE TOXICIDAD DE LOS COMPUESTOS DERIVADOS DE <i>P. TRICORNUTUM</i>	168
9.5.2	<i>Bloqueadores hERG</i>	168
9.5.3	<i>Hepatotoxicidad humana</i>	170
9.5.4	<i>Toxicidad AMES</i>	172
9.5.5	<i>Toxicidad oral aguda en ratas</i>	174
9.5.6	<i>Carcinogenicidad</i>	175
9.5.7	<i>Irritación y corrosión ocular</i>	178
9.5.8	<i>Toxicidad respiratoria</i>	179
9.5.9	<i>Factor de bioconcentración</i>	180
<b>X</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>184</b>
<b>XI</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>186</b>
	<b>ABREVIACIONES</b>	<b>202</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Regulación de la presión arterial.....	16
Figura 2. Regulación de la presión arterial.....	19
Figura 3. Sistema renina angiotensina aldosterona. ....	21
Figura 4. Enzima convertidora de angiotensina. ....	25
Figura 5. Tratamiento de la hipertensión arterial. ....	27
Figura 6. Estructura de las microalgas.....	37
Figura 7. Clasificación de las microalgas.....	41
Figura 8. Aplicaciones de los compuestos derivados de microalgas.....	49
Figura 9. Morfología de <i>Phaeodactylum tricornerutum</i> .....	60
Figura 10. Componentes de la cromatografía líquida (HPLC). ....	66
Figura 11. Cultivo de <i>Phaeodactylum tricornerutum</i> .....	93
Figura 12. Cromatogramas obtenidos de los compuestos de la microalga <i>Phaeodactylum tricornerutum</i> . ....	98
Figura 13. Clasificación de los metabolitos obtenidos de <i>Phaeodactylum tricornerutum</i> . ....	100
Figura 14. Visualización de la estructura 3D de la ECA.....	105
Figura 15. Energía de enlace resultante del análisis de acoplamiento molecular.....	106
Figura 16. Visualización de complejos formados en análisis de acoplamiento molecular del lisinopril y febrifugina con la ECA (PDB ID: 1o86).....	107
Figura 17. Visualización de complejos formados en análisis de acoplamiento molecular del (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina y lobelina con la ECA (PDB ID: 1o86). ....	108
Figura 18. Visualización de complejos formados en análisis de acoplamiento molecular de talastina y cinconidina con la ECA (PDB ID: 1o86).....	109
Figura 19. Proceso de filtrado y análisis <i>in silico</i> de compuestos derivados de <i>Phaeodactylum tricornerutum</i> . ....	183

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Causas de hipertensión secundaria .....	10
Cuadro 2. Propiedades fisicoquímicas de compuestos de <i>P. tricornutum</i> .....	113
Cuadro 3. Propiedades fisicoquímicas de compuestos de <i>P. tricornutum</i> .....	116
Cuadro 4. Propiedades farmacocinéticas de compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> .....	119
Cuadro 5. Probabilidad de inhibición de compuestos derivados de <i>Phaeodactylum tricornutum</i> con las subfamilias del citocromo P450 .....	121
Cuadro 6. Criterios para evaluar la biodisponibilidad y farmacocinética de compuestos de <i>P. tricornutum</i> para ser utilizados como fármacos orales.....	123
Cuadro 7. Probabilidad de semejanza a otros fármacos de los compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> .....	124
Cuadro 8. Predicción de química medicinal de compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> .....	126
Cuadro 9. Parametros toxicológicos de compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> mediante predicciones de hERG, H-HT, DILI y Ames .....	129
Cuadro 10. Predicción del perfil toxicológico de compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> en toxicidad aguda por vía oral en ratas y otros parámetros .....	132
Cuadro 11. Predicción del perfil toxicológico de compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> en irritación ocular y otros parámetros.....	135
Cuadro 12. Predicción del perfil toxicológico de compuestos derivados de <i>P. tricornutum</i> en regla de genotoxicidad, carcinogenicidad y mutagenicidad y parámetros adicionales. ....	138



## RESUMEN

La hipertensión arterial es una de las principales causas de muerte a nivel mundial, por eso su prevención y tratamiento son cruciales para reducir las cifras de prevalencia y mortalidad de esta enfermedad. En la búsqueda nuevas opciones terapéuticas a partir de fuentes naturales para el tratamiento de este padecimiento destacan las microalgas, como *Phaeodactylum tricornutum*, la cual se ha demostrado produce una gran cantidad de compuestos bioactivos, algunos de los cuales han mostrado poseer actividad antihipertensiva. Por lo que, en el presente estudio, se analizó el perfil de metabolitos del extracto de *P. tricornutum* y mediante acoplamiento molecular, se evaluó su capacidad antihipertensiva, así como su perfil de biodisponibilidad y bioseguridad. Para obtener el perfil de metabolitos, se empleó cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución con ionización por electrospray. El acoplamiento molecular se realizó con AutoDock Vina, y la evaluación de la biodisponibilidad y bioseguridad de los compuestos seleccionados se llevó a cabo utilizando SwissADME y ADMETlab. Se pre-identificaron diversos compuestos, predominando los terpenoides, seguidos de carotenoides, ácidos carboxílicos y ácidos grasos. Los análisis de unión arrojaron que los compuestos que formaron complejos más estables y se unieron más eficazmente a la Enzima Convertidora de Angiotensina. Se determinó que los compuestos que formaron complejos estables y se unieron eficazmente a la enzima convertidora de angiotensina fueron febrifugina, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, lobelina, talastina, cinconidinona, cecelina, 3-hidroxiquinina y 1-fenetil-4-piperidinona. Mientras que, los compuestos que presentaron el perfil farmacocinético y toxicológico más favorable fueron alstonina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, cucurbitina y palustrina. En conclusión, Palustrina es

el compuesto más equilibrado y prometedor, combinando afinidad, biodisponibilidad favorable y bajo riesgo toxicológico, lo que sugiere su potencial como un nuevo agente antihipertensivo.

**Palabras clave:** (*Hipertension arterial, Enzima convertidora de angiotensina, Antihipertensivo, Phaeodactylum tricornutum, Acoplamiento molecular*).

## ABSTRACT

Arterial hypertension is one of the leading causes of death worldwide, making its prevention and treatment crucial to reducing the prevalence and mortality rates of this condition. In the search for new therapeutic options derived from natural sources, microalgae such as *Phaeodactylum tricornutum* stand out. This microalga has been shown to produce a large number of bioactive compounds, some of which have demonstrated antihypertensive activity. Therefore, in this study, the metabolite profile of *P. tricornutum* extract was analyzed, and its antihypertensive potential was evaluated through molecular docking, alongside assessments of bioavailability and biosafety profiles. To determine the metabolite profile, liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry using electrospray ionization was employed. Molecular docking was performed using AutoDock Vina, while the bioavailability and biosafety of the selected compounds were evaluated with SwissADME and ADMETlab. Several compounds were preliminarily identified, with terpenoids predominating, followed by carotenoids, carboxylic acids. The binding analyses revealed that the compounds forming the most stable complexes and binding most effectively to the Angiotensin Converting Enzyme were febrifugine, (2S,5R)-4-dodecyl-2,5-dimethylmorpholine, lobeline, talastine, cinchonidione, ceceline, 3-hydroxyquinine, and 1-phenethyl-4-piperidone. Meanwhile, the compounds exhibiting the most favorable pharmacokinetic and toxicological profiles were alstonine, N-carbamoyl-3-piperazin-1-ylpropanamide, cucurbitine, and palustrine. In conclusion, palustrine emerges as the most balanced and promising compound, combining strong binding affinity, favorable bioavailability, and low toxicological risk. This suggests its potential as a novel antihypertensive agent.

**Keywords:** *Arterial hypertension, Angiotensin converting enzyme, Antihypertensive, Phaeodactylum tricornutum, Molecular docking.*

## I INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es un desequilibrio en la presión arterial, se encuentra dentro de las enfermedades crónicas no transmisibles, además de estar dentro de los siete trastornos que conforman la entidad conocida como enfermedades cardiovasculares y representa una de las principales causas de muerte en el mundo (1). Según sea el origen podemos clasificar la HTA en primaria si es por etiología genética y secundaria si es en consecuencia a otras patologías (2). Respecto a los aspectos que influyen en la alteración de la presión arterial se encuentran péptidos natriuréticos y el endotelio, el sistema nervioso simpático (SNS), el sistema inmunitario y el sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) (3). Para prevenir y tratar la HTA en primera instancia se buscan cambios en el estilo de vida como la alimentación, ejercicio, evitar consumo de alcohol y los fármacos, los cuales tienen como blanco diana a la enzima convertidora de angiotensina, receptores de angiotensina y receptores de canales de calcio (4, 5).

La mayoría de los fármacos actualmente empleados para la regulación de la presión arterial han sido desarrollados principalmente a partir de compuestos obtenidos de plantas, sin embargo, existen un grupo de compuestos marinos conocidos como microalgas, las cuales sugieren ser una fuente alterna de compuestos bioactivos que pudieran tener diversas aplicaciones entre ellas el desarrollo de productos con beneficios para la salud, como nutracéuticos y alimentos funcionales (6). Las algas son un conjunto de organismos en su mayoría fotosintéticos las cuales se encuentran en una variedad de formas tanto micro como macroscópicas al igual que son miembros procariotas y eucariotas (7). Las microalgas producen metabolitos secundarios, incluidos compuestos bioactivos que son potencialmente beneficiosos,

a pesar que se estiman más de miles de metabolitos, existen aún pocos estudios o estándares de referencia disponibles para la detección de metabolitos de microalgas (8).

Existe evidencia de que las microalgas producen una variedad de compuestos como polisacáridos, proteínas, ácidos grasos, vitaminas, fotopigmentos, entre otros. Estos compuestos han sido asociados con diversas actividades biológicas como actividad anticancerígena, antivírica, antioxidante, antiinflamatoria y antihipertensiva (8, 9). Entre las microalgas, en particular las diatomeas, destaca la especie *P. triornutum*. Esta microalga se caracteriza por su elevado contenido de macromoléculas, incluyendo proteínas, polisacáridos y lípidos. Al igual que otras microalgas se ha reportado que compuestos derivados de *P. triornutum* están asociados con actividades biológicas, como la actividad antioxidante y antihiperoglucemiante (10).

La identificación de compuestos para el desarrollo de nuevos fármacos anteriormente implicaba realizar pruebas experimentales a prueba y error lo cual tomaba años únicamente para este paso, sin embargo, con el avance de la tecnología se han ido desarrollando estrategias bioinformáticas como los análisis *in silico* que han permitido identificar compuestos en poco tiempo y reducir los costos en investigación. Por lo tanto, es fundamental aplicar estas estrategias para identificar compuestos con potencial terapéutico que puedan abordar enfermedades principales como la hipertensión arterial, que son causas significativas de mortalidad en la población.

## II ANTECEDENTES

### 2.1 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

De acuerdo con el Comité Nacional Conjunto para la Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión Arterial (Del inglés, *Joint National Committee on the Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure / JNC7*) y la Organización Mundial de la Salud definen la hipertensión arterial como un desequilibrio en la presión arterial (PA) con un valor igual o mayor a 130/90 mmHg (11, 12) y recientemente, con la armonización del Colegio Americano de Cardiología (ACC, por sus siglas del inglés) y la Asociación Americana del Corazón (AHA, por sus siglas del inglés) podemos clasificar la PA de la siguiente manera: Se considera PA normal, si el valor de presión arterial sistólica es menor a 120 mmHg y la presión arterial diastólica (PAD) menor a 80 mmHg; elevada, con un valor de PAS entre 120-129 mmHg y PAD menor a 80 mmHg; hipertensión en estadio 1, con valores de PAS de 130-139 mmHg y PAD entre 80-89 mmHg; e hipertensión en estadio 2, con un valor de PAS mayor o igual a 140 mmHg y PAD mayor o igual a 90 mmHg (13, 14).

La presión arterial se define como la fuerza que la sangre ejerce sobre las paredes de las arterias y está regulada por dos factores principales: El gasto cardíaco y la resistencia periférica total. El gasto cardíaco representa el volumen total de sangre que es bombeado por un ventrículo del corazón cada minuto. Por otro lado, la resistencia periférica total se refiere a la dificultad que encuentra el flujo sanguíneo al pasar a través de los vasos sanguíneos. Estos dos factores interactúan para determinar el nivel de presión arterial en el cuerpo (15).

Según la causa de la hipertensión, esta se puede clasificar en hipertensión arterial primaria (idiopática o esencial) e hipertensión secundaria. La hipertensión primaria se debe a causas genéticas, mientras que la hipertensión secundaria está relacionada con otras enfermedades, principalmente aquellas que involucran los riñones (16).

### **2.1.1 Hipertensión primaria**

Denominada también hipertensión esencial o idiopática, representa entre el 90-95% de los casos y no tiene una causa única. Se presenta en edades avanzadas y se relaciona con factores genéticos. Su desarrollo se intensifica con factores intrínsecos como el envejecimiento y factores extrínsecos como el estrés, el uso de antiinflamatorios, el alto consumo de alcohol, y desequilibrios en el consumo de minerales y hormonas (17). El origen de la hipertensión arterial primaria no se atribuye a enfermedades cardíacas, endocrinas o renales; se relaciona con factores genéticos (4).

Se han asociado aproximadamente 120 locus relacionados con la regulación de la presión arterial; sin embargo, estos explican solo una parte de la herencia de la hipertensión arterial. A través de estudios realizados, se ha estimado que la heredabilidad de esta condición está entre el 31% y el 68%, reportándose que los familiares de primer grado de un paciente tienen un riesgo de tres a cuatro veces mayor de presentar la enfermedad en comparación con la población en general. Sin embargo, no se ha realizado la identificación completa de los genes y los efectos de diferentes variantes alélicas de estos genes en la modulación de la hipertensión arterial (18).

Se han identificado variantes genéticas que hacen susceptible a la población a presentar hipertensión. Estos genes incluyen componentes del SRAA, canales iónicos y enzimas relacionadas con la síntesis de aldosterona.



Entre los genes identificados se encuentran el gen *ADD1* (sensor de cambio de presión hidrostática, ubicado en el cromosoma 4p16), *REN* (para la renina, con ubicación en 1q32), el gen *AT1R* (para el receptor de angiotensina, situado en el cromosoma 3q21), el gen *AGT* (que codifica para el angiotensinógeno, encontrado en el cromosoma 1q42-q43), el gen *GJA5* (para la subunidad beta del canal de Na tipo I no dependiente de voltaje, encontrado en el cromosoma 16p13-p12), el gen *CYP11B2* (involucrado en la síntesis de aldosterona, con ubicación en el cromosoma 8q21) y el gen *ACE* (que codifica para la enzima convertidora de angiotensina, con ubicación en el cromosoma 17q23) (19).

### **2.1.2 Hipertensión secundaria**

Es el aumento de la presión arterial sistémica, presente en el 5-10% de los casos, y es el resultado de enfermedades preexistentes en el paciente. Entre estas enfermedades se incluyen enfermedades renales como la enfermedad renovascular, la hiperaldosteronismo primaria y el síndrome monogénico tubular. Asimismo, se relaciona con el feocromocitoma, el síndrome de Cushing, el hipertiroidismo, el hipotiroidismo, el hiperparatiroidismo, la coartación de la aorta, la hipertensión relacionada con la gestación, la hipertensión relacionada con el abuso de determinadas sustancias y la acromegalia (Cuadro 1) (17). Las causas de la hipertensión secundaria son múltiples y conducen a una etiología poco frecuente que necesita una exploración rigurosa y un diagnóstico mediante pruebas de alto costo. Por ello, detectar la hipertensión por estos medios es poco rentable. La prevalencia está sujeta a grupos de edad y depende de las características clínicas de la población (20).

**Cuadro 1. Causas de hipertensión secundaria**

<i>Causas frecuentes</i>	<i>Prevalencia</i>	<i>Causas menos comunes</i>	<i>Prevalencia</i>	<i>Ref.</i>
Enfermedad del parénquima renal	> 5–15%	Enfermedad tiroidea	0.5%	(21)
Estenosis de la arteria renal	1.0–8.0%	Síndrome de Cushing	1–2%	(4)
Hiperaldosteronismo primaria	1.4–10%	Feocromocitoma	0.2–0.5%	(22)
Fármacos		Coartación de la aorta	<1%	(23)
Apnea obstructiva del sueño	1.6–8.0%	Acromegalia		(24)

## **2.2 EPIDEMIOLOGÍA DE LA HTA**

De acuerdo con la OMS, la prevalencia de hipertensión a nivel mundial es aproximadamente del 30% en la población adulta, lo que representa aproximadamente 1280 millones de adultos afectados. La edad promedio de los afectados es de 30 a 79 años. Sin embargo, menos de la mitad de las personas que padecen la enfermedad son conscientes de su condición, y menos del 50% recibe tratamiento. Además, la hipertensión arterial es una de las principales causas de mortalidad en el mundo (11). En México, según lo reportado por la ENSANUT (2022), la prevalencia de hipertensión en la población adulta es del 47.8%. Sin embargo, solamente una tercera parte de ellos tiene valores de tensión arterial controlados (25). Sinaloa se encuentra dentro los primeros 5 estados del país con mayores casos de hipertensión, la secretaria de salud en su reporte epidemiológico de la semana 11 del presente año da a conocer 5,907 casos nuevos de hipertensión en el estado de Sinaloa deduciendo una afectación de 162 personas por cada 100,000 (26).

## **2.3 FISIOPATOLOGÍA DE LA HTA**

Múltiples parámetros del sistema cardiovascular influyen en la presión arterial, incluido el volumen sanguíneo, el gasto cardíaco y el equilibrio del tono arterial, el cual está alterado por el volumen intravascular y el sistema neurohumoral (3). Para mantener niveles normales de PA, es necesario que el sistema neuro-humoral funcione adecuadamente. Los elementos que interactúan dentro de este sistema incluyen los péptidos natriuréticos y el endotelio, el SNS, el sistema inmunológico y el SRAA (3).

### 2.3.1 Bomba sodio - potasio

La bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  es una proteína enzimática transmembranal, cuya función es mantener el equilibrio osmótico y el potencial de membrana en las células. Mediante un proceso en el cual bombea 3 iones de  $\text{Na}^+$  hacia el exterior de la célula y, al mismo tiempo, bombea 2 iones  $\text{K}^+$  al interior de la célula, todo esto por cada molécula de ATP consumida (Figura 1a) (27). La  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa está conformada por una subunidad alfa con tres dominios citoplasmáticos (A, actuador; N, unión de nucleótidos; y P, fosforilación), además de un dominio hélice transmembrana, y una subunidad beta (28). Existen isoformas que incluyen una subunidad más (FXFD), la cual es específica del tejido donde se encuentre. De manera estructural, la subunidad alfa contiene una región transmembrana compuesta por diez hélices, conocidas como MA1-MA10. Estas hélices contienen en su interior tres sitios de iones, los cuales se unen a los iones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ . Los gradientes de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  tienen un papel central en procesos fisiológicos de varios sistemas orgánicos (27).

Esta bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa mantiene un gradiente con una mayor concentración de  $\text{Na}^+$  extracelularmente y una mayor concentración de  $\text{K}^+$  en el interior de la célula. Mantener en equilibrio este gradiente es vital para los procesos fisiológicos en muchos de los órganos, además que es fundamental para la estabilidad del potencial de membrana en reposo de las células, la regulación del volumen celular y la transducción de señales, al igual es participe en procesos como en la filtración de desechos en las nefronas (27).

El sodio es uno de los principales reguladores del volumen sanguíneo. Concentraciones altas de sodio sérico conducen a la retención de líquidos y, en consecuencia, aumentan el volumen sanguíneo y la presión arterial (29). Cuando aumenta el consumo de sodio en personas normotensas, se producen cambios hemodinámicos para regular la presión arterial.

Esto incluye la reducción de la resistencia vascular renal y periférica, así como el aumento de la producción de óxido nítrico (NO, por sus siglas del inglés) en el endotelio. Sin embargo, en presencia de disfunción endotelial, se produce una sensibilización a la sal, lo que puede llevar a la hipertensión (30). Por otro lado, en esos individuos se produce una sobreproducción del factor de crecimiento transformante  $\beta$ , lo que a su vez aumenta el riesgo de fibrosis y estrés oxidativo. Además, un consumo elevado de sal provoca una alteración en el microbiota intestinal, lo que resulta en una mayor sensibilidad a la sal y en el desarrollo de hipertensión arterial.

El potasio tiene funciones en el organismo, como el mantenimiento del equilibrio de líquidos intracelulares, el equilibrio ácido-base y de electrolitos, además de contribuir al correcto funcionamiento de las células. Cuando existe una concentración sérica alta de potasio, se produce una vasodilatación dependiente del endotelio, la cual se presenta a través de una hiperpolarización de las células endoteliales debido a la estimulación de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa (31). El potasio también contribuye a la regulación de los niveles de sodio. Cuando hay una alta ingesta de potasio, la vía lisina quinasa no se estimula y, en consecuencia, no se activa el cotransportador de cloruro de sodio. Además, los niveles de aldosterona permanecen normales, lo que produce una excreción de sodio y una reducción en la presión arterial. Cabe destacar que la regulación de la aldosterona y los niveles de potasio es un proceso complejo que involucra múltiples mecanismos y retroalimentaciones para mantener la homeostasis (31).

### 2.3.2 Péptidos natriuréticos

Los péptidos natriuréticos son los principales compuestos derivados de la función cardíaca. Su función es producir efectos cardiovasculares y renales, entre los cuales se incluyen la vasorrelajación, la natriuresis, la diuresis, la reducción del volumen sanguíneo y de la presión arterial, el aumento de la tasa de filtración glomerular y la inhibición del sistema renina-angiotensina-aldosterona (3). Además de estos efectos, los péptidos natriuréticos están involucrados en la lipólisis, el estrés oxidativo, la reducción de la inflamación y en acciones antifibróticas y antihipertróficas, que juegan un papel esencial en la fisiopatología cardiovascular. Los principales péptidos natriuréticos son el péptido natriurético auricular (ANP, por sus siglas en inglés), el péptido natriurético cerebral o de tipo B (BNP, por sus siglas en inglés) y el péptido natriurético de tipo C (CNP, por sus siglas en inglés) (32).

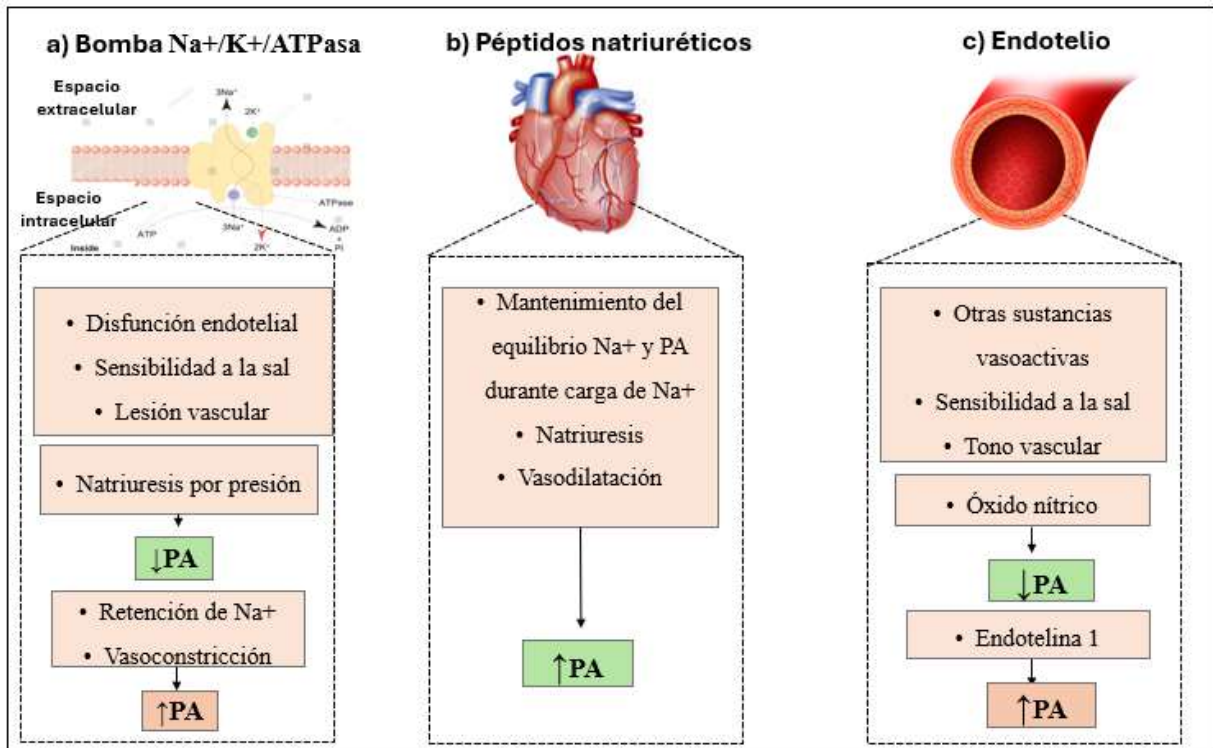
Los péptidos ANP y BNP desempeñan un papel crucial en la sensibilización a la sal y en la hipertensión. Con el aumento de la carga de sodio, se produce una dilatación auricular y ventricular, lo que provoca la liberación de estos péptidos, junto con la producción de vasodilatación sistémica y la disminución del volumen plasmático, lo que lleva a la disminución de la presión arterial (33). Además, estos péptidos provocan cambios a nivel renal al aumentar la tasa de filtración glomerular mediante el aumento del tono arteriolar eferente en estados de volumen expandido. También inhiben la reabsorción renal de sodio al disminuir la actividad de la  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPasa y del cotransportador de sodio-glucosa en el túbulo proximal, así como al inhibir ENaC en la nefrona distal, e indirectamente, inhiben la liberación de renina y aldosterona (Figura 1b) (33). La proteína corin desempeña un papel importante en el desarrollo de la hipertensión arterial. Esta serina proteasa cataliza la conversión de los péptidos ANP y BNP a

sus formas activas pro-ANP y pro-BNP. Cuando existe una deficiencia de corina, se produce una sobrecarga de volumen (3).

Los péptidos natriuréticos participan no solo en la regulación de funciones renales y cardiovasculares, sino que también influyen de manera importante en el endotelio vascular. En particular, el ANP y el BNP actúan directamente sobre el endotelio, facilitando la vasodilatación mediante la activación de la vía del NO (32).

### **2.3.3 Endotelio**

El endotelio es el tipo de célula primordial que recubre los vasos sanguíneos. Este tejido, que forma una monocapa única, tiene la capacidad de detectar variaciones hemodinámicas y reológicas, respondiendo de manera eficiente a los cambios en su entorno. El endotelio regula el tono vascular y contribuye a la sensibilidad a la sal. Las células endoteliales producen sustancias vasoactivas, entre las cuales el NO es especialmente importante (Figura 1c). Una disminución en la producción de NO, debido a la inhibición de la enzima NO sintasa endotelial, puede causar un aumento en la presión arterial y resultar en hipertensión (30). Además, las células endoteliales liberan otras sustancias vasodilatadoras como la prostaciclina o los factores hiperpolarizantes, así como sustancias vasoconstrictoras como la endotelina 1 (ET1), la angiotensina II y el prostanoide tromboxano A2 (TXA2) , y la prostaglandina I2 (PGI2) (34).



**Figura 1. Regulación de la presión arterial.** La PA está regulada por diversos mecanismos complejos, entre los que se encuentran la bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa (a), que regula el equilibrio de iones en las células, controlando el volumen celular y la concentración de sodio. También participan los péptidos natriuréticos (b), que intervienen en la natriuresis y la vasodilatación. Además, el endotelio (c) produce sustancias vasodilatadoras como el óxido nítrico y la prostaciclina, así como vasoconstrictores como la endotelina. Adaptado de Oparil y col. (2019) (3).



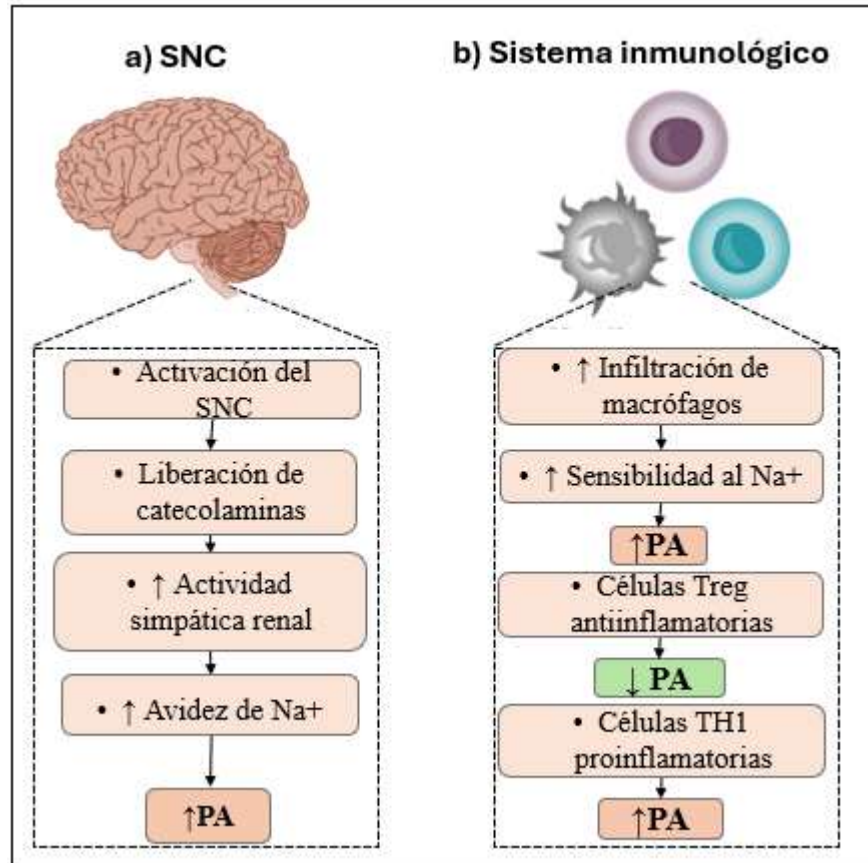
### **2.1.1. Sistema nervioso simpático**

El seno carotídeo aloja barorreceptores que detectan los cambios de presión en la circulación. Cuando la arteria carótida se dilata debido a la presión arterial, los haces de los nervios barorreceptores envían señales al cerebro para reducir la salida simpática de los impulsos nerviosos, lo que resulta en una disminución de la presión arterial (35). El sistema nervioso central muestra una mayor actividad en personas con hipertensión (Figura 2a). Por lo general, se encuentran en un estado de desequilibrio, con un aumento de la actividad del sistema simpático y una disminución de la actividad del sistema parasimpático, lo que desempeña un papel clave tanto en el origen como en el mantenimiento de la hipertensión (36).

Se ha evidenciado que, en muchos pacientes con hipertensión, la actividad del sistema simpático y parasimpático se encuentra aumentada. Esta hiperactividad impacta en la generación de esta enfermedad. Además, se ha asociado la gravedad de la hipertensión con niveles crecientes de actividad simpática, la cual, a su vez, se relaciona con los niveles de catecolaminas en plasma que son liberadas por los nervios simpáticos, los cuales inervan los vasos sanguíneos (3). La hiperactividad del sistema nervioso simpático provoca disfunción endotelial, que está mediada por el receptor adrenérgico alfa-1. Esto resulta en proliferación del músculo liso vascular, vasoconstricción y aumento de la rigidez arterial, lo que lleva al desarrollo y mantenimiento de la hipertensión. Además, se ha asociado con la desregulación del gen *WNK4*, que codifica para la proteína cinasa 4, la cual contribuye a una mayor retención de sodio (3, 37).

### **2.3.5 Sistema inmunitario**

La inflamación influye de manera importante en la generación de la hipertensión ya que está asociada con el aumento de la permeabilidad vascular y con la liberación de mediadores como especies reactivas de oxígeno, NO, citocinas y metaloproteinasas (Figura 2b) (30). Las citocinas promueven la formación de neointima provocando la reducción de la luz de las arterias y arteriolas que son altamente inervadas por nervios autónomos, como resultado a esto se genera fibrosis vascular lo que lleva a al aumento de la resistencia vascular y la rigidez, las citocinas también estimulan la síntesis de angiotensinógeno y angiotensina II además de provocar la retención de Na<sup>+</sup> y volumen en la hipertensión lo que impacta en función tubular renal (38). Las metaloproteinasas estimulan la degradación de la matriz extracelular permitiendo que células inmunitarias invadan el intersticio lo que permite la estimulación de apoptosis, síntesis de colágeno, deposición de la matriz y al final originando un daño en el órgano diana (38).



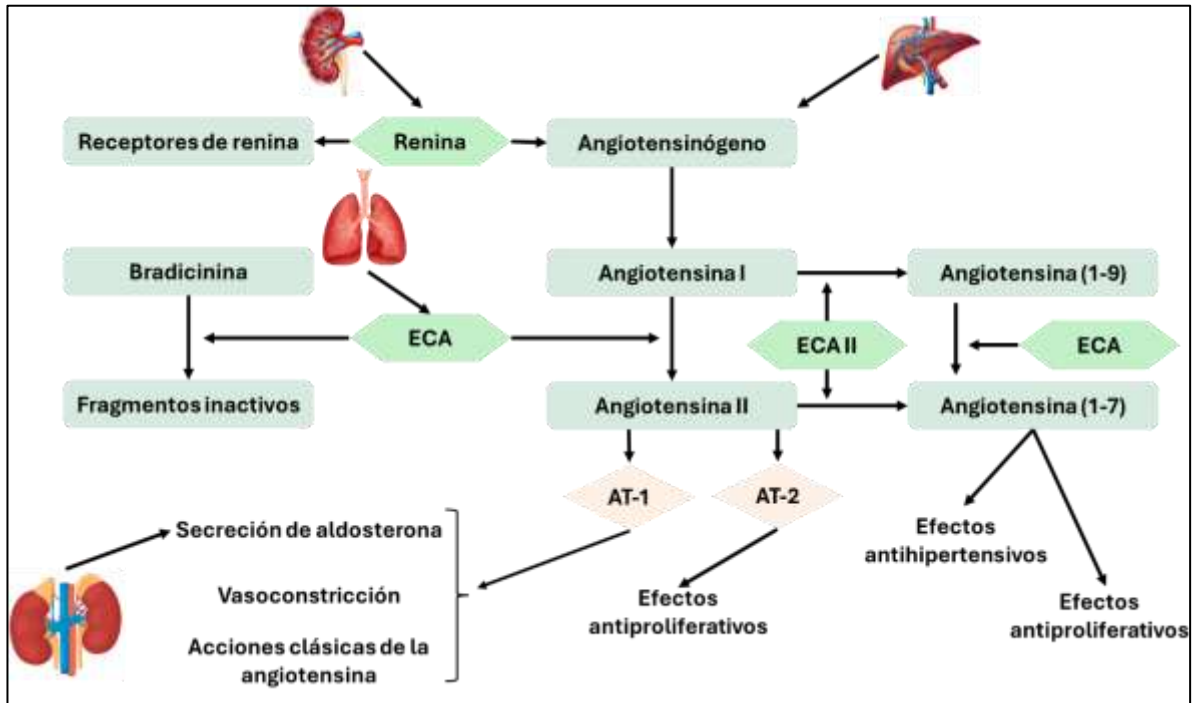
**Figura 2. Regulación de la presión arterial.** Estos mecanismos juegan un papel crucial en la regulación de la presión arterial. El SNC (a) modula la actividad simpática renal, mientras que el sistema inmunitario (b) interviene a través de células especializadas. Adaptado de Oparil y col. (2019) (3).

### **2.3.6 Sistema renina angiotensina aldosterona**

Existe evidencia que el SRAA tiene un papel fundamental en la regulación de la presión arterial, así mismo este sistema está relacionado con otros factores que tienen un impacto en la hipertensión (39). La importancia del SRAA se debe a que regula la presión arterial a corto y largo plazo, además de los niveles de electrolitos y agua en el organismo, está compuesto por proteínas con función enzimática que actúan en cascada (40). Este sistema representa el principal regulador de los niveles de sodio en el organismo además de los volúmenes de líquidos corporales y presión arterial, las principales proteínas que conforman este sistema son la renina, angiotensina y la enzima convertidora de angiotensina (Figura 3) (41).

#### **2.3.6.1 Renina**

Es una proteasa de 40 kDa (340 aa) sintetizada en forma inactiva como pro-renina (402 aa) y secretada en las arteriolas renales aferentes. La liberación de renina se presenta por la producción de estímulos como la disminución de la presión arterial, factores simpáticos, factores humorales como angiotensina II, vasopresina, endotelinas, histamina, óxido nítrico y dopamina. (42). La pro renina se puede activar de forma irreversible en el riñón por agentes exógenos o endógenos como catepsina B, la catepsina-1 y la pro convertasa, así mismo puede sufrir una activación reversible por cambios de pH y temperatura (43). En el sistema renina angiotensina aldosterona la renina es encargada del primer paso catalítico al actuar sobre el angiotensinógeno al escindir el enlace Leu-10 y Val-11 produciendo la angiotensina I (Ang I) (42).



**Figura 3. Sistema renina angiotensina aldosterona.** El funcionamiento en condiciones SRAA, inicia con la liberación de renina, la cual, mediante una reacción catalítica, convierte el angiotensinógeno en angiotensina I. Enseguida, la ECA convierte la angiotensina I (Ang I) en angiotensina II (Ang II), su forma activa, por el corte de un enlace específico (histidil-leucina). La acción final la lleva a cabo la Ang II estimulando la producción de aldosterona por la corteza suprarrenal. Finalmente, se produce reabsorción de Cl<sup>-</sup> y Na<sup>+</sup>, y excreción de K<sup>+</sup>. Cuando se presenta un deterioro en el sistema, se produce hipertensión. Adaptado de Richard N (2004) (44).

### **2.3.6.2 Angiotensina**

El angiotensinógeno es una glicoproteína de 62 kDa (452 aa) sintetizada en el hígado a partir del preangiotensinógeno, moléculas como glucocorticoides, estrógenos, hormonas tiroideas, citocinas y la Ang II estimulan su producción (45). La acción enzimática de la renina sobre el angiotensinógeno produce angiotensina I un deca-péptido inactivo que necesita la acción de la ECA para transformarse en su forma activa angiotensina II. La Ang II (8 aa) principalmente se encarga de regular la presión sanguínea mediante estimulación de los receptores AT1 y AT2 lo que se traduce en una vasoconstricción e inhibición de la excreción de agua y sodio (46). Ang II al final favorece la liberación de aldosterona a partir de las células de la capa glomerular de la corteza suprarrenal produciéndose de esta manera la retención renal de agua y sodio, como resultado final se produce un aumento de la presión arterial (39).

### **2.3.6.3 Aldosterona**

Es una hormona esteroidea perteneciente a la familia mineralocorticoide. Se produce en la parte externa de la zona glomerular de la corteza adrenal, que se encuentra ubicada en la glándula suprarrenal, y fisiológicamente tiene la función de regular la presión arterial (47). La síntesis de la aldosterona se regula por la Ang II, la hormona adrenocorticotrópica y la concentración de potasio extracelular (48). La aldosterona actúa a nivel del riñón al unirse a receptores para mineralocorticoides en el túbulo contorneado distal y del túbulo colector, con esta interacción se activa la bomba  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPasa}$  ocasionando que se reabsorba  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  y una excreción de  $\text{K}^+$  (49).

#### **2.3.6.4 Enzima convertidora de angiotensina**

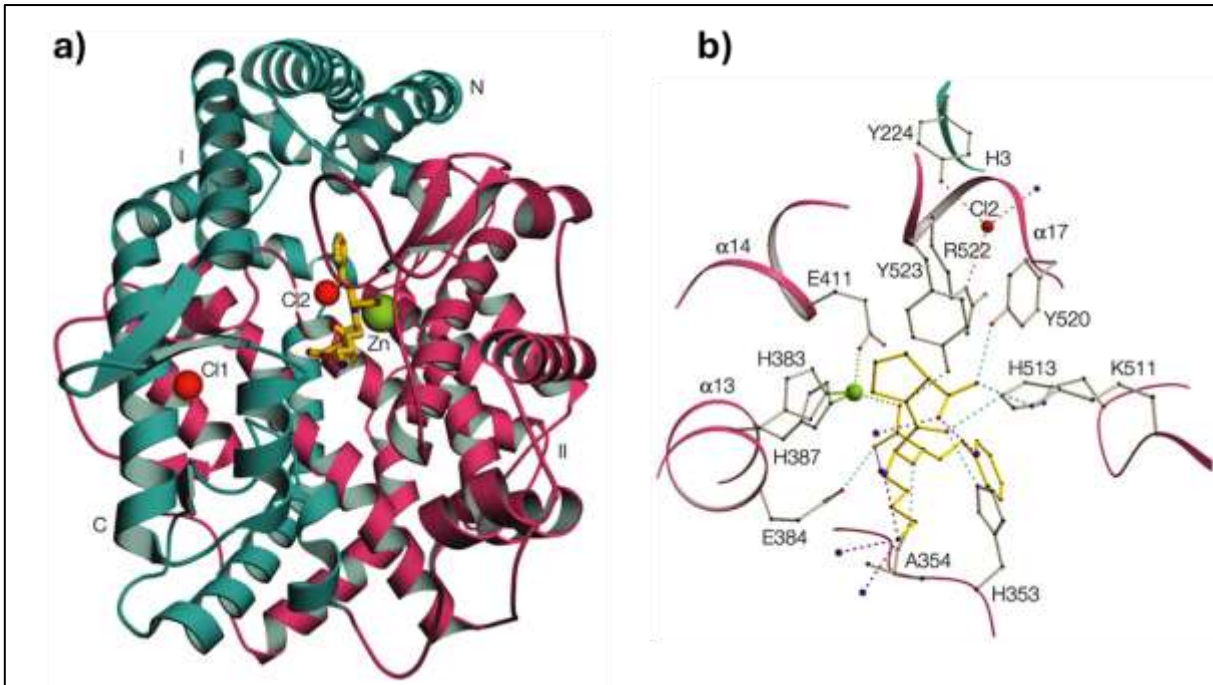
La ECA una metaloproteasa dependiente de zinc que tiene como función hidrolizar la angiotensina I en angiotensina II mediante el corte del enlace histidil-leucina. Se encuentra en la membrana de las células parenquimatosas y su importancia radica en su papel crucial en la regulación de la presión arterial y el equilibrio de líquidos y electrolitos. Además, contribuye a potenciar un sistema vasoconstrictor mediante la hidrólisis de Ang I y la inactivación de bradicinina, la cual es un vasopresor tanto del sistema renina-angiotensina-aldosterona como del sistema calicreína-quinina (23)

El gen que codifica para la ECA se encuentra en el cromosoma 17, en su brazo largo (17q23). Tiene una longitud de 21 kilobases, dentro de las cuales hay 26 exones y 25 intrones. Se han reportado alrededor de 160 polimorfismos dentro de este gen, de los cuales destacan 34 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) localizados en regiones codificantes. En los humanos se conocen dos isoformas de la ECA (ECA1, ECA2). Una isoforma convierte a Ang I en Ang II y la isoforma ECA2 convierte a la angiotensina en otra variante activa (Ang 1-7) que se ha asociado con vasodilatación y proliferación (25, 50).

La ECA está conformada por 1277 aminoácidos y tiene una masa molecular aproximada de 146 kDa. Se distribuye en varios tejidos, incluyendo el endotelio vascular, el epitelio intestinal, el epitelio del túbulo proximal renal, las membranas del riñón, los macrófagos, el plexo coroideo, la placenta, el cerebro y la superficie endotelial de los pulmones (51). La isoforma somática de la ECA está constituida por dos dominios catalíticos (C y N) y un dominio C-terminal transmembranal. Ambos dominios son zinc metalopeptidasas (52).

La estructura helicoidal de la enzima convertidora de angiotensina tiene una cavidad central que se expande dentro de la molécula durante unos 20 Å. Dicha cavidad está delimitada por una cadena beta 4 y las hélices alfa 13, 14, 15 y 17, dividiendo así la enzima en dos subdominios. Respecto al sitio activo, este está restringido para polipéptidos de gran tamaño, esto debido a que las hélices contienen una carga alta de residuos. Además, este sitio activo está rodeado de moléculas de agua con dos iones de cloro unidos hacia el interior (Figura 4). Los extremos N y C terminales están definidos por los residuos Asp 40 (a1) y Gly 615. Este conocimiento detallado de la estructura y el sitio activo de la enzima convertidora de angiotensina ha sido fundamental para el diseño de inhibidores de la ECA, como el captopril y el enalapril, que han revolucionado el tratamiento de la hipertensión arterial y otras enfermedades cardiovasculares (53).





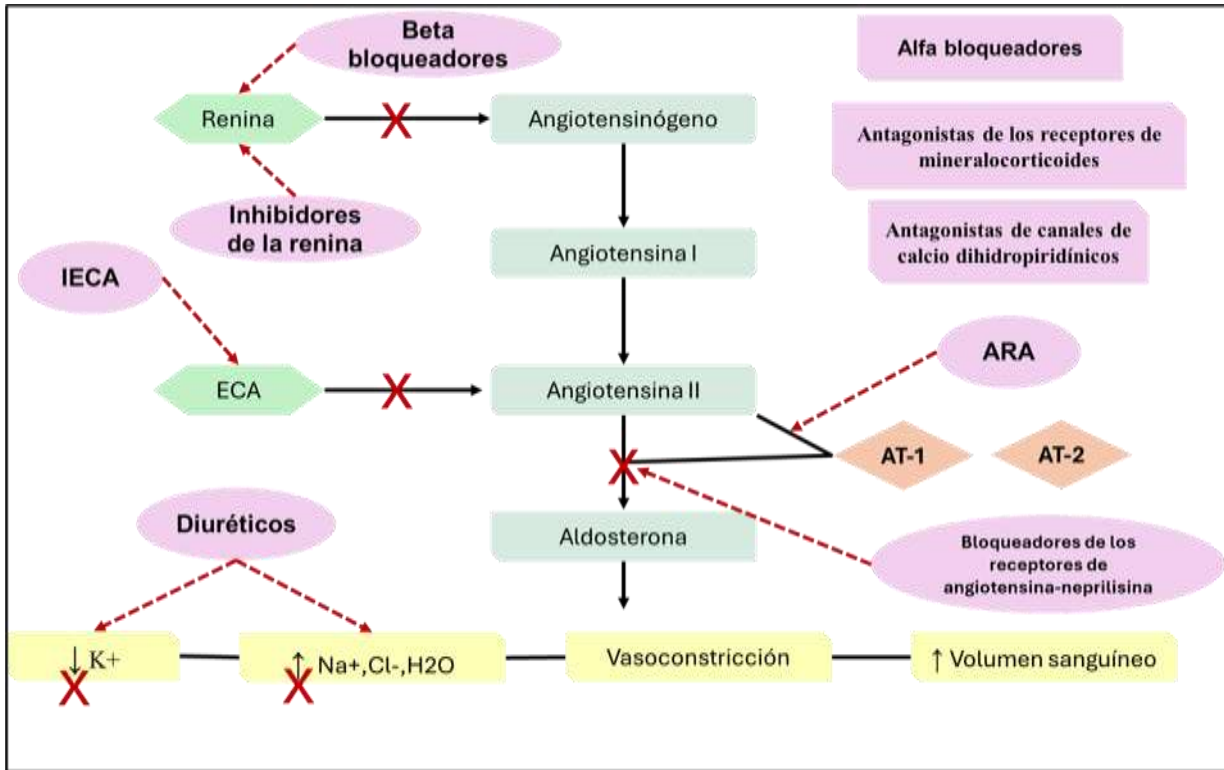
**Figura 4. Enzima convertidora de angiotensina.** Estructura cristalizada de la ECA (PDB: 1o86) en complejo con lisinopril (a). La ECA contiene dominios catalíticos N-terminal y C-terminal. Además, posee un ion de Zn, crucial para su función enzimática, junto con dos iones de Cl. Lisinopril en complejo con la ECA, se muestran las interacciones en su sitio activo (b). Adaptado de Natesh y col. (2003) (54).

## **2.4 TRATAMIENTO DE LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

Los cambios en el estilo de vida pueden prevenir y retrasar la aparición de la hipertensión arterial. Una buena alimentación con baja concentración de sal, el consumo de frutas y verduras, evitar el consumo de alcohol y tabaco, y hacer ejercicio con regularidad son medidas recomendadas. Dentro de los fármacos utilizados como tratamiento se encuentran los antagonistas de los receptores de angiotensina II, los beta y alfa bloqueadores, los antagonistas de los canales de calcio, los diuréticos, los vasodilatadores, los inhibidores de la renina y los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (Figura 5) (4, 5).

### **2.4.1 Antagonistas de los receptores de angiotensina II**

Son compuestos de origen no lipídicos con estructuras variadas, su actividad interfiere en el sistema renina angiotensina aldosterona al competir de forma específica y selectiva con los receptores de angiotensina II subtipo tipo I (55), el bloqueo de los ATI inhibe las principales funciones fisiológicas de la angiotensina II (56). Cuando se administra un antagonista de los receptores de angiotensina II (ARA II), este bloquea los receptores AT1 de angiotensina II, evitando la unión de esta hormona y reduciendo sus efectos vasoconstrictores y proliferativos. Este bloqueo puede contribuir a un aumento indirecto en la disponibilidad de óxido nítrico, una molécula con propiedades vasodilatadoras, pero no estimula directamente la liberación de bradicinina ni prostaglandinas (57). Los Antagonistas de los Receptores de Angiotensina (58) que se emplean habitualmente como componente del tratamiento incluyen bifeniltetrazoles, como Losartán®, Valsartán®, Irbesartán® y Candesartán®, así como también no bifeniltetrazoles, entre los cuales se cuentan Eprosartán® y Telmisartán® (59).



**Figura 5. Tratamiento de la hipertensión arterial.** Existe una diversidad de fármacos utilizados en la hipertensión arterial. El mecanismo de acción de muchos de ellos está enfocado en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, entre ellos los antagonistas de los receptores de angiotensina, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, los inhibidores de la renina, bloqueadores de los receptores de angiotensina-neprilisina y los betabloqueadores. Además de estos, están los diuréticos que intervienen en la reabsorción de sodio, los alfa bloqueadores que actúan a nivel del sistema nervioso simpático, y los antagonistas de los canales de calcio dihidropiridínicos que tienen efecto en los cardiomiocitos y en el músculo liso vascular, promoviendo la vasodilatación y reduciendo la resistencia periférica. Adaptado de Richard N (2004) (44).

### **2.4.2 Diuréticos**

Se denomina diuréticos a aquellos fármacos que producen un aumento de la excreción de agua y sodio en la orina. Este tipo de fármaco impacta en la reabsorción de sodio en la nefrona, específicamente en el túbulo proximal, túbulo distal, túbulo colector y en el asa de Henle. Los tipos de diuréticos que se usan como tratamiento para la hipertensión arterial son los inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa 2 (SGLT2), diuréticos de asa, diuréticos tiazídicos o similares a las tiazidas, y los antagonistas del receptor de mineralocorticoides (60).

### **2.4.3 Tiazidas**

Estos medicamentos ejercen un efecto diurético mediante la promoción del bloqueo del cotransportador de cloruro de sodio en el túbulo contorneado distal. Al bloquear este canal, se reduce el paso de sodio a través de la membrana luminal, lo que provoca una disminución de la actividad de la bomba sodio-potasio. Como resultado, disminuye el paso de sodio y agua hacia el intersticio (61). Estos medicamentos tienen el beneficio de prevenir la insuficiencia cardíaca; sin embargo, presentan muchos efectos adversos, como intolerancia a la glucosa, hipopotasemia, hipomagnesemia e hiponatremia. Además, pueden causar ataques de gota, elevación de los lípidos séricos, alcalosis metabólica y disfunción eréctil. Los tiazídicos administrados incluyen Indapamida<sup>®</sup>, Clortalidona<sup>®</sup>, Hidroclorotiazida<sup>®</sup> y Bendrofluazida<sup>®</sup> (59).

### **2.4.4 Inhibidores del constraportador sodio-glucosa 2**

Los inhibidores del SGLT2, son fármacos provocan una reducción en la reabsorción de glucosa y sodio a nivel del túbulo renal, actuando específicamente en los segmentos S1 y S2 del túbulo proximal. La reabsorción de glucosa se lleva a cabo mediante un cotransporte con un ion de Na (1:1).

Por su parte, la reabsorción de sodio se ve disminuida debido a la reducción de la actividad del intercambiador sodio-hidrógeno 3 (60). El uso de inhibidores del SGLT2 aumenta la natriuresis, lo que, en consecuencia, produce pérdida de peso al inicio de su administración. Estos inhibidores también tienen un efecto antihipertensivo moderado y pueden retrasar la progresión de la enfermedad renal, reducir la insuficiencia cardíaca y disminuir el riesgo de insuficiencia renal. Algunos de los efectos secundarios que pueden producir incluyen aumento de la sed, micción frecuente, ardor, dolor, cansancio, fiebre, entre otros. Entre los inhibidores del SGLT2 se encuentran Brenzavvy® (bexagliflozina), Invokana® (canagliflozina), Farxiga® (dapagliflozina), Jardiance® (empagliflozina) y Steglatro® (ertugliflozina) (60, 62).

#### **2.4.5 Diuréticos de asa**

Los diuréticos de asa tienen la función de reducir la actividad del cotransportador de sodio-potasio-cloruro a nivel de la rama ascendente gruesa del asa de Henle, lo que ocasiona un aumento de la excreción de sodio, potasio y cloruro en la orina. Estos diuréticos son recomendados como tratamiento para la hipertensión arterial cuando la tasa de filtración glomerular es de 30-45 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (63). Los diuréticos de asa pueden reducir la sobrehidratación corporal y rara vez ocasionan un desequilibrio de electrolitos; sin embargo, los pacientes pueden presentar niveles bajos de potasio, cefalea, náuseas, vómitos, pérdida de peso, diarrea, debilidad, vértigo, entre otros efectos secundarios. Entre los diuréticos de asa se encuentran la bumetanida® (Bumex, Burinex®), el ácido etacrínico (Edecrina), la furosemida® y la torsemida® (Demadex), entre otros (60, 63).

#### **2.4.6 Antagonistas de los receptores de mineralocorticoides**

Producen una disminución de la actividad del canal de sodio epitelial en las células del túbulo colector. Estos fármacos tienen efectos antihipertensivos, nefroprotectores y cardioprotectores. Algunos de los efectos secundarios que producen son el desequilibrio de electrolitos (hipercalcemia e hiponatremia). Entre los antagonistas de los receptores de mineralocorticoides se encuentra la espironolactona®, la cual se administra sola o en combinación con diuréticos tiazídicos. También se encuentra la eplerenona®, que reduce la presión arterial en un grado similar a un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, y la finerenona®, que ha demostrado tener efectos nefroprotectores y cardioprotectores (60).

#### **2.4.7 Antagonistas de canales de calcio dihidropiridínicos**

Disminuyen la tensión arterial por vasodilatación arterial periférica al evitar la apertura de los canales dependientes de voltaje en los cardiomicitos y en el músculo liso vascular, dentro de sus beneficios se encuentra su bajo costo, buena efectividad y pueden prevenir ventos vasculares cerebrales isquémicos, sin embargo, provoca edema de miembros inferiores hiperplasia gingival y la aparición de bloqueos en el sistema de conducción, dentro de los antagonistas de calcio que se usan como tratamiento se encuentran Amlodipino® y Nifedipino® (59).

#### **2.4.8 Beta y alfa bloqueadores**

Existen diferentes tipos de receptores beta en nuestro sistema biológico. Los receptores beta tipo uno ( $\beta_1$ ) tienen la función de estimular la liberación de renina, mientras que los receptores tipo dos ( $\beta_2$ ) están relacionados con la relajación de los músculos lisos y potencian procesos metabólicos como la glucogenólisis.

Los tratamientos con betabloqueantes están dirigidos hacia diferentes receptores, y algunos pueden tener un efecto sobre los receptores tipo alfa. Los betabloqueantes participan en la regulación de la presión arterial al disminuir la liberación de renina y reducir el gasto cardíaco. Los betabloqueadores son una opción terapéutica para la insuficiencia cardíaca y eventos vasculares. Tienen la ventaja de poder administrarse en embarazadas. Sin embargo, presentan riesgos como el broncoespasmo y el retardo en la conducción cardíaca (64). Dentro de los diferentes tipos de betabloqueantes se incluyen los cardioselectivos, como el Nebivolol<sup>®</sup>, los no cardioselectivos, como el Nadolol<sup>®</sup> y el Propranolol<sup>®</sup>, y los combinados, como el Carvedilol<sup>®</sup>, Carvedilol fosfato<sup>®</sup> y Labetalol<sup>®</sup> (4, 21).

El alfa bloqueadores ejercen su efecto a nivel del sistema nervioso simpático. Existen receptores alfa de tipo 1 y tipo 2. Los receptores alfa-1 se encuentran en tejidos como la piel, esfínteres del sistema gastrointestinal, riñón y cerebro. Por otro lado, los receptores alfa-2 están presentes en las terminaciones nerviosas del sistema nervioso periférico. Como tratamiento, existen antagonistas alfa-adrenérgicos no selectivos y selectivos que se utilizan para bloquear los receptores alfa-1 y alfa-2, provocando una vasodilatación. Ejemplos de estos tratamientos son la Fenoxibenzamina<sup>®</sup>, Fentolamina<sup>®</sup> y Yohimbina<sup>®</sup> (65).

#### **2.4.9 Inhibidores de la renina**

La renina desempeña un papel crucial en el sistema renina-angiotensina-aldosterona, ya que cataliza la conversión de angiotensinógeno en angiotensina I. Por esta razón, se utilizan inhibidores de la renina para limitar esta conversión. Los péptidos fueron los primeros compuestos utilizados para la inhibición de la renina. Los investigadores dedicaron sus esfuerzos a probar el potencial de péptidos modificados, lo que eventualmente condujo al desarrollo del aliskiren<sup>®</sup>.

Incluso después de su aprobación, continuaron explorando varias moléculas para mejorar y diversificar las opciones de inhibición de la renina. Sin embargo a pesar de que se han probado cientos de moléculas al momento ninguna ha cumplido con los parámetros toxicológicos por lo que no se ha tenido éxito en obtener un tratamiento efectivo a excepción del aliskiren®. El aliskiren® se administra de manera oral y alcanza su concentración plasmática máxima entre una y tres horas después de su administración. Tiene una vida media de 24 horas y cuenta con propiedades fisicoquímicas aceptables, aunque su biodisponibilidad es baja. Puede administrarse en monoterapia o en combinación con otros medicamentos, como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (66).

#### **2.4.10 Bloqueadores de los receptores de angiotensina-neprilisina**

La neprilisina, una endopeptidasa, desempeña un papel crucial al hidrolizar péptidos vasoactivos endógenos como la bradicinina y la adrenomedulina. La inhibición de la neprilisina resulta en un aumento de estas sustancias vasoactivas, lo que promueve la vasoconstricción y la retención de sodio. Como alternativa terapéutica, se está considerando la combinación de un antagonista del receptor de angiotensina II con un inhibidor de neprilisina. De esta asociación surge la molécula SAC/VAL, obtenida mediante la cocrystalización de valsartán y sacubitrilo. SAC/VAL ha demostrado reducir los síntomas de la insuficiencia cardíaca, así como la incidencia de muerte cardiovascular y hospitalización por esta causa. En comparación con otros fármacos como el Enalapril, SAC/VAL ofrece una mejora significativa en la calidad de vida de los pacientes (67).



### **2.4.11 Inhibidores de la ECA**

Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), son un grupo de medicamentos más utilizados para tratar la hipertensión, problemas del corazón y del riñón, los IECA interactúan con la Ang II inhibiendo su acción provocando vasodilatación lo que disminuye la PA. El mecanismo de acción de los IECA no está completamente esclarecido. Aunque su efecto está directamente relacionado con el sistema renina-angiotensina-aldosterona, no tienen una relación directa con los niveles de renina. Los IECA interfieren con la actividad de la enzima convertidora de angiotensina, cuya función principal es regular la conversión de angiotensina I en angiotensina II. La angiotensina II, a su vez, estimula la liberación de aldosterona, lo que genera una respuesta en la natriuresis, reduce la presión arterial y previene el remodelamiento de los músculos lisos y los miocitos cardíacos. Dentro de los IECA se encuentran Captopril®, Enalapril®, Lisinopril®, Perindopril® y Ramipril®. Entre los efectos adversos de estos medicamentos se encuentran la presencia de tos, el aumento de creatinina y, en casos muy raros, la acidosis tubular renal tipo 4 (42).

#### **2.4.11.1 Captopril®**

Captopril® fue el primer fármaco que se utilizó para inhibir a la enzima convertidora de angiotensina, este surgió a partir de la aislación de una secuencia de péptidos derivados de *Bothrops jararacá* y mediante una serie de modificaciones químicas se llegó a la estructura del captopril (D-3-mercapto-2-metilpropanoil-L-prolina) la cual mostró una mayor eficacia inhibiendo la ECA. Tras la síntesis del captopril, se llevaron a cabo estudios adicionales centrados en modificaciones químicas. Estos esfuerzos resultaron en el desarrollo de varios inhibidores de la ECA, como el Lisinopril®, Enalapril® y otros (68).

Los parámetros farmacocinéticos del Captopril® incluyen su absorción, que ocurre a través de la vía oral, alcanzando la concentración plasmática máxima aproximadamente una hora después de su administración. Para su distribución, se requiere un volumen de 0.8 L/kg y tiene una unión a proteínas plasmáticas de alrededor del 25% al 30%. Además, Captopril® puede atravesar la barrera hematoencefálica. Este fármaco se metaboliza a disulfuro de cisteína-captopril y disulfuro de dímero de captopril. El riñón es la principal vía de eliminación del Captopril®, con un aclaramiento de 0.7 L/h/kg y una vida media de eliminación de alrededor de dos horas. Por lo tanto, es necesario administrarlo tres veces al día (55).

#### **2.4.11.2 Enalapril®**

Enalapril® surge a partir de investigaciones que utilizaron modelos moleculares para desarrollar su estructura, optimizando su efecto en la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina. Esto contribuye a la regulación de la presión arterial y del volumen del líquido sanguíneo, al influir en la promoción de la vasoconstricción y la reabsorción de iones de sodio a nivel renal. Enalapril® es un profármaco cuya forma activa es el enalaprilato. Su administración es por vía oral, alcanzando una concentración máxima en las primeras tres o cuatro horas. Además tiene una biodisponibilidad de aproximadamente el 40%, penetra en la mayoría de los tejidos y tiene una vida media de alrededor de 11 a 14 horas (69).

#### **2.4.11.3 Lisinopril®**

Es un péptido sintético que surge a partir de la estructura del enalaprilato y se diferencia de otros inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina al no necesitar activación para ser funcional. Su administración es por vía oral y tiene una biodisponibilidad absoluta de aproximadamente el 25%. Además, alcanza una concentración plasmática máxima entre las 6 y 8 horas. En cuanto a su vida media, es de aproximadamente 13 horas.

La eliminación del lisinopril® ocurre a través de los riñones mediante filtración glomerular. El uso de este fármaco está restringido a pediatras en niños menores de seis años, debido a que aún no está bien esclarecido su mecanismo farmacocinético (70).

#### **2.4.11.4 Ramipril®**

El metabolito activo, ramiprilato, inhibe la enzima convertidora de angiotensina tanto circulante como tisular. Como resultado, se produce una reducción en la actividad simpática y en la reabsorción de sodio y agua en los riñones. Además, causa una relajación de los músculos lisos y de las arteriolas, lo que ocasiona una reducción en la presión arterial. El ramipril® se absorbe por vía oral, alcanzando una concentración plasmática máxima en la primera hora. Además, su biodisponibilidad es aproximadamente del 60%. En cuanto a su metabolismo, implica la eliminación de un grupo éster, lo que le confiere una vida media de alrededor de 24 horas. Finalmente, su eliminación se lleva a cabo a través de la orina y las heces (71).

#### **2.4.11.5 Perindopril®**

Al igual que la enalapril®, el perindopril® es un profármaco que experimenta hidrólisis para convertirse en su forma activa, el perindoprilato. Su efecto a nivel tisular se centra en la pared vascular y el riñón, sin ocasionar retención de sodio y agua, ni producir taquicardia. Se administra por vía oral y tiene una vida media de 24 horas, lo que permite su uso en una dosis única al día. Además, el perindopril® tiene un efecto positivo en una amplia gama de condiciones, incluyendo la isquemia, aterosclerosis, trombosis, inflamación, agregación plaquetaria, función endotelial, función cardiovascular y albuminuria. (72).

## **2.5 RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTIHIPERTENSIVOS**

Se estima que entre 100 y 500 millones de personas están afectadas por hipertensión resistente, una afección crónica caracterizada por una presión arterial persistentemente alta que se encuentra por encima de los niveles objetivos a pesar del uso de tres o más medicamentos antihipertensivos. La hipertensión resistente se asocia con otras comorbilidades, como la obesidad, diabetes, enfermedad renal crónica, apnea del sueño y el trasplante de riñón. Esta resistencia está mediada principalmente por la retención de sodio, la sobrecarga de volumen y la aldosterona.

La hipertensión resistente se clasifica en pseudorresistente, verdaderamente resistente y refractaria. La hipertensión pseudorresistente se presenta cuando la presión arterial se eleva debido a factores distintos a la hipertensión, como la falta de adherencia a la medicación o el uso de medicación inadecuada. La hipertensión pseudorresistente se puede diagnosticar mediante una monitorización ambulatoria de 24 horas y se maneja mejorando el cumplimiento de la medicación, así como utilizando otros medicamentos (73).

Por otro lado, la hipertensión verdaderamente resistente se caracteriza por la presencia de presión arterial elevada ocasionada por una combinación de factores como la predisposición genética, el estilo de vida, el incumplimiento de la medicación y afecciones médicas subyacentes. Para el control de la hipertensión verdaderamente resistente, se suele utilizar una combinación de distintos tipos de medicamentos antihipertensivos, cambios en el estilo de vida y tratamiento de las afecciones médicas subyacentes (74).

Cuando la presión arterial permanece elevada a pesar de que el paciente se trata de manera óptima con múltiples antihipertensivos y que tenga modificaciones en el estilo de vida se trata de una hipertensión refractaria. Esta afección es rara y un poco más agresiva por lo que puede ser necesario que se realicen intervenciones invasivas como la denervación renal o terapia de barorreceptores para lograr el control de la presión arterial (75).

Sin embargo, cuando la presión arterial permanece elevada a pesar de que el paciente recibe un tratamiento óptimo con múltiples antihipertensivos y ha realizado modificaciones en el estilo de vida, se considera hipertensión refractaria. Esta afección es rara y más agresiva, por lo que puede ser necesario recurrir a intervenciones invasivas como la denervación renal o la terapia de barorreceptores para lograr el control de la presión arterial (76).

Además, la identificación y manejo adecuados de la hipertensión resistente y refractaria son cruciales debido a su impacto significativo en la morbilidad y mortalidad cardiovascular. La investigación continua en esta área es esencial para desarrollar tratamientos más efectivos y personalizados, que no solo aborden la reducción de la presión arterial, sino también los factores subyacentes que contribuyen a su resistencia (77). Por esta razón, surge la alternativa de explorar fuentes naturales como medio para obtener metabolitos naturales que puedan ser una opción segura y eficaz para el desarrollo de nuevos medicamentos para esta enfermedad. Ejemplos de estas fuentes naturales son las microalgas, que ya han sido estudiadas para evaluar su efecto biológico (78).

## **2.6 MICROALGAS Y SU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO**

### **2.6.2 Microalgas**

Etimológicamente la palabra microalga significa alga diminuta o que no es visible, se deriva del griego μικρός que significa “pequeño” o “diminuto” y del latín *alga* que significa “planta marina” o “hierba acuática”. Existen estimaciones de que el número de microalgas aproximadamente es veinte veces más que el número de todos los organismos del planeta (79). Las microalgas son un conjunto diverso de microorganismos unicelulares, que recientemente han tenido un gran impacto en el ámbito nutracéutico y farmacéutico, ya que son capaces de producir una amplia variedad de compuestos, entre los que se incluyen ácidos grasos, polisacáridos (como fibras), proteínas y péptidos (como enzimas) vitaminas y minerales (78). Las microalgas se pueden encontrar en microhábitats acuáticos como lagos, estanques, ríos, océanos e incluso en aguas residuales, suelos y el aire. Estos organismos tienen la capacidad de tolerar un amplio rango de temperaturas, salinidad y pH, además de soportar diferentes intensidades de luz (80). Las microalgas son consideradas fuentes de biocombustibles, alimento y productos medicinales bioactivos. Algunas especies han sido investigadas debido al potencial de los productos que generan, especialmente los compuestos con propiedades farmacológicas y biológicas. Tanto para la producción de biocombustibles como para la obtención de compuestos farmacológicos, las microalgas presentan ventajas como un bajo costo, renovabilidad y un bajo impacto ambiental (81).

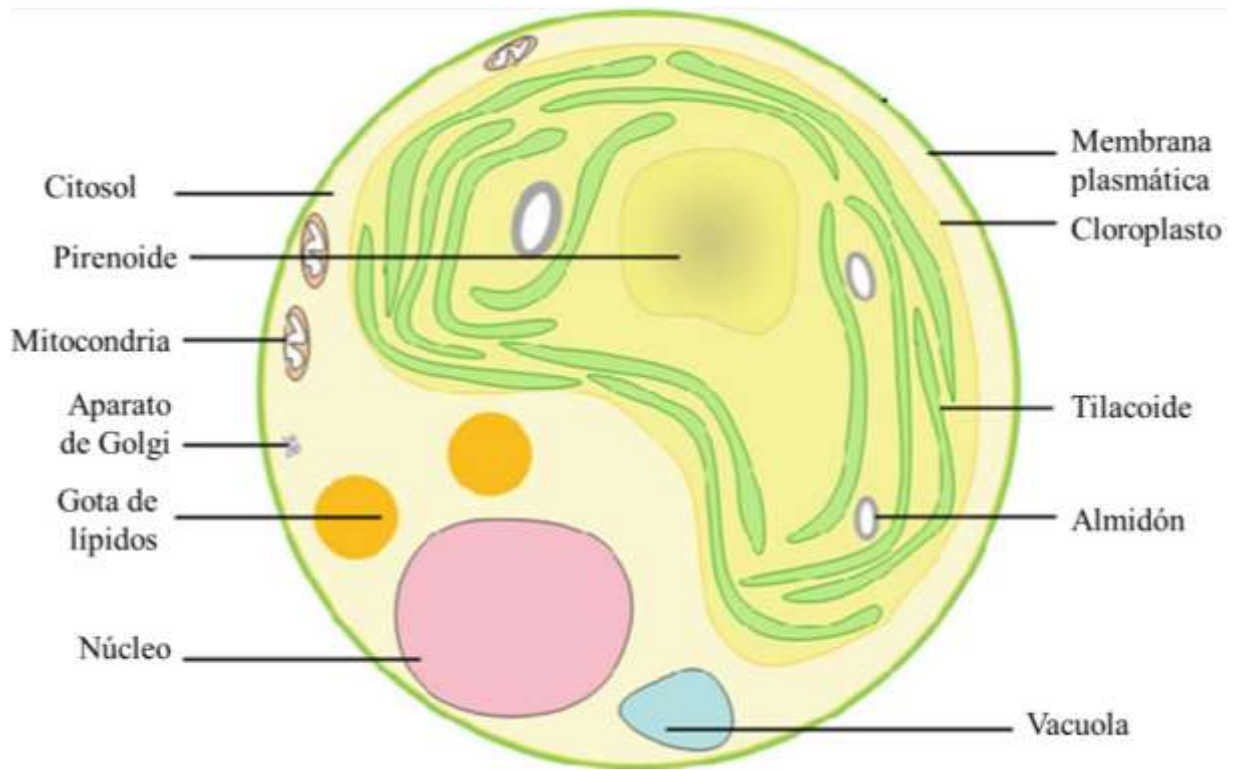
### **2.6.3 Estructura de las microalgas**

Las microalgas exhiben una gran diversidad morfológica, siendo la mayoría asimétricas. Se pueden encontrar especies unicelulares flageladas, cocoides, filamentosas, o agrupadas en formas palmeloides con entornos esféricos, cilíndricos, fusiformes, entre otros. En cuanto a su

estructura, las microalgas presentan una diversidad que abarca desde formas simples hasta estructuras más complejas. Estas últimas cuentan con un núcleo diferenciado, mitocondrias, uno o más cloroplastos, retículo endoplásmico, sistema de Golgi y otros organelos característicos (82). La estructura celular de las microalgas es esencial para su adaptación a diversos entornos acuáticos (Figura 6). Estas presentan una pared celular compuesta principalmente de celulosa en la mayoría de las especies; sin embargo, algunas, como las diatomeas, tienen sílice en su pared. Esta estructura les otorga soporte mecánico y las protege de condiciones ambientales adversas (83). Los cloroplastos, que contienen pigmentos fotosintéticos como la clorofila y los carotenoides, son fundamentales para captar energía luminosa y llevar a cabo la fotosíntesis. Los cloroplastos también pueden contener pirenoides, que almacenan almidón y están involucrados en la fijación de carbono. Además, las mitocondrias juegan un papel clave en la producción de ATP, la principal fuente de energía de la célula (84). El núcleo alberga el material genético, mientras que las vacuolas regulan la homeostasis osmótica y actúan como reservorios de nutrientes. Algunas especies de microalgas presentan flagelos, que les permiten orientarse hacia fuentes de luz. Otros organelos presentes en las microalgas incluyen ribosomas, aparato de Golgi, retículo endoplásmico, cinetosomas, peroxisomas y plastidios. Todos estos organelos colaboran en la optimización de funciones metabólicas, como la fotosíntesis, la síntesis de biomoléculas y la respuesta a cambios en el entorno (85).

#### **2.6.4 Clasificación de las microalgas**

Existen más de 200 mil especies de microalgas lo cual complica su clasificación, a lo largo del tiempo se han realizado modificaciones en los sistemas de clasificación, pero la clasificación actual se basa en criterios como características morfológicas, color y tipo de reproducción (Figura 7) (8).



**Figura 6. Estructura de las microalgas.** Se muestran los principales componentes celulares de las microalgas, incluyendo la membrana plasmática, cloroplastos, tilacoides, pirenoides, mitocondrias, aparato de Golgi, núcleo, vacuola, gota de lípidos y almidón. Estos organelos desempeñan funciones claves en los procesos metabólicos, como la fotosíntesis, el almacenamiento de nutrientes y la regulación de la homeostasis celular. Adaptado de Pignolet y col., (2013) (86).



Figura 0.1



**Figura 7. Clasificación de las microalgas.** Las microalgas generalmente se clasifican según su morfología y el tipo de pigmento que producen. De acuerdo con lo anteriormente mencionado, las microalgas se pueden clasificar como: Cianofíceas (algas azul-verde), clorofíceas (algas verdes), rodofíceas (algas rojas), crisofíceas (algas doradas), criptofíceas y diatomeas (algas marrón-amarillentas). Adaptado de Lopez y col. (2020) (87).

### **2.6.3.1 Cloroficeas**

Son una división de las algas verdes que contienen clorofilas a y b. Tienen la capacidad de almacenar almidón en sus plastidos, y se estima que incluyen alrededor de 4,300 especies, la mayoría de las cuales habitan en agua dulce (88). Presentan una variedad de formas incluyendo especies unicelulares, multicelulares, nucleadas o multinucleadas. Poseen cloroplastos y algunas son capaces de establecer simbiosis con otros organismos, como los hongos. *Chlamydomonas*, *Chlorella*, *Volvox*, *Acetabularia* son algunas de las especies de clorofitas que son utilizadas en los laboratorios (88)

### **2.6.3.2 Rhodoficeas**

Existen alrededor de 6,000 de especies dentro de las rhodophytas que se pueden encontrar en aguas dulces y salada. Tienen un papel vital en la cadena alimenticia y producen alrededor del 40 al 60% del oxígeno global total (89). También conocidas como algas rojas representan el principal grupo de algas marinas que tienen el potencial de obtener compuestos naturales, actualmente ya se utilizan para el uso de sustitución de gelatina de origen animal con polímeros de algas marinas, o la industria textil por pigmentos naturales, además que ya tienen mucho tiempo formando parte del consumo humano por su contenido de vitaminas, minerales, calcio, magnesio, carbohidratos y antioxidantes (90).

### **2.6.3.3 Criptoficeas**

Son protistas unicelulares, fotoautótrofos, biflagelados con la capacidad de vivir tanto en agua dulce, salobre y marino. Aunque se han descrito alrededor de 200 especies, se cree que esta cifra está subestimada debido a las dificultades para su estudio en cultivo y su identificación precisa, que requiere el uso de microscopía y estudios moleculares (91). Estas microalgas son

altas productoras de compuestos como aminoácidos, lípidos en especial ácidos grasos insaturados, como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA) (91).

#### **2.6.3.4 Crisofíceas**

Las crisofíceas son organismos unicelulares flagelados que producen pigmentos amarillos y se encuentran en agua dulce y salada. Estas algas producen piranoides, poseen pocos cloroplastos y solo contienen clorofila a y c. Se adaptan al medio ambiente, pudiendo ser fototróficas, heterotróficas y fagotróficas según las condiciones del entorno (92).

#### **2.6.3.5 Euglenofíceas**

Se conocen alrededor de 800 especies de euglenoides, que son algunas de las algas de mayor tamaño. Aunque son unicelulares, algunas pueden presentar hasta dos flagelos. Estas algas pueden sobrevivir tanto en agua dulce como salada y cuentan con cloroplastos y piranoides. Además, tienen la capacidad de absorber moléculas orgánicas como el acetato del entorno, lo que las convierte en organismos mixótrofos. Su reproducción se lleva a cabo principalmente por mitosis (93).

#### **2.6.3.6 Diatomeas**

Se han descrito alrededor de 12,000 especies de diatomeas, aunque algunos autores sugieren que este número podría incrementarse hasta alcanzar las 100,000. Estas algas son unicelulares y autotróficas fotosintéticas, con la capacidad de habitar en casi cualquier ambiente marino y de vivir en simbiosis con otros organismos. Debido a su abundancia, se estima que representan la mitad de la biomasa fitoplanctónica y se les atribuye la producción del 20% del oxígeno del planeta. Además, se cree que juegan un papel en la producción de petróleo (94).

Las diatomeas, o *Diatomeae*, se clasifican en dos grandes grupos: centradas y pennadas. Las diatomeas centradas se caracterizan por tener una pared celular de sílice con simetría radial o trómera. En contraste, las diatomeas pennadas presentan una simetría bilateral y una forma alargada. Actualmente, las diatomeas se agrupan en cuatro clases principales: Coscinodiscophyceae, Mediophyceae, Fragilariophyceae y Bacillariophyceae (95).

Dentro de la estructura de las diatomeas, se destaca su pared celular, la cual contiene sílice y forma estructuras conocidas como frústulas.

Estas algas unicelulares poseen una membrana celular, así como varios organelos, entre ellos el núcleo, cloroplastos, mitocondrias, retículo endoplásmico, aparato de Golgi y diversas vesículas, incluyendo peroxisomas, cuerpos lipídicos, vesículas de depósito de sílice y vesículas para el almacenamiento de carbohidratos, como la crisolaminarina. Las diatomeas son especialmente notables por su producción de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, como el ácido eicosapentaenoico. Además, están adaptadas para protegerse de factores como el exceso de luz, ya que sus cloroplastos contienen carotenoides como la diatoxantina y la diadinoxantina. Para su crecimiento, las diatomeas necesitan nutrientes como agua, nitrógeno, fósforo, carbono, silicio y metales traza, tales como zinc, cobre, cobalto, molibdeno y manganeso. Además, es esencial que el medio en el que habitan también contenga vitaminas como la cianocobalamina, biotina y tiamina (94).

Las diatomeas han tenido un gran impacto debido a sus características metabólicas y fisiológicas, las cuales están siendo aprovechadas en diversas industrias, especialmente en el área biomédica. Se ha reportado que estas algas producen múltiples metabolitos que han demostrado tener efectos antidiabéticos, antihipertensivos y antiobesidad (96).

#### **2.6.4 Metabolitos primarios y secundarios**

El metabolismo abarca todas las reacciones químicas que ocurren en un organismo vivo y que son esenciales para la vida. Incluye procesos como la ingesta de alimentos en la dieta, la digestión de sus componentes complejos, la absorción, el almacenamiento y la distribución de la energía. Se divide en dos procesos principales: el catabolismo, que implica la degradación de macromoléculas complejas en moléculas más simples, y el anabolismo, que se refiere a la biosíntesis de macromoléculas complejas (97).

Un metabolito se define como un compuesto intermediario o producto de una reacción enzimática. Los metabolitos primarios son aquellos compuestos necesarios para los procesos funcionales y biológicos, como el crecimiento, desarrollo y reproducción (98). Los metabolitos primarios vitales para el sostenimiento humano son los carbohidratos, proteínas, lípidos, vitaminas y ácidos nucleicos. Por otro lado, los metabolitos secundarios son moléculas sintetizadas por organismos que no son necesarias para su crecimiento, pero sí juegan un papel importante en su supervivencia. Los metabolitos secundarios generalmente se producen cuando el organismo se somete a un estado de estrés, como cambios en la temperatura, luz, lesiones físicas o químicas. También se producen en respuesta a otros organismos, como insectos, animales, microorganismos (bacterias, virus, hongos y parásitos). Estructuralmente, estos compuestos son muy diversos y suelen ser producidos por un grupo muy reducido de organismos (99).

##### **2.6.4.1 Polisacáridos**

Los polisacáridos sirven a las microalgas tanto como componente estructural para la pared celular como para almacenar energía que utilizan en su metabolismo. Además, estos carbohidratos les ayudan en situaciones de supervivencia, como cuando quedan expuestas a la

oscuridad. La cantidad de carbohidratos producidos dependerá del tipo de microalga y de las condiciones a las que estén sometidas, tales como salinidad, temperatura, pH, entre otros factores. Ejemplos de polisacáridos producidos por microalgas incluyen los betaglucanos, el paramilón y la crisolaminarina.

Algunas microalgas tienen un alto contenido de polisacáridos y oligosacáridos en forma de fibra soluble e insoluble, los cuales están relacionados con la actividad prebiótica. Además, se cree que los carbohidratos de las microalgas podrían usarse como suplemento coadyuvante en el control de los niveles de glucosa en diabéticos (82).

#### **2.6.4.2 Pigmentos**

Son metabolitos secundarios responsables del color de los organismos, participan en la fotosíntesis recolectando la energía luminosa necesaria y otorgan protección contra el estrés oxidativo. Estos pigmentos ya se utilizan en el área biomédica y, según algunos estudios, podrían emplearse como tratamientos similares a los antivirales. Entre las principales sustancias se destacan los carotenoides, la astaxantina y las ficobiliproteínas (aloficocianina y ficocianina (96). Los carotenoides, que incluyen carotenos y xantofilas, son pigmentos solubles en lípidos que otorgan colores púrpura, rojo, naranja y amarillo a los organismos. La luteína ha despertado interés en los investigadores por sus propiedades antienvjecimiento, anti-cardiovasculares y anticancerígenas. La astaxantina, por su parte, se relaciona con una alta capacidad antioxidante (100).

#### **2.6.4.3 Péptidos**

Las microalgas producen aminoácidos esenciales que los humanos no pueden sintetizar. Sus proteínas son importantes para su estructura y metabolismo, y tienen la capacidad de

producirlas en grandes cantidades. Otras microalgas tienen la propiedad de integrar el nitrógeno en sus proteínas, lo que les permite utilizar estas proteínas como fuente de nitrógeno en situaciones de escasez (8, 82). Algunas microalgas producen péptidos que inhiben la replicación viral, como el péptido SM sintetizado por *Spirulina máxima*, el cual tiene efecto antiviral contra el VIH.

También existen proteínas que interfieren en otros procesos, como en el caso de *Nannochloropsis oculata*, que produce una proteína que afecta la actividad de la actina y aumenta la actividad del sistema inmunológico (101).

#### **2.6.4.4 Polifenoles**

Los fenoles son moléculas secundarias que presentan un anillo aromático al que se unen grupos hidroxilos como sustituyentes. Las microalgas producen estos compuestos como mecanismos de defensa contra factores externos como la salinidad, la radiación ultravioleta, la luz o la disponibilidad de nutrientes. Por otro lado, los flavonoides son polifenoles con un esqueleto básico de 15 carbonos, que consta de dos anillos de benceno unidos por una cadena lineal de tres carbonos. Se les atribuyen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, vasorrelajantes, anticoagulantes, antidepresivas, entre otras (102, 103).

#### **2.6.4.5 Lípidos**

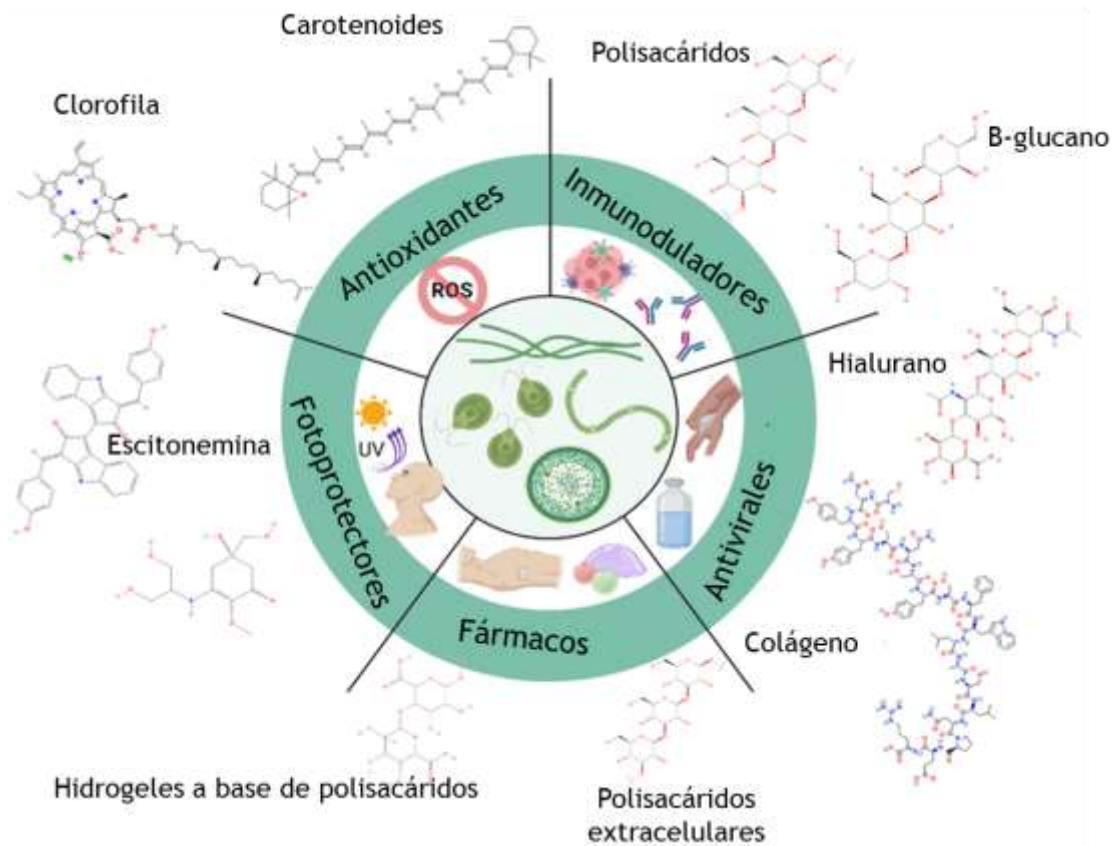
Las microalgas exhiben una amplia variedad de lípidos, muchos de los cuales forman parte de su estructura celular. Entre estos lípidos se encuentran los fosfolípidos, esteroides, lipoproteínas, glucolípidos, galactolípidos y ácidos grasos poliinsaturados, estos últimos han despertado un gran interés como suplemento en la alimentación humana. Las microalgas utilizan los lípidos como componentes estructurales de las membranas plasmáticas y como reservorios

secundarios de energía. La mayoría de ellas tienen un alto contenido de lípidos, que puede oscilar entre el 50% y el 70% de su composición. Estos lípidos incluyen ácidos grasos saturados e insaturados, típicamente de alrededor de 16 y 18 carbonos. La producción de lípidos en las microalgas está influenciada por condiciones ambientales como la salinidad, temperatura, pH y disponibilidad de nutrientes (8).

### **2.6.5 Actividades biológicas de las microalgas**

Actualmente, los metabolitos son objeto de estudio debido a sus propiedades que impactan en la salud. En este sentido, el estudio de los diferentes componentes de microalgas ha cobrado fuerza en los últimos años, ya que investigaciones han revelado que debido a sus condiciones ambientales tienen la capacidad de sintetizar compuestos con distintas actividades biológicas, como el potencial antioxidante, el cual está relacionado a otra gran cantidad de enfermedades por lo que el estudio de su potencial anticancerígeno, antihiper glucemiante, antiviral, antihipertensivo, entre otras, ha sido fuertemente estudiados (Figura 6) (8, 9).





**Figura 8. Aplicaciones de los compuestos derivados de microalgas.** Los metabolitos derivados de microalgas se han utilizado en áreas biotecnológicas y farmacéuticas debido a sus notables propiedades, que incluyen actividades antioxidantes, anticancerígenas, anti-envejecimiento, antiinflamatorias, inmunoduladoras y antimicrobianas. Adaptado de Martínez (2022) (104).

### **2.6.5.1 Potencial antiviral**

En los últimos años, las microalgas han surgido como candidatas para la producción de compuestos antivirales debido a su capacidad para sintetizar moléculas que son difíciles de producir artificialmente por el ser humano. En las microalgas se han identificado una variedad de compuestos con actividad antiviral, tales como lectinas, polisacáridos, péptidos, pigmentos, proteínas, flavonoides, polifenoles y glucolípidos, los cuales han demostrado tener una alta actividad contra virus (105). Los virus aprovechan la interacción de las lectinas con carbohidratos como la manosa para acceder al interior de la célula. Por eso, esta es una de las principales estrategias para combatirlos. Algunas lectinas de microalgas tienen actividad anti-VIH, VHC y VHS. Por ejemplo, *Dunaliella* produce betacaroteno, que inhibe los niveles de óxido nítrico y citoquinas, además de participar en vías de señalización como la vía JAK/STAT. *Hematococcus pluvialis* produce grandes cantidades de astaxantina, la cual tiene efecto antioxidante contra algunos virus como el virus de la mancha blanca. También se ha reportado que *Spirulina* o *Ankistrodesmus convolutus* pueden inhibir proteínas del virus Epstein Barr; sin embargo, esto ha sido relacionado con pigmentos no relacionados de las microalgas (105). Recientemente, un estudio demostró que los péptidos derivados de hidrolizados proteicos provenientes de *Phaeodactylum tricornutum* tienen actividad contra el virus del dengue del serotipo 2. Estos péptidos, con un peso molecular de 10-30 kDa, redujeron significativamente el porcentaje de células infectadas y los títulos virales, sin provocar citotoxicidad (106).

### **2.6.5.2 Potencial antibacteriano**

Los compuestos de las microalgas estudiados en los últimos años muestran un gran potencial debido a su capacidad para actuar contra microorganismos patógenos. La investigación se ha centrado en compuestos con propiedades antimicrobianas, especialmente

dada la creciente preocupación por la resistencia a los antibióticos. Por esta razón, se está buscando activamente compuestos naturales que puedan ser utilizados para combatir bacterias u otros tipos de patógenos (107).

Dentro de los compuestos pertenecientes a las microalgas, se han atribuido propiedades antibacterianas a diversos tipos de moléculas. Entre ellos se incluyen ácidos grasos de cadena corta y larga, tanto monoinsaturados como insaturados. Además, se han identificado una variedad de otros compuestos químicos con potencial antibacteriano, como fenoles, terpenos, pigmentos e indoles, acrogeninas, alcaloides, macrólidos, péptidos e hidrocarburos halogenados volátiles. Estos compuestos muestran promesa en la lucha contra las bacterias y representan áreas de interés continuo en la investigación antimicrobiana (108).

Dentro de los compuestos de naturaleza lipídica se encuentran el ácido butanoico de clorelina, el ácido docosa-pentaenoico, el ácido eicosapentaenoico, el ácido hexadecatrienoico y el  $\alpha$ -linolénico. Estos compuestos se han encontrado en microalgas como *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella primolecta* y *Phaeodactylum tricorutum*, entre otras (109, 110). También se han reportado pigmentos como carotenoides derivados de la clorofila a (Feofitina a y clorofilida a), así como ficobiliproteínas en la microalga *Isochrysis galbana*. Además, se encuentran compuestos como ácido acrílico, éster, neofitadieno,  $\beta$ -ciclocitral, fitol, lactato de metilo, éster de transfitol,  $\alpha$ - y  $\beta$ -ionona, entre otros, pertenecientes a especies como *Dunaliella salina*, *Navicula delognei*, *Haslea ostrearia* o *Phaeocystis sp.* (111).

### **2.6.5.3 Potencial anticancerígeno**

Uno de los principales retos que enfrenta el área farmacéutica es encontrar medicamentos eficaces contra el cáncer. En este contexto, las microalgas están generando interés y se está investigando su potencial. Por ello, ya se encuentran en el mercado algunos medicamentos de

origen marino. A pesar de que la búsqueda de compuestos oceánicos es muy reciente, se han realizado avances tecnológicos en el cultivo de micro y macroorganismos, así como en el descubrimiento de nuevas especies (111).

Se han encontrado carotenoides con actividad antiproliferativa, como violaxantina, antheraxantina y zeaxantina, en especies como *C. ellipsoidea* y *C. vulgaris*. Aldehídos poliinsaturados en *Thalassiosira rotula*, *S. costatum* y *P. delicatissima* han mostrado actividad antiproliferativa en la línea celular de adenocarcinoma de colon humano (Caco-2). Asimismo, el ácido eicosapentaenoico de *Cocconeis scutellum* ha demostrado influir en la apoptosis en una línea de células tumorales de cáncer de mama (BT20). Existen otros compuestos reportados que son muy prometedores, como el NAMO (Nonil 8-acetoxi-6-metiloctanoato) obtenido de *Phaeodactylum tricornutum*, el cual fue probado en una línea celular de leucemia promielocítica humana (HL-60), una línea celular de carcinoma de pulmón humano (A549) y una línea celular de melanoma de ratón (B16F10), así como monogalactosil glicerolés en células epiteliales de ratón inmortales (W2 y D3) (112-115).

#### **2.6.5.4 Potencial antioxidante**

Se ha buscado atender la producción de radicales libres mediante el consumo de alimentos con antioxidantes para tratar de evitar enfermedades mediadas por el estrés oxidativo. Las microalgas han despertado interés porque tienen la capacidad de vivir en un medio altamente oxidante y posiblemente sean candidatas a productoras de moléculas antioxidantes (8). Se ha informado que los carotenoides procedentes de microalgas tienen una actividad antioxidante mucho mayor que las plantas. Por ejemplo, la fucoxantina, en un estudio in vitro, mostró ser hasta 13 veces más efectiva que el  $\alpha$ -tocoferol y la vitamina E. Del mismo modo, la astaxantina mostró una mayor capacidad antioxidante que la vitamina C y el  $\alpha$ -tocoferol (116). Los

compuestos fenólicos también han sido estudiados; sin embargo, no se ha establecido claramente su mecanismo antioxidante.

Contrario a esto, a los péptidos se les ha dado mucha importancia debido a que poseen otras actividades. Se han realizado estudios *in vitro* o en células para analizar sus propiedades antioxidantes. Hasta el momento, las microalgas estudiadas por esta actividad son *Chlorella*, *Navicula*, *Tetraselmis* y *Nitzschia* (117).

#### **2.6.5.5 Potencial antiinflamatorio**

La propiedad antiinflamatoria también es de interés, ya que existen extractos de microalgas que han exhibido buena actividad. Estos extractos han actuado contra la producción de citoquinas y eicosanoides proinflamatorios, e incluso han reducido la expresión de genes proinflamatorios (8). Dentro de los compuestos estudiados se encuentran ácidos grasos omega como EPA y DHA. Se ha encontrado ácido docosapentaenoico en *Schizochytrium sp.*, el cual tuvo la capacidad de inhibir la secreción estimulada por lipopolisacáridos de interleucina (IL)-1 beta y factor de necrosis tumoral alfa en células mononucleares de sangre periférica humana (118). Se sabe que los carotenoides tienen propiedades antiinflamatorias, y debido a eso, la astaxantina ha despertado el interés de los investigadores. En un estudio *in vitro* con *Haematococcus pluvialis*, se demostró su capacidad antiinflamatoria, mostrando un efecto mayor que la prednisolona, un fármaco ya utilizado para tratar la inflamación (119).

Otros compuestos de interés son los polisacáridos sulfatados. Estos han sido estudiados en *Porphyridium* (Rhodophyta), *Phaeodactylum* (Diatomea) y *Chlorella* (Chlorophyta), obteniendo buenos resultados. En particular, *Phaeodactylum tricornutum* mostró un efecto estimulante directo sobre las células inmunes (120, 121).

### 2.6.5.6 Potencial antihipertensivo

La mayoría de los fármacos existentes están diseñados para inhibir la actividad de la ECA, por lo que la mayoría de los estudios relacionados con microalgas se han centrado en la búsqueda de compuestos capaces de inhibir enzima. (8). Los estudios sobre el potencial antihipertensivo iniciaron hace aproximadamente 43 años con un informe de Miyakoshi y colaboradores (1980), quienes encontraron que *Chlorella* logró disminuir la presión arterial al intervenir en la regulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (122). Años después, Murakami (1987) reportó que la ingesta de *Chlorella* también conducía a la disminución de la presión arterial (123). Suetsuna y colaboradores (2001) realizaron ensayos *in vivo* utilizando ratas espontáneamente hipertensas (SHR) para explorar su potencial antihipertensivo, donde encontraron que las digestiones de péptidos de las microalgas *Chlorella vulgaris* y *Spirulina platensis* tenían propiedades antihipertensivas (124).

Asimismo, Lu y col. (2010) aislaron y purificaron un péptido de *Spirulina platensis* (Ile-Gln-Pro) e investigaron su efecto antihipertensivo evaluando el patrón de inhibición en ECA y en SHR (125). El análisis cinético del péptido aislado mostró ser un inhibidor competitivo con una alta resistencia a la degradación por proteasas gastrointestinales. En los ensayos *in vivo*, con la administración oral del péptido Ile-Gln-Pro en SHR, la PAS y PAD disminuyeron significativamente después del tratamiento, por lo que con los resultados del estudio, estos autores proponen al péptido de *Spirulina platensis* como un compuesto promisorio con potencial para ser utilizado en la prevención y el tratamiento de la hipertensión (125).

Las microalgas del género *Chlorella* han mostrado buenos resultados en relación con las propiedades antihipertensivas. Es por ello por lo que Ko y col. (2012) realizaron un estudio para investigar si un péptido de *Chlorella ellipsoidea* podría inhibir la ECA. Aislaron un péptido de

cuatro aminoácidos (Val-Glu-Gly-Tyr) y probaron su efecto antihipertensivo en SHR. Basados en los resultados obtenidos, sugieren que el péptido purificado actúa como un inhibidor competitivo contra la ECA. Además, la administración oral del péptido en SHR reveló una influencia en la disminución de la PAS (126).

En este mismo sentido, otras especies de microalgas han sido analizadas con el fin de encontrar compuestos antihipertensivos. Tal es caso del estudio realizado por Samarakoon y col. (2013), quienes se interesaron en encontrar péptidos provenientes de *Nannochloropsis oculata* para la inhibición de ECA. En este estudio, a través de un análisis de la purificación de los péptidos de la biomasa de la microalga, obtuvieron dos nuevos péptidos, Gly-Met-Asn-Asn-Leu-Thr-Pro (GMNNLTP; MW, 728 Da) y Leu-Glu-Gln (LEQ; MW, 369 Da), los cuales mostraron una alta inhibición de la ECA. Sus resultados sugirieron que los péptidos de *Nannochloropsis oculata* serían viables para usarse comercialmente como agentes inhibidores de la ECA (127).

Por otro lado, Wu y colaboradores (2015) fueron los primeros en tratar de encontrar un péptido proveniente de *Isochrysis galbana* que pudiera inhibir a la ECA. En su estudio, mediante espectrometría de masas, lograron identificar el péptido que tenía la mayor inhibición, de modo no competitivo en ECA (Tyr-Met-Gly-Leu-Asp-Leu-Lys). Con estos resultados, se fortalece la evidencia de que se pueden utilizar las proteínas de microalgas marinas como fuente de péptidos con la capacidad de inhibir a la ECA (128).

En investigaciones sobre los efectos de *Spirulina sp.* en la hipertensión, Yeong y col. (2017) obtuvieron un péptido de la microalga para observar si podía inhibir la ECA. Para ello, se apoyaron del modelado molecular, sugiriendo que el péptido puede inhibir la enzima de manera no competitiva. De igual forma, inhibe la producción de óxido nítrico, especies reactivas

de oxígeno, endotelina-1. Por lo tanto, el péptido de *Spirulina* sp tiene propiedad antihipertensiva y podría utilizarse en la inhibición de la disfunción vascular (124, 129).

El alga roja *Gracilariopsis lemaneiformis* no había sido estudiada, por lo que Cao y col. (2017) realizaron un estudio *in vitro* para aislar péptidos que pudieran actuar en la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I. En su investigación, llevaron a cabo el hidrolizado de proteínas con tripsina, flavourzyme, papaína y proteasa alcalina, y para conocer la masa y secuencia de péptidos utilizaron MALDI-TOF/TOF-MS y MALDI-TOF/TOF-MS/MS (130). El péptido Gln-Val-Glu-Tyr resultante del hidrolizado mostró la mayor inhibición en ECA, concluyendo que la microalga *Gracilariopsis lemaneiformis* podría emplearse como fuente alimenticia de péptidos bioactivos para tratar la hipertensión (130).

En otro estudio, Montone y col. (2018) se enfocaron en aislar péptidos de *Tetrademus obliquus*, probando varias metodologías de extracción para asegurarse de tener el mejor método que garantizara una buena recuperación de proteína y una buena facilidad de uso, lo cual no se había implementado en ninguno de los anteriores estudios. Llevaron a cabo una purificación e identificación por cromatografía líquida RP bidimensional y RP nano LC-MS/MS, obteniendo aproximadamente 500 secuencias de péptidos. Posteriormente, realizaron un análisis *in silico*, obteniendo 25 péptidos con propiedades antihipertensivas y antioxidantes, de los cuales eligieron cuatro péptidos (WPRGYFL, GPDRPKFLGPF, WYGPDRPKFL, SDWDRF) para probar *in vitro* la capacidad antioxidante e inhibidora de la ECA los cuales mostraron valores significativo (131).

Xue y col. (2018) realizaron un análisis de acoplamiento molecular y ensayos de calorimetría de titulación isotérmica, donde identificaron dos nuevos péptidos en *Chlorella vulgaris* con una alta capacidad inhibitoria en la ECA. Mediante análisis *in silico*, los péptidos



Thr-Thr-Trp (TTW) y Val-His-Trp (VHW) mostraron estabilidad contra la digestión gastrointestinal y la hidrólisis de la ECA. Estos péptidos fueron administrados en SHR para evaluar su capacidad antihipertensiva, y fue el péptido VHW el que mostró mayor estabilidad con la ECA. Por lo tanto, sugieren que son candidatos idóneos para su uso en el área nutraceútica (132).

En otra investigación, Chen y col. (2020) exploraron la propiedad hipertensiva de *Isochrysis zhanjiangensis* en células endoteliales de la vena umbilical humana. Los resultados de su estudio revelaron que un péptido derivado de *Isochrysis zhanjiangensis* tenía la capacidad de unirse a la ECA de manera no competitiva. Además, este péptido influyó en la inhibición y secreción del factor vascular inducido por la angiotensina II. Como conclusión, sugirieron que el péptido derivado de la microalga podría ser utilizado como agente terapéutico para tratar la hipertensión (133).

Recientemente, Ghaem y cola. (2021) llevaron a cabo un estudio clínico aleatorizado triple ciego para evaluar el potencial antihipertensivo y antihiperlipidémico de la salsa de espirulina (*Arthrospira platensis*). El estudio incluyó a 41 pacientes hipertensos, a quienes se les suministró durante dos meses un aderezo para ensaladas que contenía 2 g de polvo de espirulina, mientras que a otros se les administró un aderezo con placebo. Los resultados mostraron que el consumo del aderezo fortificado con espirulina redujo significativamente la PAS y la PAD, así como los niveles de colesterol total, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL). Los investigadores concluyeron que el aderezo fortificado con espirulina puede ser utilizado como tratamiento de apoyo para la hipertensión. Sin embargo, destacaron la necesidad de realizar más investigaciones para obtener conclusiones más sólidas (134).

Como se ha mencionado anteriormente, se ha investigado el potencial antihipertensivo en varias especies de microalgas, obteniendo buenos resultados en algunos de estos estudios. Recientemente, *Phaeodactylum tricornutum* ha sido objeto de investigación para determinar si posee propiedades antibacterianas, anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes. Los resultados obtenidos han sido prometedores en relación con estas actividades biológicas. Sin embargo, hasta la fecha, no se han reportado estudios que evalúen si esta microalga posee actividad antihipertensiva (109, 115, 120).

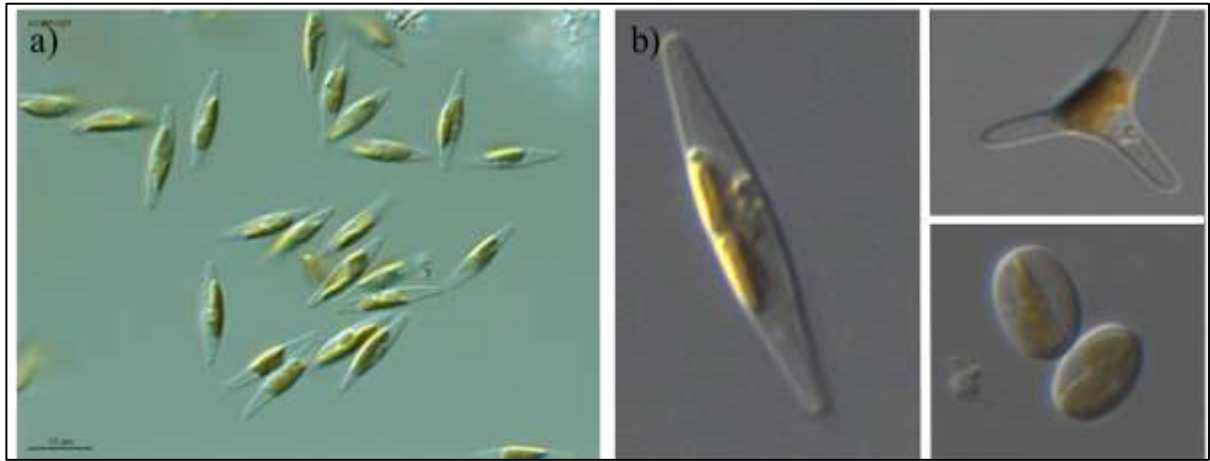
## **2.7 *Phaeodactylum tricornutum***

Son organismos eucariotas pertenecientes a la clase Bacillariophyceae, orden Naviculales, familia Phaeodactylaceae, siendo el único miembro descrito del género *Phaeodactylum* y de la especie *tricornutum* (135). Dentro de las diatomeas, es una de las especies que está siendo estudiadas con mayor atención. Su genoma fue secuenciado por completo desde el año 2008 y tiene la propiedad de crecer en aguas salobres a salinas. Su distribución es global; se encuentra en diversos océanos y mares, incluyendo el Pacífico, Atlántico, Índico, Ártico, Mediterráneo, Mar del Norte y el Mar de China Meridional (10).

El genoma de *P. tricornutum* tiene una longitud de 27.4 Mb, organizado en 33 cromosomas, y se predicen alrededor de 12,233 genes. De estos, 3,170 genes son exclusivos de la especie. Su genoma constituye una combinación de genes y vías metabólicas compartidas entre el reino animal y vegetal (136).

*P. tricornutum* es una microalga que pertenece al grupo de las diatomeas, con morfología principalmente fusiforme y oval (Figura 7), aunque ocasionalmente puede presentarse en forma trirradiada y raramente en cruciforme. Su estructura carece de silicato, lo cual es una ventaja en términos de costos para su estudio, ya que no se requiere silicio para su crecimiento (109).

Según Reboloso y Navarro (2000), *P. tricornutum* tiene un contenido de aproximadamente 36.4% de proteína cruda, 26.1% de carbohidratos, 18.0% de lípidos, 15.9% de ceniza y 0.25% de detergente neutro en base al peso seco en condiciones normales de crecimiento (110).



**Figura 9. Morfología de *Phaeodactylum tricornutum*.** *P. tricornutum* en su morfología más representativa (a). La tres morfologías que se han caracterizado en la especie hasta el presente día: Fusiforme, oval y trirradiada (b) (137, 138).

### 2.7.1 Cultivo de *Phaeodactylum tricornutum*

El cultivo de *P. tricornutum* varía según el objetivo de su obtención. Existen cultivos aislados, generalmente para el estudio de la microalga, y cultivos en exteriores, que generalmente tienen un fin industrial. También se pueden clasificar los cultivos según su continuidad en estáticos, semicontinuos y continuos. Los cultivos estáticos se utilizan para bioensayos, caracterizándose por iniciar con un inóculo único al cual se le proporciona el medio de cultivo y se lleva hasta la fase exponencial para obtener un volumen final, que es utilizado para la obtención de biomasa. Por su parte, los cultivos semicontinuos se diluyen en un punto del proceso, retirando una parte del cultivo y sustituyéndola con medio de cultivo nuevo, siendo útiles para producir grandes volúmenes. Los cultivos continuos se utilizan para procesos que duran mucho tiempo, en los cuales constantemente se está retirando cultivo y al mismo tiempo se adiciona medio de cultivo nuevo (139).

El crecimiento de las microalgas, específicamente hablando de *P. tricornutum*, requiere condiciones adecuadas de luz, temperatura, agitación, salinidad y nutrientes. Al ser una microalga fotoautótrofa, la luz utilizada en su cultivo se encuentra dentro del espectro visible. La temperatura juega un papel crucial en las reacciones metabólicas, y la temperatura óptima para su cultivo se encuentra entre los 15 y 22 grados Celsius. La agitación se realiza mediante bombas de aire con la finalidad de que la microalga se distribuya junto con los nutrientes. La salinidad afecta directamente el crecimiento de *P. tricornutum*, ya que es una microalga halófila (140). Los nutrientes se administran en el medio de cultivo seleccionado, incluyendo nitrógeno, fósforo, algunos silicatos y micronutrientes como hierro, azufre, calcio, sodio, magnesio, manganeso, molibdeno y cobalto, así como vitaminas como la tiamina y la biotina.

Algunos de los medios de cultivo que se pueden utilizar son Walne, ES, Algal-1 y f/2, siendo este último el más utilizado para experimentos de laboratorio debido a que cumple con los requerimientos de la especie de microalga (141).

### **2.7.2 Aplicaciones de *Phaeodactylum tricornutum***

*P. tricornutum* es una diatomea productora de compuestos que se consideran beneficiosos para la salud, como el EPA, la catequina y la fucoxantina. La fucoxantina destaca por su actividad antiinflamatoria, antioxidante, antiobesidad y anticancerígena. Además, esta microalga tiene la capacidad de producir diez veces más fucoxantina que cualquier macroalga, lo que la hace idónea para su comercialización. Gracias a estas características, así como a otras propiedades, *P. tricornutum* ha sido utilizada en el área nutracéutica y farmacéutica, incluso en la producción de anticuerpos monoclonales (142). También es productora de compuestos antimicrobianos y antifúngicos, los cuales podrían llegar a sustituir productos químicos que actualmente son ineficientes para tratar enfermedades (143).

*P. tricornutum* posee una tasa de división rápida, lo que le permite acumular grandes cantidades de biomasa con buena viabilidad de preservación criogénica. Para su cultivo óptimo, requiere condiciones específicas de luz y temperatura. Cuando se cultiva con poca luz, las cantidades de fucoxantina y EPA tienden a ser más altas, mientras que en condiciones de alta luz se produce una mayor cantidad de componentes de almacenamiento, como crisolaminarina y triacilglicéridos (144). Aunque *P. tricornutum* es un organismo fotoautótrofo, es capaz de crecer mixotróficamente en medios que contienen glucosa, acetato, fructosa y glicerol. Entre estos, el glicerol es el sustrato más adecuado, ya que proporciona carbono orgánico que la microalga aprovecha para producir altas cantidades de biomasa y EPA (145).

Por todas las características mencionadas anteriormente y su capacidad para producir una variedad de lípidos, incluidos ácidos grasos y aminoácidos, *P. tricornutum* ha despertado un gran interés en diversas industrias. Se utiliza en la acuicultura, la producción de biocombustibles y en el ámbito biomédico se considera como un organismo viable para la producción de compuestos bioactivos (146).

## **2.8 METABOLÓMICA**

La metabolómica, parte integral de las ómicas, se define como el estudio científico de los procesos químicos que producen y consumen las moléculas pequeñas (metabolitos), que sirven tanto de material de construcción como de fuente de energía y medio de comunicación para las células. Utiliza técnicas de química analítica en conjunto con métodos estadísticos complejos para caracterizar integralmente al metaboloma (147). El metaboloma comprende todo el conjunto de metabolitos en un orgánulo, célula, tejido, biofluido u organismo, y modula e interactúa con todos los demás niveles ómicos (147, 148).

### **2.8.1 Perfil metabolómico**

La medición del metaboloma constituye uno de los tres pasos fundamentales de la metabolómica (149). Se define el perfil metabolómico como un análisis exhaustivo de los metabolitos presentes en un organismo, célula o tejido, el cual nos proporciona información detallada sobre el estado fisiológico y bioquímico del sistema. Este perfil contribuye a comprender rutas metabólicas y mecanismos biológicos que subyacen a procesos como el metabolismo energético, respuesta al estrés, y las alteraciones asociadas a las enfermedades (150). El perfil metabolómico se lleva a cabo principalmente mediante resonancia magnética nuclear (RMN) o espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés). La MS se destaca por su mayor sensibilidad y su capacidad para adaptarse a diversas técnicas, como métodos

cromatográficos y tecnologías de separación masa/carga, lo que le permite medir una gama más amplia de metabolitos de moléculas pequeñas tales como ácidos orgánicos, aminoácidos, lípidos y azúcares (151). El perfil metabolómico puede ser dirigido cuando se perfilan metabolitos de entidad conocida y no dirigido cuando se quieren comparar dos estados biológicos o clínicos, se utiliza RMN y MS para medir en una muestra todos los metabolitos que sean posibles. Para estudiar compuestos por medio de espectrometría de masas se suele combinar con técnicas de separación de analitos como la cromatografía líquida (152).

### **2.8.1.1 Cromatografía líquida**

La cromatografía líquida, un conjunto de técnicas utilizadas para separar y purificar muestras, destaca por su rapidez y precisión. Esta técnica comienza con la inyección de una muestra líquida en una fase móvil que atraviesa una columna que contiene una fase estacionaria. La separación de las moléculas de la muestra depende de los distintos grados de retención entre los componentes de la columna (153).

El sistema que conforma la cromatografía líquida se compone por un depósito de disolventes, bomba, inyector de la muestra, columnas y un detector (Figura 8).

#### **2.8.1.1.1 Depósito del disolvente**

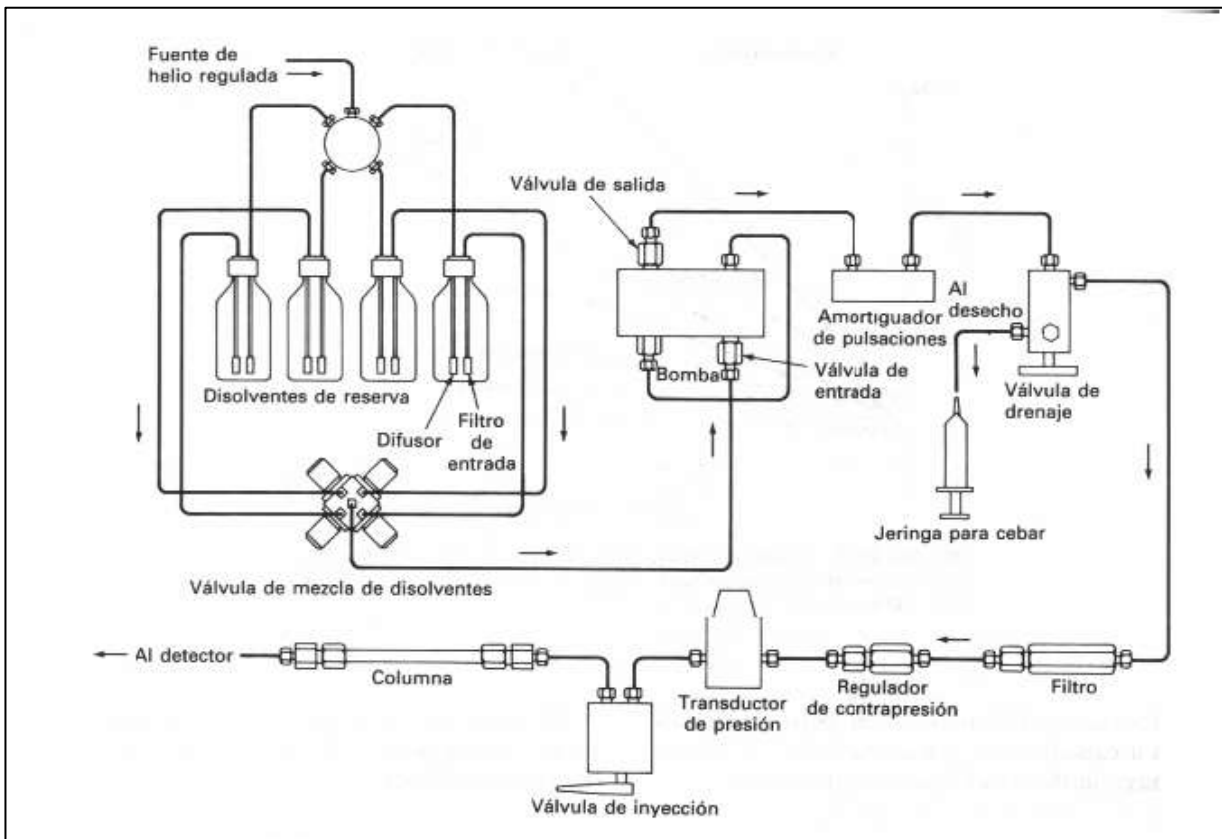
La fase móvil se contiene en un depósito de material de vidrio y generalmente consiste en una mezcla de elementos líquidos polares y no polares, las concentraciones de estos elementos varían según la naturaleza de la muestra. Es fundamental considerar el tipo y los componentes de la fase móvil, ya que influyen en la separación de los compuestos (153).



#### **2.8.1.1.2 Bomba de HPLC**

Desempeña un papel crucial al impulsar el movimiento de la fase móvil hacia el sistema de cromatografía líquida a una velocidad de flujo específica. Este proceso comienza con el traslado de la fase móvil desde el depósito de disolvente hacia la columna y el detector.

Es crucial que la bomba tenga la capacidad de adaptarse a cambios en la velocidad y la presión del flujo de la fase móvil. Los límites de presión pueden ajustarse según los requisitos del análisis, variando típicamente entre 2000 psi y 18000 psi. En cualquier modalidad de HPLC, la presencia de una bomba es esencial para circular la fase móvil hacia el sistema inyector, proporcionando un flujo constante de fase móvil a la columna bajo una presión constante (154).



**Figura 10. Componentes de la cromatografía líquida (HPLC).** El sistema que conforma la cromatografía líquida se compone de un depósito de disolventes, una bomba, un inyector de muestras, columnas y un detector. El depósito de disolventes almacena las fases móviles que transportarán la muestra a través del sistema. La bomba impulsa la fase móvil a una presión constante, asegurando un flujo uniforme. El inyector de muestras introduce la muestra en la fase móvil de manera precisa y controlada. Las columnas, que contienen la fase estacionaria, son donde se realiza la separación de los componentes de la muestra según sus interacciones con la fase móvil y la fase estacionaria. Finalmente, el detector identifica y cuantifica los componentes separados a medida que salen de la columna, permitiendo su análisis y caracterización (155).

### **2.8.1.1.3 Columnas de HPLC**

Las columnas para HPLC, Suelen tener longitudes que oscilan entre 50 y 300 mm, con diámetros internos de 3 a 5 mm, y están fabricadas principalmente de acero inoxidable pulido. Estas columnas albergan una fase estacionaria y es esencial mantener la temperatura tanto de esta como de la fase móvil de manera constante. Su papel es crucial para lograr una separación efectiva de los componentes de la muestra, por lo que es fundamental seguir las recomendaciones de cuidado proporcionadas por el fabricante. Las precolumnas, situadas antes de la columna principal, tienen la importante función de eliminar partículas, contaminantes de solventes y componentes de la muestra que se han unido de forma irreversible a la fase estacionaria. Por lo general, las columnas analíticas tienen longitudes de entre 10 y 30 cm y pueden estar hechas de acero inoxidable o de materiales como tubos de vidrio de paredes gruesas, poliéster o éter cetona (156).

### **2.8.1.1.4 Detector**

Al final del sistema de cromatografía se ubica un detector que identifica los analitos a medida que eluyen por la columna cromatográfica. Entre los tipos de detectores utilizados se encuentran los de dispersión de luz por evaporación, espectroscopia, fluorescencia, detectores electroquímicos y de espectrometría de masas. La función principal de estos detectores es medir la cantidad de moléculas presentes, permitiendo así un análisis cuantitativo de los componentes de la muestra. El detector está conectado a un registrador o computadora, lo que permite obtener el cromatograma líquido, una representación gráfica de las señales detectadas a lo largo del tiempo (154).

#### **2.8.1.1.5 Tipos de HPLC**

Dependen del sistema de fases utilizado. Existen varios tipos, como la fase normal, la fase reversa, la exclusión de tamaño, el intercambio de iones y la cromatografía de bioafinidad. En la HPLC en fase normal, se emplea una fase estacionaria polar y una fase móvil no polar. Los analitos polares interactúan con la fase estacionaria polar y son retenidos por ella. Por otro lado, la HPLC en fase reversa utiliza una fase estacionaria no polar y una fase móvil ligeramente polar. La cromatografía por exclusión de tamaño, también conocida como cromatografía por filtración en gel, separa las moléculas principalmente por su tamaño. Esta técnica es ampliamente utilizada para determinar estructuras de proteínas o el peso molecular de carbohidratos. En la cromatografía de intercambio de iones, se produce la retención de iones del soluto debido a la atracción de sitios cargados en la fase estacionaria. Finalmente, la cromatografía de bioafinidad se basa en la interacción entre proteínas y ligandos. La columna contiene ligandos unidos covalentemente a un soporte sólido que posee una matriz de bioafinidad. Las proteínas se retienen al interactuar con estos ligandos (153).

#### **2.8.1.2 Espectrómetro de masas**

La espectrometría de masas, definida por sus siglas en inglés como (4), es un medio analítico para la anotación de datos metabolómicos los cuales se definen mediante características con relación masa-carga específica ( $m/z$ ), para identificar metabolitos candidatos con actividad biológica se realizan análisis estadísticos de conjuntos de datos metabolómicos por medio de softwares de detección y alineación de picos, el uso de bases de datos de metabolitos y bibliotecas espectrales ayudan para la anotación de características e identificación de metabolitos (148).

El espectrómetro de masas está compuesto por tres componentes principales: una entrada, un analizador de masas y un detector.

#### **2.8.1.2.1 Entrada de la muestra**

En la etapa de entrada, se introduce la muestra antes de su procesamiento en el espectrómetro de masas. Esta parte del sistema está diseñada para convertir las muestras en estado gaseoso mediante la aplicación de calor. Los espectrómetros de masas suelen estar conectados a equipos cromatográficos, los cuales se encargan de purificar las muestras antes de que pasen al espectrómetro de masas. Esta conexión entre los sistemas cromatográficos y el espectrómetro de masas permite un análisis más preciso y detallado de las muestras (157).

Entre los tipos de entradas utilizadas en espectrometría de masas se encuentran varias opciones. En primer lugar, están las entradas de vapor directo, donde la muestra se encuentra en estado gaseoso y se introduce directamente a la fuente mediante una válvula en forma de aguja. Otra opción es la entrada de inserción directa, que se utiliza para muestras líquidas o sólidas con baja presión de vapor. En este caso, la muestra se carga en un tubo capilar que permite que llegue a la fuente para su análisis. Además, se emplean técnicas de cromatografía de gases y líquidos para introducir las muestras en el espectrómetro de masas. Por último, existe la opción de la entrada de ionización directa de la muestra, donde las muestras que no tienen una presión de vapor significativa se ionizan directamente desde la fase condensada. Estas diversas opciones de entrada permiten adaptar el análisis de muestras a diferentes tipos de compuestos y condiciones (157).

#### **2.8.1.2.2 Métodos de ionización**

Después de que la muestra pasa por la entrada, se somete a procesos de fragmentación o ionización, dependiendo del tipo de análisis requerido. Hay diferentes técnicas de ionización, cada una adecuada para distintos tipos de muestras. En el método de ionización por impacto electrónico, se emplea un haz de electrones generado por un filamento.

Los iones resultantes son neutros eléctricamente al alcanzar el analizador de masas. El bombardeo atómico rápido es útil para compuestos con estructuras grandes y baja volatilidad, como ciertos carbohidratos o proteínas. En este proceso, las muestras se mezclan con una matriz no volátil, como éter o glicerol, y se bombardean con átomos de argón o xenón. Esto produce iones cargados, como aductos, que son capturados por el analizador de masas (158).

En el método MALDI (Ionización asistida por láser y matriz), las muestras se mezclan con una matriz que absorbe radiación láser en un campo de baja energía. La matriz transfiere un protón a la muestra, formando un ion neutro que ingresa al analizador de masas. Este enfoque a menudo se combina con la espectrometría de masas de tiempo de vuelo (159). Por último, el método de ionización por pulverización de electrones se utiliza en muestras líquidas. Estas se someten a un alto voltaje y presión atmosférica, y se les aplica un flujo continuo de gas que las degrada en gotas. Luego, bajo vacío, estas gotas se calientan y se generan iones con el flujo de gas aplicado, los cuales se aceleran hacia el analizador de masas (158).

#### **2.8.1.2.3 Analizador de masas**

Una parte esencial del espectrómetro de masas es su analizador, encargado de separar los iones según su relación masa-carga ( $m/z$ ). El analizador de cuadrupolo es el más comúnmente utilizado debido a su tamaño compacto y a su costo económico. Este dispositivo separa los iones

utilizando oscilaciones en un campo eléctrico, especialmente adecuado para el método de ionización por electrospray cuando los iones tienen una relación  $m/z$  de alrededor de 300. El sistema de cuadrupolo consiste en cuatro varillas metálicas paralelas, mantenidas a distancias uniformes entre sí y conectadas eléctricamente para generar un campo eléctrico. Los iones atraviesan este campo y se desplazan hacia adelante con un movimiento oscilatorio.

Por otro lado, el analizador de masas de tiempo de vuelo (159) genera iones mediante el bombardeo de la muestra con pulsos de electrones generados por láser. Aquí, los iones se separan según el tiempo que tardan en llegar al detector, sin necesidad de un campo magnético. El TOF puede emplearse con la ionización por electrospray y la espectrometría de masas por desorción de plasma, ofreciendo una alta precisión y mejorando la resolución en el análisis (160).

Otro tipo de analizadores son los de sector electrostático, donde los iones se separan mediante la creación de un campo eléctrico. Este analizador consiste en dos placas curvas con un potencial igual pero opuesto. Cuando los iones atraviesan este campo eléctrico, se desvían debido a la fuerza ejercida sobre ellos, la cual es igual a la fuerza centrípeta que experimentan. Asimismo, existen los analizadores con trampa de iones, en los cuales los iones son capturados mediante campos eléctricos dinámicos generados por corrientes continuas y constantes. En estos analizadores, se disponen varillas paralelas con electrodos, entre las cuales se coloca un electrodo de anillo en el centro. Los iones quedan atrapados en una trayectoria circular alrededor del electrodo de anillo (157).

#### **2.8.1.2.4 Detector**

Los iones que atraviesan un analizador de masas generan una señal que es captada por los detectores. La elección del detector se basa en la sensibilidad requerida, la velocidad, la

estabilidad y el espacio disponible. Los detectores de multiplicadores de electrones detectan los electrones secundarios generados cuando las partículas de iones primarios impactan en la superficie del detector. La intensidad de la señal depende de la energía del impacto. Estos detectores utilizan multiplicadores de dinodo discreto o continuo (157).

Por otro lado, los detectores de radiación utilizan un material llamado centellador, que puede ser un cristal transparente hecho de fósforo, plástico o líquido orgánico. Este material emite luz cuando es impactado por radiación ionizante. Otros tipos de detectores están diseñados para detectar iones de alta masa, utilizan dinodos de alta conversión de energía, que aumentan la emisión de iones secundarios de alta masa. Estos dinodos están recubiertos con un metal capaz de soportar altos voltajes. Los detectores criogénicos operan a bajas temperaturas y se utilizan en biología molecular para el análisis de secuencias cortas de ADN. Estos detectores pueden detectar partículas independientemente de su velocidad. Cuando se analizan muestras de iones con energía conocida, medir su velocidad ayuda a determinar su masa. Además, existen otros tipos de detectores como los detectores cuadrupolos en tándem, los detectores bipolares MALDI TOF y los detectores de MS flexar, cada uno con sus propias aplicaciones y características específicas. Después de que los iones ionizados son liberados y detectados por los detectores correspondientes, la información es enviada a una computadora donde se genera un espectro de iones, también conocido como espectro de masas (157, 160).

#### **2.8.1.2.5 Espectro de masas**

Este espectro proporciona una representación gráfica de la relación entre la masa y la abundancia de los iones detectados. Mediante el análisis de este espectro, es posible identificar los diferentes compuestos presentes en la muestra y determinar su estructura y composición molecular. El espectro de masas es una herramienta fundamental en la espectrometría de masas



y se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, desde la investigación científica hasta el control de calidad en la industria. Para analizar un espectro de masas, es crucial identificar el pico base, que es el pico más alto en el histograma. En la representación gráfica del espectro, el eje x representa la relación masa-carga, mientras que en el eje y se muestra la intensidad de la señal. Este enfoque permite una fácil interpretación de los datos y facilita la identificación de los iones presentes en la muestra (161).

A través de los espectros de masas, es posible identificar fórmulas químicas, patrones de fragmentos característicos y otras partes de moléculas. Esto permite nombrar las moléculas identificadas o verificarlas utilizando software especializado. La interpretación de los espectros de masas es fundamental en la elucidación estructural de compuestos químicos, ya que proporciona información detallada sobre la composición y la estructura de las moléculas analizadas. Los softwares especializados facilitan este proceso al comparar los espectros obtenidos con bases de datos de espectros de referencia, lo que ayuda a identificar y confirmar la presencia de compuestos específicos en la muestra analizada (160).

## **2.9 ACOPLAMIENTO MOLECULAR**

Es un método *in silico* basado en estructuras, su objetivo principal es comprender y predecir el reconocimiento molecular, estructuralmente tratando de encontrar posibles formas de unión y energéticamente prediciendo la afinidad de unión (162). El modelo molecular ha sido útil para comprender las interacciones entre compuestos químicos y objetivos moleculares, para descubrir y desarrollar fármacos, recientemente por la velocidad y predicción se aplica en protocolos para identificar sitios de unión en proteínas donde los ligando podrían unirse, en nuevas dianas moleculares de ligandos conocido y posibles efectos secundarios a fármacos

(163). El proceso de modelado molecular consta de dos pasos, la predicción de la conformación del ligando, su posición, orientación dentro del sitio de unión de la proteína (162).

Para el acoplamiento molecular es necesario estructuras 3D de la proteína y los ligandos, la estructura de la proteína se puede obtener por cristalografía de rayos X, la resonancia magnética nuclear (RMN) o la microscopía electrónica criogénica (crio-EM) o bien se pueden encontrar en el banco de proteínas (Protein Data Bank), de igual forma es necesaria una preparación de proteínas y ligandos la cual consiste en eliminar moléculas de agua y agregar hidrógenos en la estructura, el modelo se realiza mediante softwares especializados (58, 163).

### **2.9.1 Tipos de acoplamiento molecular**

En los enfoques de acoplamiento molecular, uno de los métodos más comunes es el acoplamiento rígido; sin embargo, también existe el acoplamiento flexible. Además, se pueden aplicar enfoques de acoplamiento molecular ciego y dirigido.

#### **2.9.1.1 Acoplamiento rígido**

En este tipo de acoplamiento tanto el receptor como el ligando se consideran como entidades rígidas. Se busca encontrar la mejor coincidencia tridimensional entre el receptor y el ligando, utilizando un sistema de puntuación basado en diversos parámetros. En este contexto, la conformación del ligando puede ser modificada para lograr una mejor interacción con el receptor, ya sea con o sin actividad de unión. Este enfoque es valioso para comprender cómo las moléculas interactúan entre sí y puede ser útil en el diseño de nuevos compuestos con propiedades específicas (164).

### **2.9.1.2 Acoplamiento flexible**

Por otro lado, existe un tipo de acoplamiento molecular en el que tanto el ligando como el receptor se consideran flexibles. En este caso, tanto el ligando como el receptor pueden adaptar sus conformaciones para maximizar las interacciones favorables. Este enfoque es especialmente útil cuando se analizan sistemas biomoleculares complejos, donde tanto el ligando como el receptor pueden experimentar cambios conformacionales significativos durante la interacción (162).

### **2.9.1.3 Acoplamiento semiflexible**

En el acoplamiento semiflexible, se puede considerar rígido al ligando o al receptor; se acostumbra a mantener el receptor como fijo mientras la conformación del ligando varía. Este tipo de enfoque es más preciso que el acoplamiento rígido, ya que permite una mejor adaptación del ligando al sitio de unión del receptor, considerando las posibles conformaciones que el ligando puede adoptar durante la interacción. Esta flexibilidad adicional ayuda a obtener resultados más realistas y relevantes en estudios de acoplamiento molecular (165).

### **2.9.1.4 Acoplamiento ciego**

Cuando se habla de acoplamiento ciego, se hace referencia a la unión de un ligando a toda la superficie de una proteína sin tener información previa sobre el sitio de unión específico. En este tipo de acoplamiento, se considera que toda la proteína puede ser una región potencial de unión para los ligandos. Sin embargo, debido a la alta complejidad que implica considerar todas las posibles uniones en la proteína, los algoritmos utilizados deben ser capaces de predecir una amplia gama de conformaciones.

Para abordar esta complejidad, se pueden combinar herramientas de predicción de sitios de unión con funciones de puntuación y métodos de optimización. Esto permite reducir el espacio de búsqueda y concentrarse en las regiones más prometedoras de la proteína para la unión del ligando (164).

#### **2.9.1.5 Acoplamiento dirigido**

Otro enfoque utilizado es el acoplamiento dirigido, donde se aprovecha la información conocida sobre los sitios de unión del receptor (Proteína). En este caso, se definen las coordenadas de estos sitios de unión, conocidos como "cajas" (del inglés box o grid-box), a las cuales los ligandos se unirán. Este enfoque permite analizar únicamente las posibles uniones en los sitios definidos, lo que simplifica el proceso y aumenta la eficiencia del acoplamiento molecular (163).

### **2.9.2 Elementos del acoplamiento molecular**

Es fundamental disponer de una infraestructura informática adecuada que pueda poner en práctica los métodos de acoplamiento y evaluación apropiados. Es necesario contar con un diseño definido del receptor objetivo y asegurarse de tener la estructura de los compuestos de interés a disposición o acceder a una base de datos completa que contenga compuestos previamente identificados. Este enfoque integral garantiza la viabilidad y eficacia de los estudios de acoplamiento molecular, proporcionando los recursos necesarios para llevar a cabo análisis precisos y significativos (164).

#### **2.9.2.1 Optimización de la estructura del receptor**

Generalmente, el receptor es una proteína. Para iniciar el estudio del acoplamiento molecular, es necesario obtener la estructura 3D de esta, la cual se obtiene a través de técnicas

experimentales como la cristalografía de rayos X, la resonancia magnética nuclear y la microscopía electrónica criogénica. Normalmente, las estructuras de las proteínas se encuentran en bases de datos como Protein Data Bank (RSCB-PDB), BindingDB, BindingMOAD, PDBbind, ModBase (Database of Comparative Protein Structure), Models PDB-REDO Databank y EBI (Del inglés *European Bioinformatics Institute*) (163). Se debe considerar la resolución de la estructura cristalizada, la cual depende del grado de orden del cristal, la intensidad y la coherencia del haz de difracción. Las estructuras de mayor resolución, que tienen un valor cercano a 1 Å, son estructuras muy ordenadas, y es fácil observar los átomos en el mapa de densidad electrónica. Por ello, en la elección de la estructura, se busca utilizar estructuras que tengan una resolución de 2 Å (166).

Contando con la estructura 3D del receptor, se debe realizar una preparación de la estructura. Se inicia con la colocación de átomos de hidrógeno, debido a que la entrada en PDB no los considera y son de vital importancia en los procesos fisiológicos. Además, se debe realizar la eliminación de moléculas de agua, aunque algunos sistemas de puntuación son capaces de calcular cuáles moléculas de agua deben ser consideradas, ya que estas pueden favorecer las interacciones con los ligandos, mejorando o afectando la afinidad de unión, lo cual es crucial en el diseño de fármacos. Otro paso en la preparación del receptor es agregar las cargas Kollman, lo cual se hace mediante software como AutoDock/MGL Tools (163).

Es también importante determinar el sitio de unión de los sustratos. Una manera sencilla de identificar este sitio es a través de la estructura cristalizada, ya que generalmente está en complejo con un ligando. Cuando no se cuenta con esta información, se pueden utilizar métodos de detección de cavidades utilizando enfoques algorítmicos como LIGSITE, GHECOM y CaVis (163).

### **2.9.2.2 Optimización de la estructura de los ligandos**

Al igual que el receptor, es necesario tener la estructura 3D de los ligandos que se utilizarán en el acoplamiento. Las estructuras se pueden obtener de bases de datos como PubChem, ChemSpider, Zinc, NCI Open Database, DrugBank, entre otras. Cuando las estructuras tridimensionales no se encuentran en las bases de datos, se pueden utilizar los SMILES correspondientes para obtener la estructura 3D a partir de la estructura 2D, utilizando programas como ChemDraw, Avogadro, ChemSketch, Corina, entre otros (162, 167).

Los ligandos también deben pasar por un proceso de preparación que incluye la adición de hidrógenos y cargas Gasteiger. Se utilizan software especializados para realizar esta preparación y se aplican algoritmos de búsqueda y funciones de puntuación para encontrar la mejor posición del ligando, analizando los grados de libertad roto-traslacionales e internos (167).

### **2.9.3 Softwares específicos para acoplamiento molecular**

Inicialmente, los métodos para acoplamiento molecular se basaban en el modelo de llave y cerradura, donde el ligando y el receptor se consideraban rígidos. Con el surgimiento de la teoría del “ajuste inducido”, los ligandos y el receptor comenzaron a considerarse flexibles. En los últimos veinte años, se han desarrollado herramientas y programas para el acoplamiento molecular que hoy en día se utilizan tanto en el ámbito académico como en el comercial.

Entre estas herramientas informáticas se encuentran DOCK, AutoDock, Surflex, FlexX, GOLD, ICM, Glide, Cdocker, MC-Dock, FRED, MOEDOCK, LeDock, AutoDock Vina, rDock, entre muchos otros (58).

Para el acoplamiento molecular se llevan a cabo dos pasos. Primero, se realiza la optimización del ligando, para lo cual se utilizan algoritmos que ubican las conformaciones energéticamente más favorables. Estos algoritmos pueden ser estocásticos, determinísticos o híbridos. Segundo, se utiliza una función de puntuación para clasificar las conformaciones encontradas, evaluando la afinidad de unión entre el ligando y el sitio activo del receptor. Esta evaluación considera factores como interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals y solvatación, con el objetivo de identificar la conformación que mejor se ajuste al sitio activo del receptor (168).

Los algoritmos de búsqueda tienen el objetivo de encontrar las direcciones y conformaciones posibles entre el ligando y el receptor. Dentro de los algoritmos utilizados se encuentran los de método sistemático, que se dividen en búsqueda conformacional y de fragmentación (168).

En la búsqueda conformacional, los grados de libertad torsional, traslacional y rotacional estructural del ligando se modifican gradualmente. En la búsqueda de fragmentación, se pueden añadir fragmentos durante el acoplamiento para formar enlaces, considerándolos por separado o en conjunto. Otro tipo de algoritmo de búsqueda es el de búsqueda en base de datos, que permite generar muchas conformaciones lógicas de cada ligando que se encuentra en bases de datos y, a continuación, acoplarlas considerándolas como cuerpos rígidos (169).

Los algoritmos estocásticos o aleatorios se dividen en varios tipos. Entre ellos se encuentran los algoritmos de Monte Carlo, que colocan de forma arbitraria los ligandos en el sitio de unión y, a través de un proceso iterativo, generan nuevas conformaciones, evaluando y aceptando cambios basados en criterios de energía. También están los algoritmos genéticos, que inician la búsqueda con una población de conformaciones en la que la posición y orientación

del ligando respecto al receptor se describen mediante "genes" (168). Estas conformaciones se evalúan mediante una función de "fitness" y se combinan y mutan para generar nuevas conformaciones en busca de la mejor afinidad de unión. Por último, los algoritmos de búsqueda tabú facilitan la exploración de nuevas conformaciones al evitar que se reexaminen las zonas ya exploradas del espacio conformacional del ligando, lo que ayuda a evitar soluciones subóptimas y a encontrar configuraciones más favorables (170). Las funciones de puntuación evalúan las conformaciones según su afinidad de unión, considerando la estructura y la rotación de los ligandos, y seleccionan la mejor opción en función del receptor.

Utilizan algoritmos basados en campos de fuerza, los cuales incorporan interacciones no enlazadas como fuerzas de Van der Waals, enlaces de hidrógeno, electrostática, así como ángulos de enlace y torsión para calcular la afinidad de enlace (168). Por otro lado, los algoritmos de tipo función empírica se basan en el análisis de estructuras complejas predefinidas de complejos proteína-ligando conocidos, junto con sus afinidades de unión. También existen los algoritmos basados en el conocimiento, que evalúan una colección de estructuras, identificando elementos, átomos y grupos funcionales como unidades separadas. Finalmente, los algoritmos de tipo consenso emplean múltiples métodos de evaluación en diversos arreglos para realizar una evaluación conjunta (171).

#### **2.9.4 Análisis predictivo de las propiedades ADME**

Las propiedades ADME describen el comportamiento de un fármaco en el organismo después de su administración. El acrónimo ADME corresponde a Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción. La absorción se refiere al proceso mediante el cual un fármaco no metabolizado es transportado desde el sitio de administración hasta el sistema circulatorio. Existen varios mecanismos de absorción, incluyendo la difusión pasiva, el transporte a través



de la membrana mediado por transportadores (como la difusión activa y facilitada), y otros transportadores no específicos, como la glicoproteína P. La forma de administración del fármaco, como oral, intravenosa o tópica, puede influir significativamente en el perfil de absorción (172).

El parámetro de distribución describe cómo un fármaco se distribuye en el organismo en función de sus propiedades bioquímicas. Esta distribución puede verse afectada por la difusión y la convección, que dependen de factores como la polaridad, el tamaño molecular y la capacidad de unión del fármaco a proteínas plasmáticas. Además, el estado fisiológico del organismo, incluyendo el índice de masa corporal, la hidratación y la salud general, juega un papel crucial en la distribución del fármaco (173).

La velocidad a la que un fármaco entra en un tejido depende del flujo sanguíneo al tejido, la masa tisular y las características de distribución entre la sangre y el tejido, como la permeabilidad capilar. Una vez que el fármaco penetra en los tejidos, su distribución en el líquido intersticial es determinada por la perfusión tisular, que puede variar entre diferentes órganos y sistemas (174). Por ejemplo, tejidos altamente perfundidos como el hígado, los riñones y el cerebro tienden a recibir y distribuir el fármaco más rápidamente que los tejidos menos perfundidos como el tejido adiposo.

Además, factores como el pH local y la presencia de barreras biológicas, como la barrera hematoencefálica, también influyen en la distribución del fármaco (173).

El metabolismo de los fármacos es un proceso que describe cómo los medicamentos son modificados químicamente en el organismo. Este proceso es crucial para la eliminación del fármaco y para evitar la acumulación de compuestos con potencial tóxico. Los fármacos se metabolizan mediante diversas reacciones, como oxidación, reducción, hidrólisis, hidratación,

isomerización y condensación. Generalmente, el metabolismo ocurre en el hígado, con la ayuda de enzimas especializadas, principalmente las de la superfamilia del citocromo P-450 (175). El metabolismo de fármacos se divide en dos fases. La fase I implica reacciones no sintéticas, que introducen, modifican o eliminan grupos funcionales en el fármaco, preparando la molécula para la siguiente fase. La fase II, en cambio, es sintética y consiste en la conjugación del metabolito de la fase I con una sustancia endógena, como ácido glucurónico, sulfato o glutación, para aumentar su solubilidad en agua y facilitar su excreción.

Este proceso es esencial para transformar fármacos en formas que el cuerpo pueda eliminar eficazmente, reduciendo así el riesgo de efectos adversos y toxicidad (176).

La excreción de los fármacos generalmente se produce a través de los riñones, aunque también puede ocurrir, en menor medida, por otros mecanismos como la excreción intestinal, la leche materna, los pulmones, el sudor y la saliva. La filtración renal es la principal responsable de la mayor parte de la excreción de fármacos. Durante este proceso, la mayor parte del agua y la mayoría de los electrolitos se reabsorben de forma pasiva y activa desde los túbulos renales (177). En contraste, la mayoría de los metabolitos de los fármacos, que suelen ser polares, no pueden difundirse de nuevo a la circulación y, por lo tanto, se excretan en la orina. Este proceso asegura que los metabolitos polares, que no pueden atravesar fácilmente las membranas celulares, sean eliminados eficazmente del cuerpo. La eficiencia de la excreción renal puede variar según factores como la función renal, la edad, la hidratación y la presencia de enfermedades renales o hepáticas (174).

En el desarrollo de nuevos tratamientos, es crucial predecir el perfil farmacocinético y toxicológico de un compuesto para asegurar su éxito. La farmacocinética se refiere a cómo el cuerpo maneja el fármaco, incluyendo su absorción, distribución, metabolismo y excreción. La

toxicología, por otro lado, evalúa los efectos adversos que el compuesto podría tener. Para predecir estas propiedades con mayor precisión, existen diversas herramientas informáticas (178). Algunas de las más utilizadas incluyen ADMETlab, admetSAR, FAF-Drugs4, OCHEM, pkCSM, preADMET, SwissADME, XenoSite y Way2Drug. Estas herramientas emplean algoritmos avanzados y grandes bases de datos para evaluar características críticas del compuesto, como su solubilidad, permeabilidad, estabilidad metabólica y potencial toxicidad.

Al utilizar estas plataformas, los investigadores pueden identificar y mitigar posibles problemas antes de avanzar a la etapa de ensayos clínicos, lo que aumenta las probabilidades de éxito del tratamiento (179).

#### **2.9.4.1 SwissADME**

SwissADME, en su primer apartado, tiene un radar de estructura química y biodisponibilidad que permite realizar una evaluación rápida de la similitud de los compuestos con un fármaco. Se toman en cuenta las siguientes propiedades fisicoquímicas: lipofilicidad, tamaño, polaridad, solubilidad, flexibilidad y saturación (180, 181).

El segundo apartado de SwissADME está dividido en seis secciones de análisis donde se calculan los valores de parámetros como propiedades fisicoquímicas, lipofilicidad, farmacocinética, similitud a fármacos y química medicinal. En la sección de propiedades fisicoquímicas, se agrupan descriptores moleculares y fisicoquímicos como peso molecular, recuento de tipos de átomos específicos y área de superficie polar (PSA), los cuales se calculan a través de OpenBabel9, versión 2.3.0 y PSA por medio de la técnica área de superficie polar topológica (TPSA) que considera los átomos de azufre y fósforo como átomos polares (182).

Para la lipofilicidad, SwissADME incluye un apartado específico que utiliza el coeficiente de reparto entre n-octanol y agua ( $\log P_{o/w}$ ). Este apartado ofrece múltiples predictores

gratuitos que aumentan la precisión de la predicción a través del registro de consenso Po/w. Entre estos predictores se encuentran: XLOGP3, un método atomístico con factores correctivos y una biblioteca basada en el conocimiento; WLOGP, un método estrictamente atomístico basado en el sistema fragmentario de Wildman y Crippen; MLOGP, un modelo topológico que utiliza una relación lineal con 13 descriptores moleculares; SILICOS-IT, un método híbrido que se basa en 27 fragmentos y 7 descriptores topológicos; y iLOGP, un método interno basado en la física que utiliza energías libres de solvatación en n-octanol y agua, calculadas mediante el modelo de superficie accesible a solventes y de Born generalizado (GB/SA) (183-185).

La predicción de la solubilidad en agua en SwissADME utiliza dos métodos topológicos: una implementación del modelo ESOL y una adaptación de Eli y colaboradores (186). Ambos métodos evitan el uso del parámetro de punto de fusión y muestran una fuerte correlación lineal entre los valores predichos y experimentales ( $R^2 = 0,69$  y  $0,81$  respectivamente). Además, SwissADME incluye un tercer predictor desarrollado por SILICOS-IT, donde el coeficiente de correlación lineal fragmentario corregido por el peso molecular es  $R^2 = 0,75$ .(186-188).

La sección de farmacocinética incluye modelos especializados que evalúan los comportamientos individuales de ADME de las moléculas de interés. Las predicciones para la absorción gastrointestinal humana y la permeación de la barrera hematoencefálica se basan en la salida de modelos cocinados, además de incluir otros modelos de clasificación binaria. Estos últimos se centran en determinar la propensión de una molécula pequeña dada a actuar como sustrato o inhibidor de proteínas que regulan comportamientos farmacocinéticos importantes (185, 189).

La herramienta SwissADME utiliza el algoritmo de máquina vectorial de soporte en grandes conjuntos de datos meticulosamente limpiados de sustratos/no sustratos o inhibidores/no inhibidores conocidos para estimar si un producto químico es sustrato de P-gp

o inhibidor de las isoenzimas CYP más importantes (189). Además, para evaluar la similitud con fármacos, SwissADME cuenta con cinco filtros distintos, cada uno con rangos específicos de propiedades. Entre ellos, la regla de Lipinski es la pionera entre los cinco modelos implementados, que incluyen también los modelos de Ghose, Veber, Egan y Muegge (190).

#### **2.9.4.2 ADMETlab**

La absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) deben evaluarse debido a que representan las principales razones del fracaso de los fármacos. ADMETlab cuenta con cuatro modelos especializados para evaluar las propiedades de ADMET: evaluación de similitud de fármacos, predicción de ADMET que evalúa 31 puntos finales diferentes, evaluación sistemática de ADMET para productos químicos individuales y búsqueda de base de datos con múltiples entradas (191).

ADMETlab cuenta con una interfaz fácil de utilizar y ofrece servicios de evaluación y detección a través de cadenas SMILES (192). Está compuesto por una base de datos ADMET y una plataforma web que incluye submódulos como la predicción ADMET, la evaluación sistemática y la evaluación de similitud a fármacos. Esta última función es capaz de descubrir los compuestos activos entre las entidades químicas y distinguir posibles candidatos a fármacos de otros compuestos activos (191). Los datos en ADMETlab se recopilan a través de la recolección de publicaciones, que se filtran y procesan manualmente.

Se lleva a cabo una filtración para eliminar compuestos organometálicos, mezclas isoméricas y mezclas químicas, neutralizando sales, eliminando contraiones y transformando cadenas SMILES en forma canónica utilizando bases de datos como ChEMBL, EPA y DrugBank. ADMETlab también utiliza diversos algoritmos de modelado para desarrollar modelos de regresión o clasificación QSAR para propiedades relacionadas con ADMET como:

máquina de vectores de soporte, regresión de partición recursiva, mínimo cuadrado parcial, bayes ingenuo y árbol de decisión (191). Estos modelos se implementan a través de un marco de atención gráfica multitarea, que incluye capas de entrada, redes de convolución de gráficos de relación, capa de atención y capas totalmente conectadas (192).

### III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La hipertensión arterial es un problema global que aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y complicaciones graves. A pesar de los tratamientos actuales, muchos pacientes no logran un control adecuado o sufren efectos secundarios, lo que requiere la búsqueda de nuevos compuestos antihipertensivos eficaces y seguros. El desarrollo de tratamientos enfrenta desafíos como la necesidad de compuestos que reduzcan la presión arterial efectivamente y con un perfil de seguridad superior. Además, la alta demanda de compuestos bioactivos limita su disponibilidad y aumenta los costos. En este sentido, las microalgas, como *Phaeodactylum tricornutum*, ofrecen una fuente prometedora de compuestos bioactivos debido a su rápido crecimiento. Sin embargo, la identificación precisa de estos compuestos y su evaluación farmacológica sigue siendo un desafío. Este estudio busca abordar este problema mediante el uso de análisis metabolómico y técnicas *in silico*, con el fin de establecer una base científica para el desarrollo de nuevas terapias más efectivas.

#### IV JUSTIFICACIÓN

La hipertensión arterial afecta a más de un tercio de la población mundial y causa anualmente alrededor de 9.4 millones de muertes y su tendencia va en aumento. A pesar de existir diferentes tratamientos farmacológicos, los índices de morbilidad no disminuyen, por ello es indispensable la búsqueda y caracterización de nuevos compuestos con potencial antihipertensivo obtenido de fuentes naturales. En este sentido, las microalgas particularmente las diatomeas han despertado un gran interés en la investigación biomédica por la cantidad de compuestos bioactivos que produce su biomasa y las diversas actividades biológicas que presenta. Por esta razón, en el presente trabajo se evaluará el perfil metabolómico del extracto de *Phaeodactylum tricornutum* y se identificarán *in silico* los compuestos con potencial antihipertensivo, así como sus parámetros de biodisponibilidad y bioseguridad.



## V HIPÓTESIS

El extracto de *Phaeodactylum tricornutum* presenta metabolitos con potencial antihipertensivo cumpliendo criterios farmacocinéticos y baja probabilidad de toxicidad.

## **VI OBJETIVOS**

### **6.1 OBJETIVO GENERAL**

Analizar el perfil de metabolitos presentes en el extracto de *Phaeodactylum tricornutum* por acoplamiento molecular y evaluar su potencial antihipertensivo, así como su perfil de biodisponibilidad y toxicidad.

### **6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

6.2.1. Determinar el perfil de metabolitos presentes en el extracto de *P. tricornutum*.

6.2.2. Identificar por acoplamiento molecular los principales metabolitos presentes en el extracto de *P. tricornutum* con mejor potencial antihipertensivo.

6.2.3. Determinar los parámetros predictivos de biodisponibilidad, así como perfil toxicológico de los metabolitos que exhibieron mejor potencial antihipertensivo.

## VII MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE *Phaeodactylum tricornutum*

#### 7.1.1 Cultivo de *Phaeodactylum tricornutum*

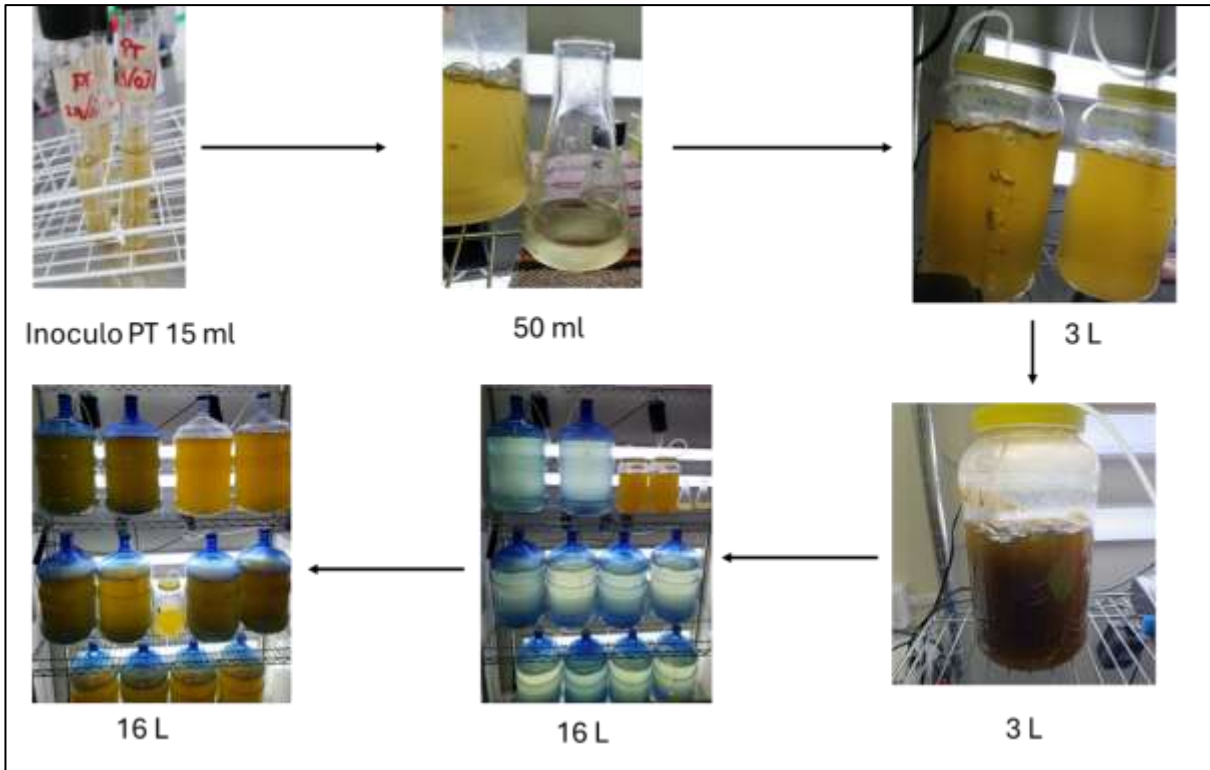
Para iniciar con el cultivo, se empleó un inóculo de la microalga *P. tricornutum* obtenido del cepario del laboratorio de Fisiología Molecular del Centro de Investigación Aplicada a la Salud Pública (CIASaP) de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Para el cultivo de la microalga se empleó el medio nutritivo F/2 en agua salada artificial siguiendo la formulación propuesta por Guillard y Ryther (141). El cultivo se desarrolló utilizando la técnica de transferencias sucesivas (Figura 9), iniciando con un inóculo de 15 ml y llevándolo a un volumen final de 16 L. Durante cada transferencia, se mantuvieron condiciones controladas de iluminación (6000-6500 lux) y temperatura (24 °C), así como aeración constante (193).

#### 7.1.2 Obtención de la biomasa

La obtención de biomasa se llevó a cabo al final de la fase exponencial, mediante un proceso de floculación. El proceso comenzó con la adición de quitosano como floculante orgánico, hidróxido de sodio para ajustar el pH y ácido acético para precipitar la biomasa. Después de permitir el tiempo necesario para que se formara el precipitado de biomasa, se eliminó el sobrenadante y se procedió con una centrifugación a 4,000 gravedades durante 5 minutos para obtener la biomasa húmeda. Finalmente, la biomasa húmeda se sometió a un proceso de secado en un horno a 45° C. Una vez obtenida la biomasa seca, se realizó una maceración para obtener una harina de biomasa fina que se utilizó en la elaboración del extracto (194)

### **7.1.3 Obtención del extracto de *Phaeodactylum tricornutum***

Siguiendo la metodología propuesta por Pereira y sus colaboradores, se llevó a cabo la obtención del extracto con algunas modificaciones en el laboratorio de ambiental de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Se empleó metanol al 80% y agua al 20%, y se dejó en agitación a 35°C con ausencia de luz durante 24h. Posteriormente, se llevó a cabo una separación por centrifugación, seguida de un filtrado utilizando papel Whatman No.2 y un filtro de 0.22 micrómetros. Luego, se procedió a separar el solvente utilizando un rotavapor a una temperatura de 45°C, seguido de la eliminación del agua por liofilización. Finalmente, el extracto se almacenó a temperatura ambiente (195).



**Figura 11. Cultivo de *Phaeodactylum tricorneratum*.** El cultivo *in vitro* de *Phaeodactylum tricorneratum* bajo condiciones óptimas. El cultivo se realiza mediante la técnica de transferencias sucesivas, iniciando con un inóculo de 15 ml y llevándolo a un volumen final de 16 L. En cada paso de aumento del volumen de cultivo se añade medio F/2, cuidando siempre las condiciones óptimas de luz, temperatura y aireación constante. Figura elaborada por Cinthia Ayón-Fernandez.

## 7.2 PERFIL METABOLÓMICO DE *Phaeodactylum tricornerutum*

Se realizó en el laboratorio de Metabolómica y Espectrometría de Masas del Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad, Langebio – CINVESTAV unidad Irapuato, Gto. Se llevó a cabo la identificación de metabolitos utilizando cromatografía líquida de ultra alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas de alta resolución por ionización por electrospray. Los extractos metanólicos de la diatomea se reconstituyeron en 70% de acetonitrilo y 30% de ácido fórmico. Después se inyectaron 10 mL de muestra en el sistema de cromatografía líquida (Waters Corp., MA, USA). Columnas de fenil-hexil 2.1 mm X 150 mm se utilizaron para que se lleve a cabo la separación con un disolvente binario compuesto por la solución A (1% de ácido fórmico) y la solución B (acetonitrilo con 0.1% ácido fórmico), con el gradiente en tiempo inicial 95/5 (%A/%B) por 1 min, después al t =13 min, 100% B durante 1 min, posteriormente en t=14.10 min cambiaron a condiciones iniciales (95/5 (%A/%B)) y se mantuvo durante 1 min para la recalibración de la columna. Lo siguiente fue utilizar un espectrómetro de masas equipado con el electrospray de ionización (196). Se evaluaron utilizando el software Progenesis QI en el cual se realizó un alineamiento, normalización y pre-identificación de compuestos. La pre-identificación de compuestos se realizó mediante el programa ChemSpider Database (197).

### 7.2.1 Preidentificación de los compuestos

Los resultados del software Progenesis QI se utilizaron para llevar a cabo una búsqueda exhaustiva de los compuestos preidentificados, con el objetivo de discriminar aquellos que no fueran relevantes para el proyecto. Se aplicaron criterios de inclusión y exclusión, seleccionando para la inclusión aquellos compuestos con puntajes altos (Score mayor a 40) o aceptables según los criterios establecidos (Relación masa carga, espectro de fragmentación y patrón o huella

isotópicos) y considerando aquellos de origen microalgal o con metabolismo análogo. Los compuestos con puntajes bajos (Score menor a 40) fueron excluidos, al igual que aquellos cuyo origen taxonómico se encontraba distante de las microalgas, incluidos los provenientes de organismos del reino animal como mamíferos, así como también organismos protistas.

### **7.3 ANÁLISIS MEDIANTE ACOPLAMIENTO MOLECULAR**

El análisis molecular se realizó en el laboratorio de Inmunogenética de la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Se empleó el software AutoDock Vina 1.2.0, específico para metaloproteínas de zinc para llevar a cabo el estudio (198). El proceso de estudio se inició siguiendo una serie de pasos específicos.

Se inició con la obtención de las estructuras 3D de los ligandos los cuales fueron obtenidos a través del programa ChemSpider Database, Pubchem y el generador de estructuras 3D CORINA CLASSIC, dichas estructuras fueron almacenadas en formato de base de datos estándar (SDF). Una vez completado este paso, se llevó a cabo una optimización de las estructuras mediante el programa Open Babel versión 3.11, se añadieron hidrógenos polares a las estructuras y se les asignaron las cargas de Gasteiger. Finalmente, se generaron archivos pdbqt para cada ligando.

Como receptor, se utilizó la enzima convertidora de angiotensina. La estructura cristalizada de la enzima convertidora de angiotensina se obtuvo a través de la plataforma RCSB Protein Data Bank, identificada con el código 1o86. La proteína se obtuvo en formato PDB, posteriormente se procedió a optimizar la estructura utilizando AutoDock/MGL Tools versión 1.5.6 y 1.5.7. Se eliminaron las moléculas de agua, se añadieron hidrógenos polares, cargas de Kolman y se incorporaron heteroátomos de zinc tetraédricos alrededor del ion zinc. Una vez completada la preparación, la estructura se almacenó en formato pdbqt para su posterior análisis.

Se generaron mapas de afinidad específicos para acoplarse con los pseudoátomos de zinc y se estableció una caja de rejilla con coordenadas específicas para el acoplamiento molecular: el centro de la caja se definió en  $x=40.962$ ,  $y=34.823$  y  $z=44.369$ , y el tamaño de la caja fue de  $x=42$ ,  $y=40$  y  $z=40$  (cuadrícula de puntos). Se utilizó AutoDock 4.2 force field para generar los mapas de afinidad. Posteriormente, se realizó el acoplamiento molecular, así como la manipulación y el análisis de los resultados.

El acoplamiento molecular se llevó a cabo utilizando AutoDock Vina porque se trabajó con una gran cantidad de ligandos y para seleccionar la mejor pose en función a la energía de unión. Además, el archivo GPF del complejo ligando-receptor fue visualizado en BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2020 solamente para los 20 compuestos que presentaron mejores interacciones de unión (Energía de Gibbs) durante el acoplamiento molecular.

#### **7.4 ANÁLISIS PREDICTIVOS**

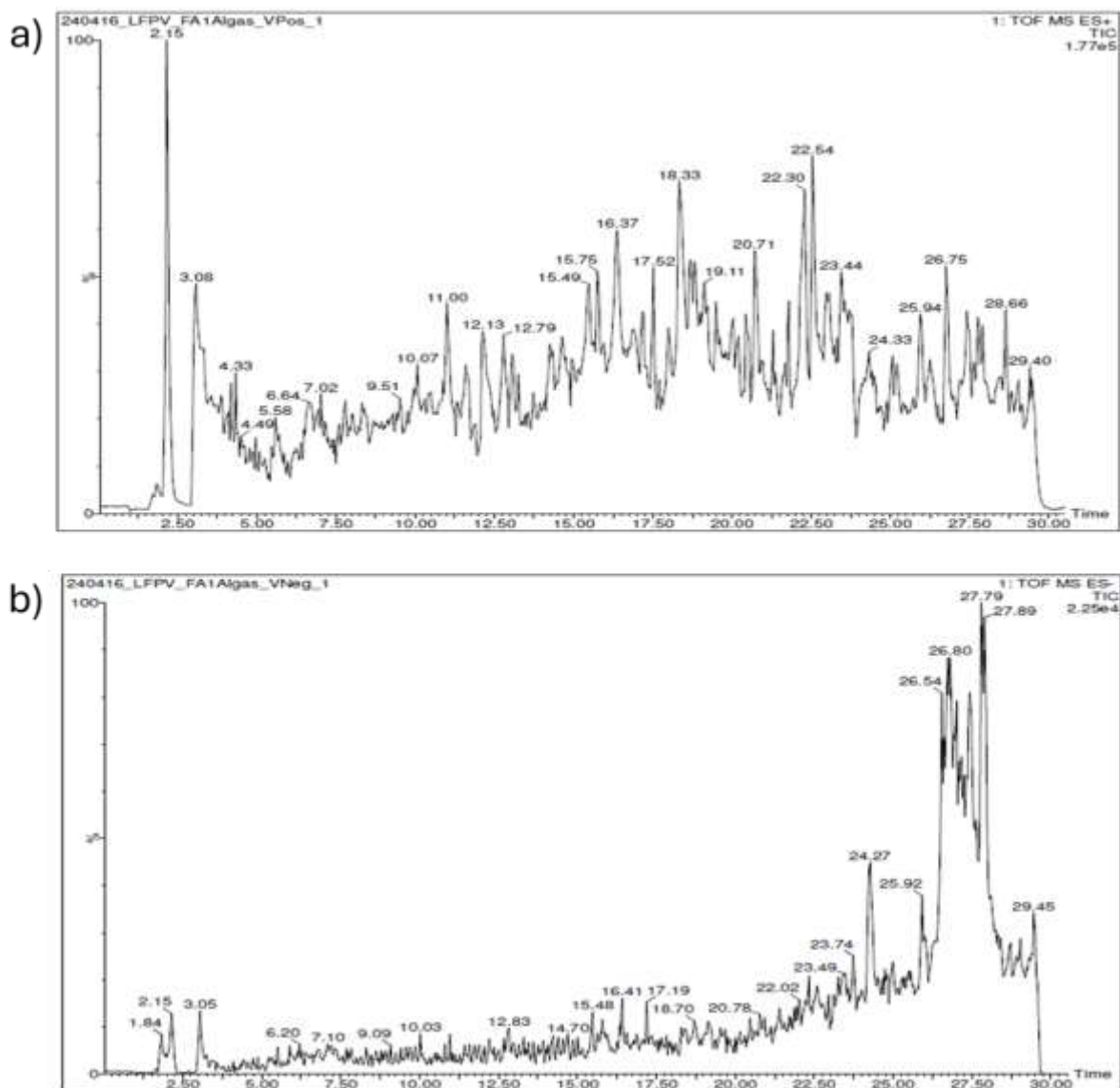
Para evaluar la idoneidad de los compuestos seleccionados, se llevó a cabo un exhaustivo análisis de sus parámetros fisicoquímicos y farmacocinéticos utilizando herramientas en línea como SwissADME y ADMETlab 2.0. Este análisis abarcó aspectos clave como la solubilidad, permeabilidad y estabilidad metabólica, entre otros factores determinantes para la biodisponibilidad y perfil toxicológico de los compuestos en estudio. Una vez obtenidos los resultados, se procedió a comparar los valores obtenidos para cada compuesto, priorizando aquellos que exhibían los parámetros más favorables. Se seleccionaron los compuestos que demostraron la mejor combinación de propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas, garantizando su idoneidad para el desarrollo farmacéutico. Los compuestos seleccionados como candidatos destacaron por su potencial eficacia terapéutica y su perfil de toxicidad.



## **VIII RESULTADOS**

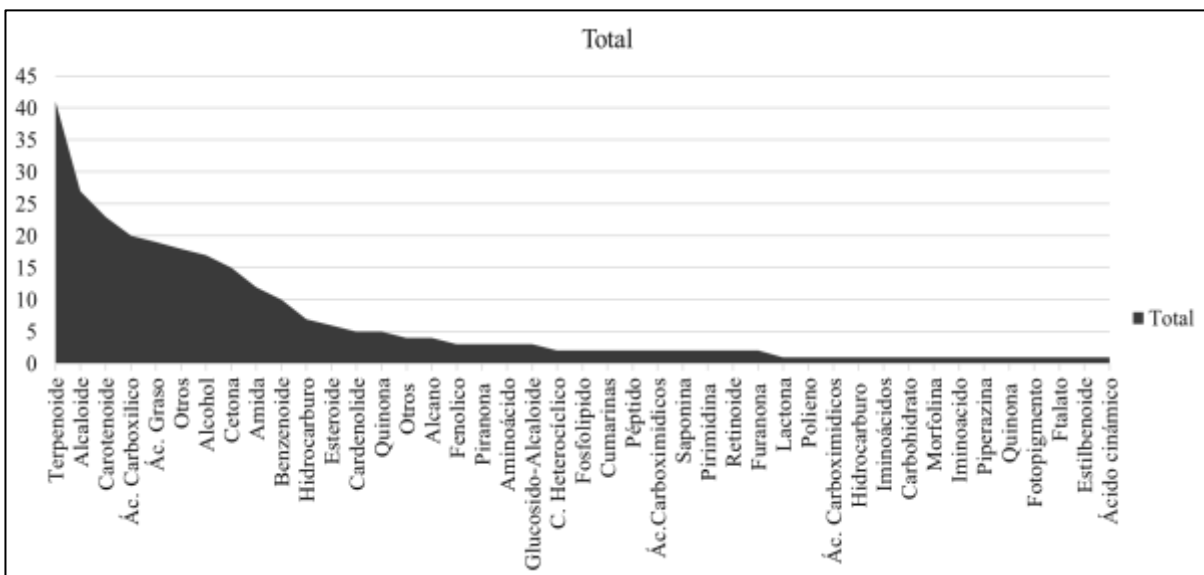
### **8.1 PREIDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS**

Sé utilizó cromatografía líquida combinada con espectrometría de masas de alta resolución de ionización por electrospray (UPLC-ESI-HRMS), donde se obtuvo un cromatograma de ionización positiva y uno de ionización negativa. Los cromatogramas fueron alineados y normalizados en el software Progenesis QI, y mediante la base de datos ChemSpider se obtuvieron un total de 669 compuestos posibles (Figura 10).



**Figura 12. Cromatogramas obtenidos de los compuestos de la microalga *P. tricornutum*.** a) Cromatogramas de ionización positiva y b) de ionización negativa. El eje horizontal muestra los tiempos de retención de los metabolitos desde el inicio de la inyección de la muestra del extracto metanólico de *P. tricornutum*. El eje vertical representa la intensidad, que está relacionada con la cantidad de iones detectados. Los picos en los cromatogramas indican la presencia de uno o más metabolitos.

Al aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se encontraron un total de 277 compuestos, destacando la predominancia de terpenoides, alcaloides, ácidos carboxílicos, ácidos grasos y carotenoides. La proporción se distribuyó de la siguiente manera: 41 terpenoides, 27 alcaloides, 23 carotenoides, 20 ácidos carboxílicos, 19 ácidos grasos, 17 compuestos tipo alcoholes, 15 cetonas, 12 amidas, 10 benzenoides, y los restantes se distribuyeron entre compuestos tipo esteroides, quinonas, cardenólidos, alcanos, compuestos fenólicos, cumarinas, saponinas, furanonas, retinoides, lactonas, hidrocarburos, ftopigmentos, morfollnas, ácidos carboximídicos y polienos (Figura 11). El total de compuestos se utilizó para el análisis de acoplamiento molecular.



**Figura 13. Clasificación de los metabolitos obtenidos de *P. tricornutum*.** Histograma que representa la frecuencia de diferentes tipos de compuestos. La clasificación de los compuestos se encuentra en el eje X, mientras que el eje Y muestra el total de compuestos. Se observa una mayor frecuencia de terpenoides, alcaloides, carotenoides y ácidos carboxílicos. La gráfica muestra la cantidad total de cada tipo de compuesto identificado, con una clara tendencia decreciente en la abundancia de los compuestos menos representados.

## 8.2 ACOPLAMIENTO MOLECULAR

Para el acoplamiento molecular, la optimización de la estructura de la proteína se realizó, siguiendo los pasos indicados para metaloproteínas (Figura 12). De los 290 ligandos (compuestos derivados de *Phaeodactylum tricornutum*), únicamente 177 formaron interacción con la enzima convertidora de angiotensina en la región establecida con las coordenadas  $x=40.962$ ,  $y=34.823$  y  $z=44.369$ , y una cuadrícula de puntos  $x=42$ ,  $y=40$  y  $z=40$ . Se revisaron las energías de enlace de cada compuesto, así como los distintos tipos de interacciones formadas. Al final, se eligieron 21 compuestos con las mejores energías de enlace (Tabla 2; Figuras 13, 14, 15, 16, 17, 18), los cuales se utilizaron para los análisis de predicción de propiedades farmacocinéticas y toxicológicas.

La energía de unión de lisinopril® con la ECA fue de  $-29.535$  kcal/mol. Los resultados indicaron que nueve compuestos mostraron una mejor energía de unión con la ECA, destacándose febrifugina con la más alta energía de enlace de  $-33.144$  kcal/mol, seguida por (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina con  $-32.529$  kcal/mol y lobelina con  $-32.289$  kcal/mol. Además, doce compuestos mostraron una energía de unión inferior a la de lisinopril, siendo isomitiloxantina el más bajo con  $-21.512$  kcal/mol. Lisinopril® y los compuestos mencionados establecieron interacciones con la ECA que incluyen fuerzas de Van der Waals, enlaces carbono-hidrógeno, interacciones pi-alquilo, alquilo, apilamiento pi-pi, interacciones pi-anión, pi-cación, enlaces de hidrógeno convencionales y enlaces covalentes con el heteroátomo de zinc.

### 8.2.1 Interacciones de los compuestos con la ECA

El fármaco de referencia lisinopril® tuvo interacciones con la ECA en los tres residuos (interacción Van der Waals con Ala354 y Tyr523 e interacción pi-anión con Glu384) del bolsillo S1, en los cuatro residuos (interacción convencional de hidrógeno con Gln281, His353, Lys511 y Tyr520 e interacción carbono-hidrógeno con His513) del bolsillo S'2 y en dos residuos (interacción Van der Waals con His387 e interacción pi-anión con Glu384) del motivo de unión al zinc.

De los compuestos analizados en el acoplamiento molecular, aquellos que presentaron interacciones con el bolsillo S1 fueron los siguientes: febrifugina mostró interacciones Van der Waals con Ala354, Glu384 y Tyr523; (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina tuvo una interacción alquilo con Tyr523; lobelina presentó una interacción Van der Waals con Tyr523 y una interacción carbono-hidrógeno con Ala354. Talastina evidenció interacciones pi-pi apiladas con Tyr523, mientras que cinconidona mostró interacciones Van der Waals con Tyr523 y Ala354. palustrina, cecelina, 3-hidroxiquinina y 1-fenetil-4-piperidinona presentaron interacciones pi-alquilo con Tyr523. N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida mostró una interacción Van der Waals con Glu384, y cucurbitina interactuó por Van der Waals con Tyr523 y Ala354. 5-aminopentanal tuvo una interacción pi-alquilo con Tyr523, y salsolina mostró interacciones Van der Waals con Tyr523 y Ala354, así como una interacción de fuerzas atractivas con Glu384.

Desoxipeganina presentó un enlace convencional de hidrógeno con Tyr523, una interacción pi-alquilo con Ala354 y una interacción Van der Waals con Glu384. Guvacolina mostró una interacción Van der Waals con Tyr523, mientras que criptoforina tuvo una interacción pi-alquilo con Ala354 y una interacción Van der Waals con Glu384. Tetrahidroharmol presentó una interacción Van der Waals con Tyr523 y una interacción pi-alquilo con Glu384. Por último, fitocromobilina tuvo una interacción no favorable con Tyr523, y la isomilitoxantina presentó una interacción pi-alquilo con Tyr523.

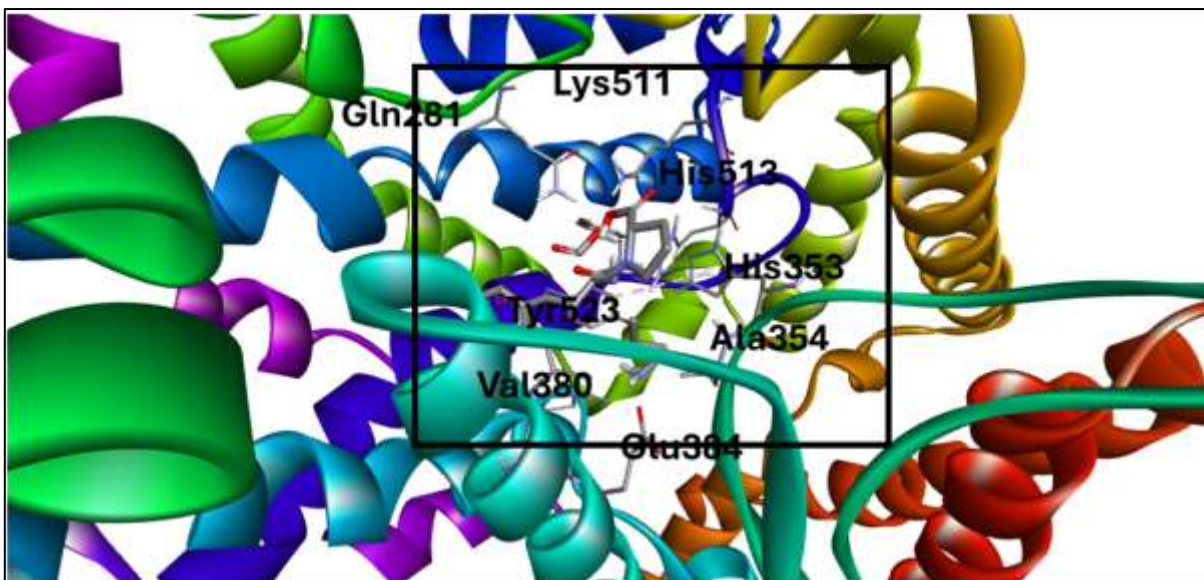
Para el bolsillo S'2, se observaron diversas interacciones entre los compuestos estudiados y los residuos específicos. Febrifugina mostró una interacción Van der Waals con His353, mientras que (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina interactuó con Gln281 y Lys511 a través de Van der Waals y con His513 y Tyr520 mediante interacciones alquilo. Lobelina presentó interacciones pi-alquilo con His353 y His513, Talastina demostró interacciones Van der Waals con Lys511, Tyr520, Gln281, e interacciones convencionales de hidrógeno con His353 y His513. Cinconidinona interactuó con His353 por Van der Waals, al igual que cecelina, que también interactuó con His513. 3-hidroxiquinina y 1-fenetil-4-piperidinona mostraron interacciones pi-alquilo con His353 y His513, mientras que cucurbitina tuvo interacciones Van der Waals con los mismos residuos. 5-aminopentanal también presentó interacciones pi-alquilo con His353 y His513. Salsolina mostró una interacción no favorable con His513 y una interacción Van der Waals con His353, desoxipeganina interactuó pi-alquilo con His353. Guvacolina tuvo una interacción Van der Waals con His353 y una interacción no favorable con His513. Criptoforina y fitocromobilina presentaron interacciones pi-alquilo con His353, y esta última también tuvo una interacción Van der Waals con Gln281.

Isomilitoxantina mostró una interacción Van der Waals con Tyr520, y fenicoxantina interactuó por Van der Waals con His353 y Gln281.

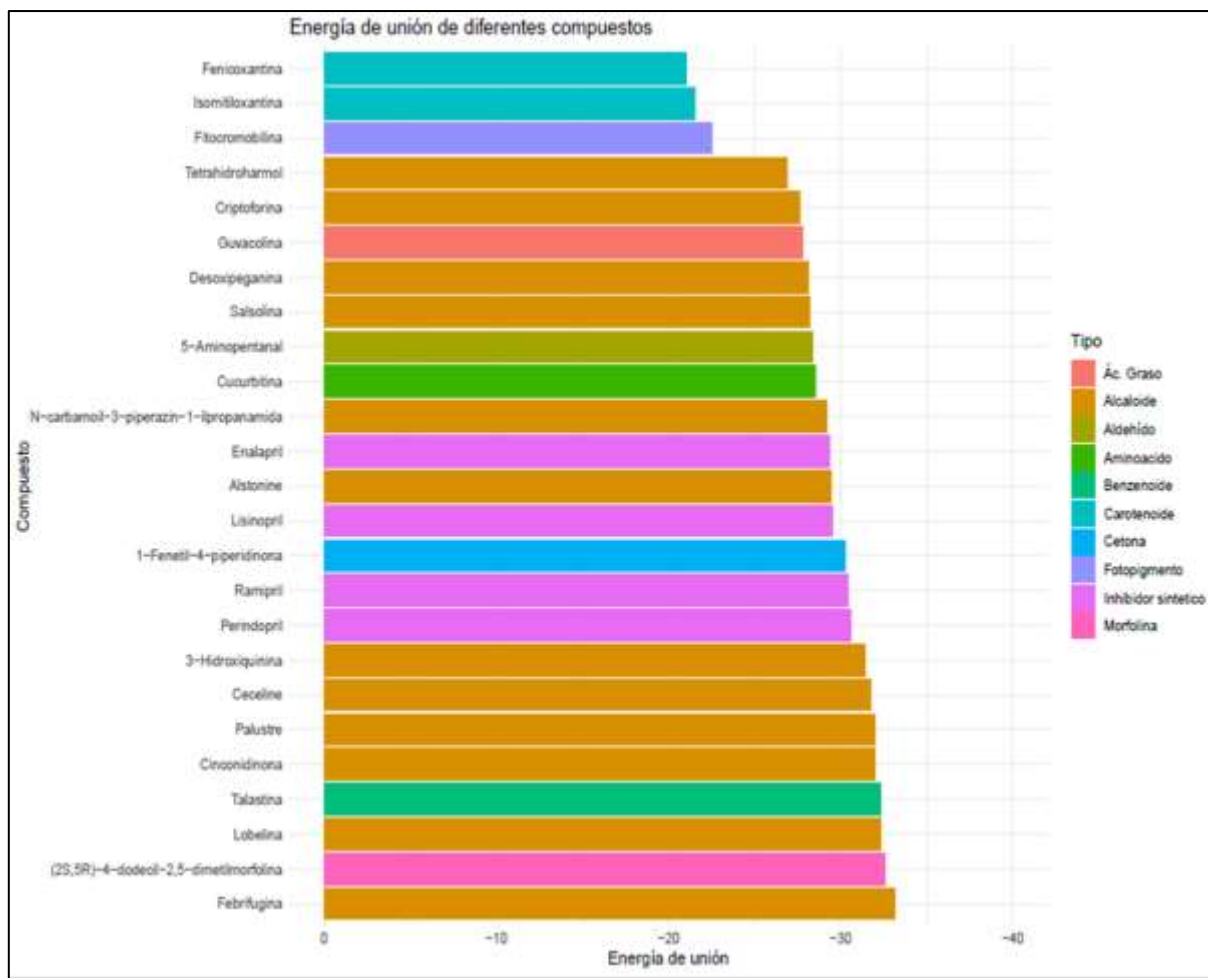
En cuanto al motivo de unión al zinc, se identificaron las siguientes interacciones: febrifugina presentó una interacción pi-pi apilada con His383 e interacción convencional de hidrógeno con Glu384. (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina interactuó mediante alquilo con His383, mientras que talastina y cinconidinona mostraron interacciones Van der Waals con His383, con la última también interactuando con His387. Cecelina y 1-fenetil-4-piperidinona presentaron interacciones pi-alquilo con His383.

Cucurbitina tuvo interacciones Van der Waals con His383 y His387, y salsolina mostró interacciones Van der Waals con estos residuos e interacciones de cargas atractivas con Glu384. Desoxipeganina presentó interacciones pi-alquilo con His383, interacciones alquilo con His387 e interacciones Van der Waals con Glu384. Criptoforina y fitocromobilina mostraron interacciones pi-alquilo y pi-pi apiladas con His383, respectivamente. Finalmente, tetrahidroharmol tuvo una interacción pi-anión con Glu384 y fenicoxantina mostró una interacción pi-alquilo con His383.

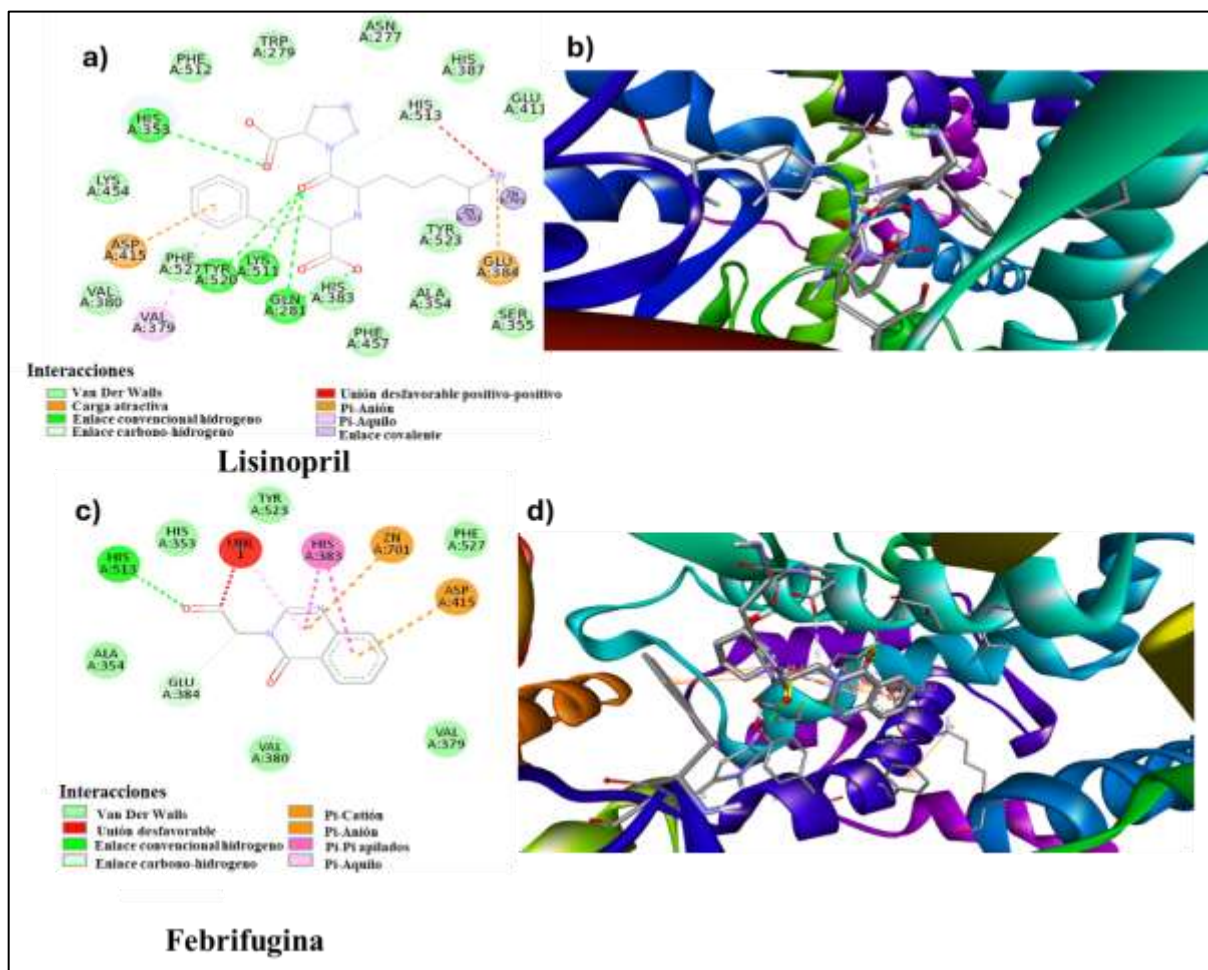




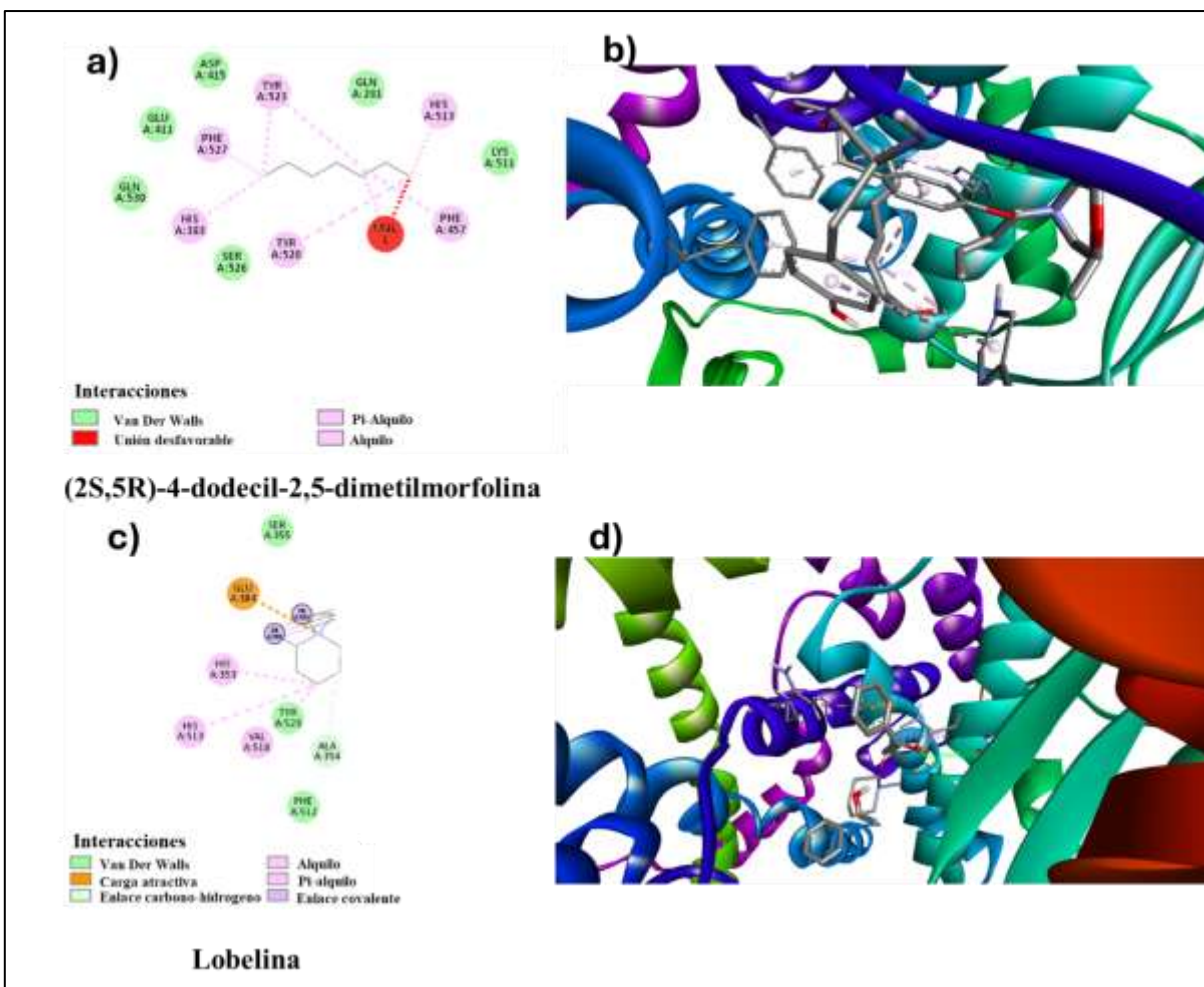
**Figura 14. Visualización de la estructura 3D de la ECA.** Complejo de unión del fármaco lisinopril® con la enzima convertidora de angiotensina (PDB ID; 1o86). El lisinopril® forma distintos tipos de interacciones con la ECA. Algunas de las posiciones de unión en pocket en los aminoácidos Gln281, Lys511, His513, His353, Ala354, Val380, Tyr523 y Glu384.



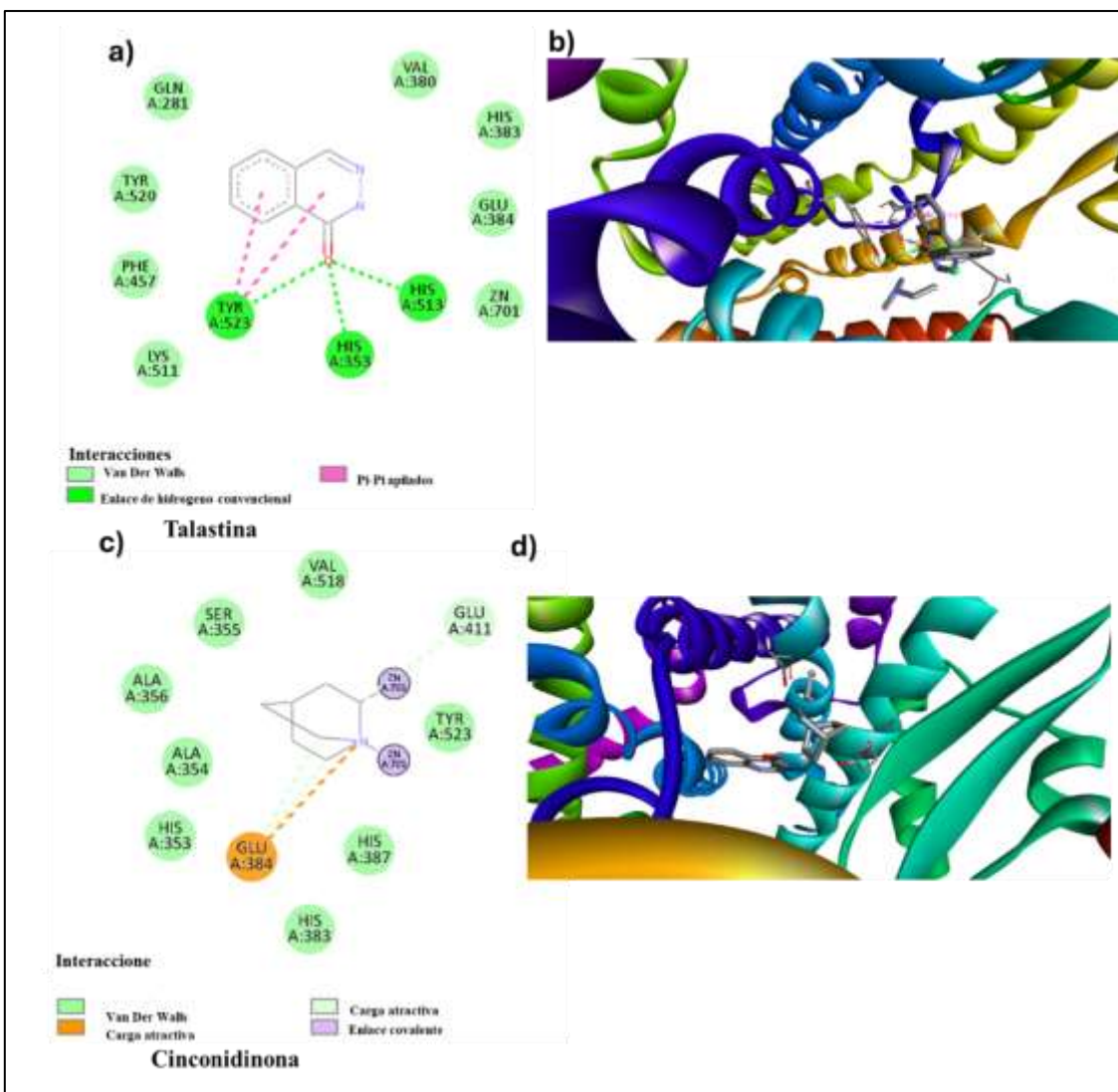
**Figura 15. Energía de enlace resultante del análisis de acoplamiento molecular.** Análisis de acoplamiento molecular de la ECA (PDB ID: 1o86) con compuestos derivados de la microalga *Phaeodactylum tricornutum*. Se muestran las 21 mejores energías libres de enlace, además de las energías de enlace de inhibidores de la ECA como lisinopril®, ramipril®, enalapril® y perindopril®. Los compuestos están clasificados y coloreados según su tipo químico, resaltando la diversidad de compuestos analizados.



**Figura 16.** Visualización de complejos formados en análisis de acoplamiento molecular del **lisinopril** y **febrifugina** con la ECA (PDB ID: 1o86). Se muestran las interacciones en dos dimensiones a), c) y tres dimensiones b), d), visualizadas con el software Discovery Studio Visualizer. Las interacciones se representan en colores verde, rojo, naranja y rosa. La visualización en 2D muestra los tipos de interacciones entre lisinopril y la ECA a), y entre febrifugina y la ECA c), mientras que la visualización en 3D detalla el sitio de unión establecido entre lisinopril y la ECA c), y entre febrifugina y la ECA d). Los ligandos están representados en color gris, junto con algunos aminoácidos que interactúan en el bolsillo de unión.



**Figura 17. Visualización de complejos formados en análisis de acoplamiento molecular del (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina y lobelina con la ECA (PDB ID: 1o86).** Las interacciones fueron visualizadas con el software Discovery Studio Visualizer. Los tipos de interacciones se representan con los colores verde, rojo, naranja, morado y rosa. La interacción en 2D a), c) muestra los tipos de interacciones formadas entre (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina y la ECA a), y lobelina con la ECA c). La interacción en 3D b), d) detalla el sitio de unión establecido entre (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina y la ECA b), y lobelina con la ECA d). Los ligandos se representan en color gris, junto con algunos aminoácidos que interactúan en el bolsillo de unión.



**Figura 18. Visualización de complejos formados en análisis de acoplamiento molecular de talastina y cinchonidina con la ECA (PDB ID: 1o86).** Se muestran las interacciones en dos dimensiones a), c) y tres dimensiones b), d), visualizadas con el software Discovery Studio Visualizer. Los tipos de interacciones se representan con los colores verde, naranja, rosa y lila. La interacción en 2D a), c) muestra los tipos de interacciones formadas entre talastina y la ECA a), y cinchonidina con la ECA c). La interacción en 3D b), d) detalla el sitio de unión establecido entre talastina y la ECA b), y cinchonidina con la ECA d). Los ligandos se representan en color gris.

## 8.3 ANÁLISIS PREDICTIVOS

### 8.3.1 Propiedades fisicoquímicas

Se realizó un análisis bioinformático predictivo de los 22 compuestos seleccionados mediante la herramienta en línea SwissADME. En la sección de propiedades fisicoquímicas, se evaluaron descriptores fundamentales para comprender el comportamiento de los compuestos, tales como el peso molecular, el número de átomos pesados, los anillos aromáticos, los enlaces rotativos, los aceptores de hidrógeno y los donadores de hidrógeno. Además, se incluyeron parámetros avanzados como la refractividad molecular, que influye en la interacción de las moléculas con el entorno, y el área de superficie polar topológica, esencial para predecir la permeabilidad celular y la biodisponibilidad de los compuestos (Cuadro 2 y 3).

### 8.3.2 Análisis in silico de las propiedades fisicoquímicas de compuestos derivados de *P. tricornutum*

El análisis predictivo realizado muestra que el fármaco lisinopril® tiene una masa molecular de 405.49 uma, estableciéndolo como un punto de referencia para evaluar los compuestos seleccionados. Entre los compuestos evaluados, se destacan 5-aminopentanal y cucurbitina con masas moleculares significativamente menores (101.15 uma y 130.15 uma, respectivamente), en contraste con fenicoxantina (580.84 uma), fitocromobilina (584.66 uma) e isomitiloxantina (598.85 uma), que presentan las mayores masas moleculares. Estos datos sugieren que los compuestos con mayor masa molecular podrían exhibir una menor permeabilidad celular y biodisponibilidad en comparación con los de menor masa molecular.

En cuanto al número de átomos pesados, 5-aminopentanal y cucurbitina presentan bajos números (7 y 9, respectivamente), mientras que isomitiloxantina destaca con el mayor número (44), seguida de fenicoxantina y fitocromobilina con 43 cada una.

Esta diferencia puede indicar una mayor complejidad estructural en los compuestos con más átomos pesados, lo cual podría influir en su capacidad para interactuar con diversos blancos biológicos.

Respecto a los aceptores y donadores de hidrógeno, desoxipeganina y tetrahydroarmol tienen un bajo número de aceptores (1 y 2, respectivamente), mientras que lisinopril® muestra un número elevado. En términos de donadores de hidrógeno, 5-aminopentanal y criptoforina presentan los valores más bajos, en comparación con fitocromobilina y lisinopril®, que tienen los valores más altos. Un mayor número de aceptores y donadores de hidrógeno está asociado con una mayor capacidad para formar enlaces de hidrógeno, lo que puede afectar la solubilidad y las interacciones del compuesto.

Finalmente, en el análisis de enlaces rotables, desoxipeganina y tetrahydroarmol no presentan enlaces rotables, mientras que cucurbitina y salsolina muestran un bajo número (1 cada uno). Lisinopril®, por otro lado, tiene el mayor número de enlaces rotable, seguido por fitocromobilina y fenicoxantina con 10 cada una, isomitiloxantina con 9, y (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina con 8. La presencia de un mayor número de enlaces rotables sugiere una mayor flexibilidad molecular, lo cual puede ser beneficioso para la interacción con múltiples objetivos biológicos.

En resumen, la selección de compuestos clave proporciona una visión concisa de las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y sus posibles implicaciones en el desarrollo de

fármacos, facilitando la interpretación de los resultados y la identificación de los candidatos más prometedores para futuras investigaciones.



**Cuadro 2. Propiedades fisicoquímicas de compuestos de *P. tricornutum***

Compuesto	MM	AP	AAP	ER	AH	DH
5-Aminopentanal	101.15	7	0	4	2	1
Cucurbitina	130.15	9	0	1	4	3
Guvacolina	141.17	10	0	2	3	1
Desoxipeganina	172.23	13	6	0	1	0
Salsolina	193.24	14	6	1	3	2
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	200.24	14	0	5	4	3
Tetrahidroharmol	202.25	15	9	0	2	3
1-Fenetil-4-piperidinona	203.28	15	6	3	2	0
Criptoforina	261.4	19	0	5	2	1
Cinconidinona	292.37	22	10	3	3	0
Febrifugina	301.34	22	10	4	5	2
Ceceline	304.34	23	19	3	3	2
Talastina	307.39	23	16	5	3	0
Palustrina	309.45	22	0	2	4	3
Lobelina	337.46	25	12	6	3	1
3-Hidroxiquinina	340.42	25	10	4	5	2
Alstonine	348.4	26	13	2	4	0
Transcainide	373.53	27	6	5	4	2
<b>Lisinopril</b>	<b>405.49</b>	<b>29</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>7</b>	<b>4</b>
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	416.45	29	11	8	6	2
Fenicoxantina	580.84	43	0	10	3	1
Fitocromobilina	584.66	43	10	10	7	5
Isomitiloxantina	598.85	44	0	9	4	2

Parámetros fisicoquímicos obtenidos mediante el análisis de SwissADME. Abreviaciones; MM: Masa molecular; AP: átomos pesados; AAP: anillos aromáticos pesados; ER: enlaces rotativos; AH: aceptores de hidrogeno; DH: donadores de hidrogeno.

### 8.3.3 Análisis in silico de las propiedades fisicoquímicas de compuestos derivados

#### de *P. tricornutum*

En cuanto al parámetro de superficie polar topológica, los compuestos desoxipeganina, 1-fenetil-4-piperidinona, criptoforina y cinconidona presentaron los valores más bajos, lo cual sugiere una baja polaridad superficial y, por ende, una mayor capacidad para atravesar membranas celulares lipofílicas. Por el contrario, compuestos como fitocromobilina, lisinopril® (132.969), (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolin y N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida mostraron los valores más altos, lo que indica una mayor polaridad, que podría dificultar su permeabilidad pasiva a través de membranas biológicas.

En cuanto al coeficiente de distribución, los compuestos con valores de log P bajos, como cucurbitina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, lisinopril® y 5-aminopentanal, muestran una alta afinidad por medios acuosos y una baja afinidad por compartimentos lipídicos. Este perfil hidrofílico sugiere que estos compuestos podrían enfrentar limitaciones para atravesar las membranas celulares lipídicas del intestino mediante difusión pasiva, lo cual podría reducir su absorción gastrointestinal. En cambio, compuestos como fenicoxantina, isomitiloxantina, fitocromobilina y lobelina, con valores de log P más altos, presentan una mayor lipofilia, lo que indica un potencial aumento en la absorción a nivel de membranas celulares debido a su facilidad para atravesar barreras lipídicas.

Por otro lado, en términos de solubilidad acuosa, compuestos como cucurbitina, 5-aminopentanal, lisinopril® y N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida muestran una alta solubilidad en agua, lo cual favorece su disolución en el entorno gastrointestinal. Esto es beneficioso para su biodisponibilidad inicial, ya que facilita su disponibilidad para la absorción. En contraste, los compuestos con baja solubilidad acuosa, como fenicoxantina, isomitiloxantina,

ceceline y fitocromobilina, podrían experimentar una absorción limitada debido a su menor solubilidad en el tracto gastrointestinal, lo cual afectaría su concentración en el sistema circulatorio tras la administración oral.

**Cuadro 3. Propiedades fisicoquímicas de compuestos de *P. tricornutum***

Compuesto	TPSA	Log P	Log S
Desoxipeganina	15.6	1.93	-1.87
1-Fenetil-4-piperidinona	20.31	2.09	-2.25
Criptoforina	23.47	3.39	-3.55
Cinconidinona	33.2	3.04	-3.93
Talastina	38.13	3.02	-3.71
Guvacolina	38.33	0.56	-0.62
Lobelina	40.54	3.51	-4.26
Salsolina	41.49	1.51	-2.13
5-Aminopentanal	43.09	0.27	0.16
Tetrahidroharmol	48.05	1.64	-2.5
Alstonine	53.35	2.87	-3.86
Fenicoxantina	54.37	8.95	-9.6
Ceceline	58.14	3.37	-4.59
Palustrina	64.6	1.09	-2.26
3-Hidroxiquinina	65.82	2	-3.12
Isomitiloxantina	74.6	7.93	-8.75
Cucurbitina	75.35	-1.8	1.84
Febrifugina	84.22	0.85	-1.83
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	87.46	-0.99	0.12
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	129.46	1.24	-2.74
<b>Lisinopril</b>	<b>132.96</b>	<b>0.08</b>	<b>0.15</b>
Fitocromobilina	164.71	3.62	-4.52

Parámetros fisicoquímicos obtenidos mediante el análisis de SwissADME. Abreviaciones; TPSA:

Superficie polar topológica.

## **8.4 Propiedades farmacocinéticas**

El análisis predictivo *in silico* de las propiedades farmacocinéticas de los compuestos derivados de *P. tricornutum* se realizó utilizando la plataforma bioinformática SwissADME. En la sección de farmacocinética, se evaluaron parámetros clave como la absorción gastrointestinal, la penetración de la barrera hematoencefálica, la permeabilidad mediada por glicoproteína P y la probabilidad de inhibición de las subfamilias del CYP450. Estos análisis son fundamentales para identificar candidatos prometedores con alta eficacia terapéutica y perfil de seguridad adecuado, optimizando el proceso de desarrollo de nuevos fármacos (Cuadro 4 y 5).

### **8.4.1 Evaluación *in silico* de las propiedades farmacocinéticas de compuestos derivados de *Phaeodactylum tricornutum***

El primer parámetro evaluado fue la absorción gastrointestinal. De todos los compuestos analizados, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, fitocromobilina, fenicoxantina e isomitiloxantina fueron los únicos en presentar una baja absorción gastrointestinal. Todos los demás compuestos, incluido lisinopril<sup>®</sup>, mostraron una alta absorción, lo que sugiere que la mayoría de los compuestos tienen un potencial significativo para ser absorbidos en el tracto gastrointestinal.

En relación con la penetración de la barrera hematoencefálica, los resultados predictivos indicaron que N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, fitocromobilina, fenicoxantina, isomitiloxantina, febrifugina, guvacolina, 5-aminopentanal, palustrina, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, cucurbitina y lisinopril<sup>®</sup> no penetran esta barrera. Por lo tanto, estos compuestos sugieren que estos podrían tener un bajo riesgo de efectos adversos en el sistema nervioso central, lo cual es favorable para tratamientos no neurológicos.

La glicoproteína P (P-gp) desempeña un papel crucial en la biodisponibilidad de los compuestos al actuar como una bomba de expulsión en las células intestinales, lo cual puede limitar la absorción sistémica de aquellos compuestos que son sustratos de esta proteína. En este sentido, los compuestos que interactúan menos con P-gp pueden presentar una mayor biodisponibilidad oral, mientras que los que interactúan activamente con esta glicoproteína son expulsados de las células intestinales y podrían estar limitados a formulaciones orales. Con respecto a la interacción con la P-gp, se identificaron como sustratos N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, febrifugina, guvacolina, 5-aminopentanal, cucurbitina, 1-fenetil-4-piperidinona, salsolina, alstonina, criptoforina, cinconidinona, lobelina y talastina.

La permeabilidad cutánea es un parámetro fundamental en la evaluación de compuestos para administración tópica o transdérmica, ya que determina la eficacia de la absorción a través de la piel. Para los compuestos orientados a aplicaciones orales, la relevancia de este parámetro es menor, aunque puede ser útil para evaluar el potencial de efectos secundarios en caso de contacto dérmico no intencional. En este estudio, los compuestos con valores más bajos de permeabilidad cutánea incluyen lisinopril®, cucurbitina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina y fitocromobilina, lo cual indica una capacidad limitada para ser absorbidos a través de la piel. Por el contrario, compuestos como cinconidinona, ceceline, criptoforina, isomitiloxantina y fenicoxantina presentan valores elevados de permeabilidad cutánea, lo que sugiere una mayor facilidad para atravesar la barrera cutánea y, en contextos transdérmicos, podrían favorecer una absorción más efectiva.

**Cuadro 4. Propiedades farmacocinéticas de compuestos derivados de *P. tricornutum***

<b>Molécula</b>	<b>AGI</b>	<b>BHE</b>	<b>P-gp</b>	<b>log Kp (cm/s)</b>
<b>Lisinopril</b>	<b>Alta</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>	<b>-10.8</b>
Cucurbitina	Alta	No	No	-9.82
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	Alta	No	Si	-8.2
Febrifugina	Alta	No	No	-8.08
Palustrina	Alta	No	Si	-7.48
5-Aminopentanal	Alta	No	No	-7.32
Guvacolina	Alta	No	No	-7.12
3-Hidroxiquinina	Alta	Si	Si	-7.1
Desoxipeganina	Alta	Si	Si	-6.65
Alstonine	Alta	Si	No	-6.59
Salsolina	Alta	Si	No	-6.53
Transcainide	Alta	Si	Si	-6.5
Tetrahidroharmol	Alta	Si	Si	-6.45
1-Fenetil-4-piperidinona	Alta	Si	No	-6.35
Talastina	Alta	Si	No	-6.17
Lobelina	Alta	Si	No	-5.69
Cinconidinona	Alta	Si	No	-5.68
Ceceline	Alta	Si	Si	-5.39
Criptoforina	Alta	Si	No	-5.17
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	Baja	No	No	-8.5
Fitocromobilina	Baja	No	Si	-8.13
Isomitiloxantina	Baja	No	Si	-3.43
Fenicoxantina	Baja	No	Si	-2.15

Parámetros farmacocinéticos obtenidos mediante el análisis de SwissADME. Abreviaciones; AGI: absorción gastrointestinal; BHE: barrera hematoencefálica; GP-P: glicoproteína p; log Kp: permeabilización de la piel.

#### **8.4.2 Evaluación *in silico* de los compuestos derivados de *P. tricornutum* como inhibidores de subfamilias del CYP450**

La inhibición de isoformas del CYP450, como CYP3A4 y CYP2D6, puede afectar la viabilidad de estos compuestos en tratamientos combinados o de larga duración. Estas enzimas son fundamentales para el metabolismo de numerosos fármacos, por lo que su inhibición podría provocar la acumulación no deseada de otros medicamentos en el organismo, aumentando así el riesgo de efectos adversos.

En este análisis, los compuestos que mostraron inhibición en la subfamilia CYP1A2 incluyen tetrahydroharmol, cinconidinona, lobelina, talastina y cecelina, lo que sugiere un impacto potencial en la metabolización de fármacos procesados por esta isoforma, como ciertos antidepresivos y antiinflamatorios (199, 200). Para la subfamilia CYP2C19, alstonina, talastina y cecelina inhibieron su actividad, lo cual podría afectar la biotransformación de fármacos como los inhibidores de la bomba de protones y algunos anticonvulsivos.

Respecto a CYP2C9, la inhibición por parte de criptoforina y talastina sugiere una posible interferencia en el metabolismo de antiinflamatorios no esteroideos y anticoagulantes. En la subfamilia CYP2D6, los compuestos 3-hidroxiquinina, cinconidinona, lobelina, alstonina, cecelina y talastina presentaron inhibición, lo que podría comprometer el metabolismo de una amplia gama de fármacos, incluidos betabloqueantes y antidepresivos tricíclicos. Por último, en la subfamilia CYP3A4, los inhibidores (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, isomitiloxantina, alstonina y cecelina podrían interferir en el metabolismo de medicamentos esenciales, como inmunosupresores, esteroides y ciertos agentes antirretrovirales.



**Cuadro 5. Probabilidad de inhibición de compuestos derivados de *Phaeodactylum tricornutum* con las subfamilias del citocromo P450**

<b>Molécula</b>	<b>CYP1A2 inhibidor</b>	<b>CYP2C19 inhibidor</b>	<b>CYP2C9 inhibidor</b>	<b>CYP2D6 inhibidor</b>	<b>CYP3A4 inhibidor</b>
1-Fenetil-4-piperidinona	No	No	No	No	No
Febrifugina	No	No	No	No	No
Salsolina	No	No	No	No	No
Desoxipeganina	No	No	No	No	No
Guvacolina	No	No	No	No	No
5-Aminopentanal	No	No	No	No	No
Palustrina	No	No	No	No	No
N-carbamoil-3-piperazin- 1-ilpropanamida	No	No	No	No	No
Cucurbitina	No	No	No	No	No
<b>Lisinopril</b>	<b>No</b>	<b>No</b>	<b>No</b>	<b>No</b>	<b>No</b>
Fitocromobilina	No	No	No	No	No
Fenicoxantina	No	No	No	No	No
Criptoforina	No	No	Si	No	No
3-Hydroxyquinina	No	No	No	Si	No
Transcainide	No	No	No	Si	No
(2S,5R)-4-dodecil-2,5- dimetilmorfolina	No	No	No	No	Si
Isomitiloxantina	No	No	No	No	Si
Alstonine	No	Si	No	Si	Si
Tetrahidroharmol	Si	No	No	No	No
Cinconidinona	Si	No	No	Si	No
Lobelina	Si	No	No	Si	No
Talastina	Si	Si	Si	Si	No
Ceceline	Si	Si	No	Si	Si

Probabilidad de inhibición de las subfamilias del CYP450 obtenidos mediante el análisis de SwissADME

### **8.4.3 Evaluación *in silico* de la similitud a otros fármacos de los compuestos derivados de *Phaeodactylum tricornutum***

La evaluación de la semejanza a otros fármacos se basa en la identificación de violaciones a los criterios establecidos por Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge y los criterios de biodisponibilidad (Cuadro 6 y 7).

Los compuestos 1-fenetil-4-piperidinona, febrifugina, criptoforina, palustrina, tetrahydroharmol, cinconidinona, 3-hidroxiquinina, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, lobelina, talastina, ceceline y alstonine presentan valores de probabilidad de biodisponibilidad de 0.55 o 0.85, lo que indica una alta probabilidad de biodisponibilidad oral. Estos compuestos no muestran violaciones significativas a las reglas de predicción de biodisponibilidad oral (Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge), lo cual sugiere que cumplen con los parámetros fisicoquímicos necesarios para una absorción eficiente por vía oral. En contraste, los compuestos que presentan violaciones a una o más de estas reglas podrían enfrentar limitaciones en su biodisponibilidad oral, lo que podría afectar su eficacia como fármacos administrados por esta vía (Cuadro 7).

**Cuadro 6. Criterios para evaluar la biodisponibilidad y farmacocinética de compuestos de *P. tricornutum* para ser utilizados como fármacos orales.**

<b>Criterio</b>	<b>Lipinski</b>	<b>Ghose</b>	<b>Veber</b>	<b>Egan</b>	<b>Muegge</b>
<b>Masa molecular</b>	< 500 Da	160 - 480 Da	< 500 Da	< 500 Da	< 500 Da
<b>Log P</b>	< 5	-0.4 - 5.6	NA	-0.4 - 5.6	0 - 5
<b>N.D.H</b>	< 5	NA	≤ 5	≤ 5	≤ 5
<b>N.A.H</b>	< 10	NA	≤ 10	≤ 10	≤ 10
<b>N.A.C</b>	NA	20 - 70	NA	≤ 40	NA
<b>N.A.O</b>	NA	< 12	NA	NA	NA
<b>N.D.H + N.A.H</b>	NA	NA	≤ 12	NA	≤ 12

Abreviaciones; N.D.H: Número de donadores de hidrógeno; N.A.H: Número de aceptores de hidrógeno; N.A.C: Número de átomos de carbono; N.A.O: Número de átomos de oxígeno; N.D.H + N.A.H: Número total de átomos de hidrógeno donadores y aceptores.

**Cuadro 7. Probabilidad de semejanza a otros fármacos de los compuestos derivados de *P. tricornutum***

Compuesto	Lipinski (#Viol.)	Ghose (#Viol.)	Veber (#Viol.)	Egan (#Viol.)	Muegge (#Viol.)	PB
Fitocromobilina	1	3	1	1	1	0.11
Fenicoxantina	2	4	0	1	1	0.17
Isomitiloxantina	2	4	0	1	1	0.17
Palustrina	0	0	0	0	0	0.55
Tetrahidroharmol	0	0	0	0	0	0.55
Cinconidinona	0	0	0	0	0	0.55
3-Hidroxiquinina	0	0	0	0	0	0.55
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	0	0	0	0	0	0.55
Lobelina	0	0	0	0	0	0.55
Talastina	0	0	0	0	0	0.55
Ceceline	0	0	0	0	0	0.55
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	0	1	0	0	0	0.55
Salsolina	0	0	0	0	1	0.55
Desoxipeganina	0	0	0	0	1	0.55
Guvacolina	0	1	0	0	1	0.55
5-Aminopentanal	0	3	0	0	1	0.55
<b>Lisinopril</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>0.55</b>
Cucurbitina	0	4	0	0	2	0.55
Alstonine	0	0	0	0	0	0.85

Probabilidad de similitud a otros fármacos obtenidos mediante el análisis de SwissADME

Abreviaciones; #Viol.: número de violaciones; PB: Puntuación de biodisponibilidad.

#### 8.4.4 Evaluación *in silico* de la química medicinal de los compuestos derivados de

##### *Phaeodactylum tricornutum*

Los resultados obtenidos de química medicinal son presentados en el cuadro 8. Los compuestos fitocromobilina, fenicoxantina e isomitiloxantina presentan múltiples violaciones a la regla de Lipinski (de 2 a 3 violaciones) y elevados valores de alerta de síntesis (6.08, 6.23 y 7.32, respectivamente), lo que sugiere problemas tanto en su biodisponibilidad oral como en su viabilidad sintética. Estas características hacen que estos compuestos sean menos favorables para el desarrollo de fármacos debido a sus limitaciones en absorción y dificultad en la síntesis.

En contraste, tetrahidroharmol muestra una alerta PAINS y una violación de la regla de Lipinski, con un valor de alerta de síntesis de 2.45. Esto sugiere que el compuesto podría tener problemas de biodisponibilidad y puede dar lugar a resultados engañosos en pruebas biológicas.

Además, los compuestos cinconidinona, criptoforina, palustrina y 3-hidroxiquinina presentan alertas Brenk, que indican la presencia de subestructuras potencialmente tóxicas o desfavorables. A pesar de estas alertas, su biodisponibilidad y viabilidad sintética podrían ser aceptables, dado que sus valores de accesibilidad sintética varían entre 3.98 y 5.2, sugiriendo que la síntesis, aunque compleja, es factible.

Por otro lado, febrifugina, alstonine y talastina no presentan violaciones a la regla de Lipinski ni alertas PAINS o Brenk, lo que indica un perfil favorable para la biodisponibilidad oral y la ausencia de subestructuras potencialmente tóxicas. Sus valores de alerta de síntesis (3.23, 4.32 y 2.86, respectivamente) sugieren una accesibilidad sintética moderada, lo que las convierte en buenos candidatos para el desarrollo de fármacos.

**Cuadro 8. Predicción de química medicinal de compuestos derivados de *P. tricornutum***

Compuesto	PAINS #alertas	Brenk #alertas	SL #viol.	AS
5-Aminopentanal	0	1	1	1
1-Fenetil-4-piperidinona	0	0	1	1.27
N-carbamoil-3-piperazin- 1-ilpropanamida	0	0	1	1.87
Cucurbitina	0	0	1	1.88
Salsolina	0	0	1	2.26
Ceceline	0	0	1	2.41
Tetrahidroharmol	1	0	1	2.45
Guvacolina	0	0	1	2.52
Talastina	0	0	0	2.86
Desoxipeganina	0	0	1	2.92
Febrifugina	0	0	0	3.23
Lobelina	0	0	1	3.23
<b>Lisinopril</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>3.67</b>
Cinconidinona	0	1	0	3.98
(2S,5R)-4-dodecil-2,5- dimetilmorfolina	0	0	2	4.14
Criptoforina	0	1	1	4.19
Alstonine	0	0	0	4.32
3-Hidroxiquinina	0	1	0	4.46
Palustrina	0	1	0	5.2
Fitocromobilina	0	0	2	6.08
Fenicoxantina	0	0	3	6.23
Isomitiloxantina	0	3	3	7.32

Química medicinal obtenida mediante el análisis de SwissADME. Abreviaciones; SL: semejanza de líder;

AS: accesibilidad sintética; viol.: violaciones.

## **8.5 Evaluación *in silico* del perfil de toxicidad de los compuestos derivados de *Phaeodactylum tricornutum***

Se llevó a cabo un análisis bioinformático predictivo del perfil de toxicidad de los 22 compuestos seleccionados, utilizando las herramientas en línea ADMETLab (Cuadro 9 al 12). El perfil de toxicidad de una molécula se evalúa para determinar su seguridad y posibles efectos adversos. Los parámetros analizados incluyen genotoxicidad, toxicidad reproductiva, mutagenicidad, carcinogenicidad, toxicidad aguda oral, toxicidad aguda dérmica, toxicidad subcrónica, toxicidad crónica, sensibilización cutánea, irritación ocular e irritación cutánea.

### **8.5.1 Predicción *in silico* de los parámetros de bloqueadores hERG, hepatotoxicidad humana, lesión hepática inducida por fármacos y toxicidad AMES**

Los hallazgos toxicológicos revelan que ciertos compuestos presentan un perfil más favorable en términos de seguridad. Cucurbitina, palustrina y 5-aminopentanal se destacan por su bajo riesgo de toxicidad cardíaca, hepatotoxicidad y lesión hepática inducida por fármacos (DILI), así como por un riesgo moderado de mutagenicidad. Estos compuestos parecen ser seguros desde una perspectiva toxicológica y exhiben un bajo riesgo en diversos aspectos, lo que los convierte en candidatos prometedores para el desarrollo de fármacos.

En contraste, fitocromobilina e isomitiloxantina presentan un alto riesgo en múltiples parámetros, incluyendo toxicidad cardíaca, hepatotoxicidad y DILI, además de un riesgo moderado de mutagenicidad. Dada la presencia de estas preocupaciones, estos compuestos requieren una evaluación más detallada antes de proceder con su desarrollo. Lobelina y alstonine también muestran un elevado riesgo de toxicidad cardíaca y mutagenicidad, sugiriendo que podrían no ser adecuados para el desarrollo farmacológico.

Finalmente, compuestos como lisinopril<sup>®</sup>, desoxipeganina y febrifugina presentan un riesgo moderado, especialmente en relación con hepatotoxicidad y DILI. Aunque estos riesgos son gestionables, es esencial realizar un monitoreo más riguroso en estudios preclínicos para asegurar su seguridad.

En resumen, algunos de los compuestos identificados en el extracto de *P. tricornutum* demostraron un perfil toxicológico más ventajoso en comparación con el compuesto de referencia utilizado para tratar la hipertensión arterial.



**Cuadro 9. Parametros toxicológicos de compuestos derivados de *P. tricornutum* mediante predicciones de hERG, H-HT, DILI y Ames**

Compuesto	hERG	H-HT	DILI	Ames
Cucurbitina	0.008	0.057	0.011	0.144
Guvacolina	0.02	0.114	0.181	0.531
Palustrina	0.022	0.066	0.024	0.033
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	0.033	0.052	0.053	0.128
<b>Lisinopril</b>	<b>0.036</b>	<b>0.977</b>	<b>0.813</b>	<b>0.004</b>
Desoxipeganina	0.042	0.881	0.251	0.074
5-Aminopentanal	0.043	0.073	0.029	0.954
Salsolina	0.059	0.376	0.138	0.327
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	0.066	0.8	0.981	0.019
Febrifugina	0.067	0.753	0.592	0.122
1-Fenetil-4-piperidinona	0.109	0.274	0.037	0.771
Fitocromobilina	0.136	0.933	0.972	0.055
Ceceline	0.255	0.773	0.951	0.812
Criptoforina	0.28	0.587	0.009	0.684
3-Hidroxiquinina	0.319	0.688	0.041	0.03
Fenicoxantina	0.507	0.214	0.021	0.253
Alstonine	0.611	0.925	0.77	0.959
Isomitiloxantina	0.628	0.538	0.095	0.607
Cinconidinona	0.648	0.954	0.526	0.631
Talastine	0.664	0.55	0.891	0.667
Lobelina	0.87	0.372	0.027	0.079

Parámetros toxicológicos obtenidos mediante el análisis de ADMETLab. Abreviaturas; hERG:

Bloqueadores Herg; H-HT: hepatotoxicidad humana; DILI: lesión hepática inducida por fármacos;

Ames: Toxicidad Ames.

### **8.5.2 Predicción *in silico* de los parámetros de toxicidad aguda en ratas, dosis diaria máxima recomendada, sensibilización de la piel y carcinogenicidad**

Los hallazgos más relevantes de estos resultados proporcionan una visión detallada del perfil toxicológico de los compuestos, evaluando cuatro indicadores clave: Toxicidad aguda oral (TAO), dosis máxima diaria recomendada, sensibilización cutánea y potencial cancerígeno.

N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida y el fármaco de referencia, lisinopril®, mostraron los valores más bajos en todos los parámetros evaluados. Ambos compuestos presentan una toxicidad aguda oral muy baja ( $TAO < 0.02$ ), una baja sensibilización cutánea, y un potencial cancerígeno extremadamente bajo. Esto sugiere que N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida tiene un perfil toxicológico seguro y podría ser un candidato prometedor para el desarrollo de nuevos fármacos.

Por otro lado, cucurbitina también exhibe un perfil favorable con baja toxicidad aguda y una dosis máxima recomendada relativamente baja. Sin embargo, presenta un riesgo moderado de sensibilización cutánea y un potencial cancerígeno ligeramente mayor en comparación con N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida y lisinopril®.

En contraste, palustrina, guvacolina, fenicoxantina, y (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina muestran valores moderados en toxicidad aguda y sensibilización cutánea, pero tienen un alto valor de dosis máxima diaria recomendada, indicando un mayor riesgo potencial a medida que aumenta la dosis recomendada. Además, fenicoxantina y alstonine presentan un riesgo elevado de potencial cancerígeno, con valores de 0.048 y 0.974, respectivamente, lo que representa una preocupación adicional en el desarrollo de estos compuestos.

Isomitiloxantina, criptoforina, y fitocromobilina presentan valores alarmantes en varios parámetros. Estos compuestos muestran alta toxicidad aguda oral ( $TAO > 0.5$ ) y elevados riesgos de sensibilización cutánea ( $SP > 0.9$ ), lo que sugiere una alta probabilidad de reacciones adversas. Además, su potencial cancerígeno es considerablemente alto, con valores que oscilan entre 0.521 y 0.885, colocándolos entre los candidatos con mayor riesgo toxicológico.

5-Aminopentanal y tetrahydroharmol también presentan riesgos significativos, con alta toxicidad aguda ( $TAO > 0.9$ ), altos niveles de sensibilización cutánea y riesgos moderados de cáncer, lo que podría limitar su viabilidad.

**Cuadro 10. Predicción del perfil toxicológico de compuestos derivados de *P. tricornutum* en toxicidad aguda por vía oral en ratas y otros parámetros**

Compuesto	TAO	FDAMDD	SP	Carc.
<b>Lisinopril</b>	<b>0.018</b>	<b>0.201</b>	<b>0.235</b>	<b>0.017</b>
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	0.019	0.024	0.27	0.06
Cucurbitina	0.044	0.019	0.107	0.097
Guvacolina	0.067	0.676	0.962	0.14
Palustrina	0.079	0.722	0.462	0.028
Fenicoxantina	0.158	0.877	0.982	0.048
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	0.187	0.227	0.052	0.374
Alstonine	0.19	0.884	0.067	0.974
Isomitiloxantina	0.232	0.971	0.974	0.102
Cinconidinona	0.245	0.618	0.04	0.499
Talastine	0.309	0.063	0.42	0.199
Lobelina	0.313	0.906	0.672	0.109
Ceceline	0.349	0.896	0.541	0.672
1-Fenetil-4-piperidinona	0.429	0.837	0.509	0.31
Salsolina	0.468	0.899	0.457	0.068
Febrifugina	0.515	0.855	0.325	0.278
Criptoforina	0.538	0.951	0.969	0.521
Desoxipeganina	0.57	0.299	0.808	0.924
3-Hidroxiquinina	0.745	0.849	0.09	0.091
5-Aminopentanal	0.919	0.04	0.953	0.08
Tetrahydroharmol	0.967	0.939	0.589	0.41
Fitocromobilina	0.971	0.91	0.467	0.885

Parámetros toxicológicos obtenidos mediante el análisis de ADMETLab. Abreviaturas; TAO: Toxicidad aguda por vía oral en ratas; FDAMDD: dosis diaria máxima recomendada; SP: sensibilización de la piel; Carc.: carcinogenicidad.

### **8.5.3 Predicción *in silico* de los parámetros irritación ocular, corrosión ocular, toxicidad respiratoria, factor de bioconcentración**

La mayoría de los compuestos evaluados presentan un valor de corrosión ocular inferior a 0.1, indicando un bajo o nulo riesgo de causar corrosión ocular. No obstante, 5-Aminopentanal y guvacolina son excepciones, con valores superiores a 0.9, lo que sugiere un alto riesgo de corrosión ocular y podría requerir precauciones adicionales en su manejo y formulación.

En cuanto a la irritación ocular, los compuestos con valores menores a 0.1 presentan un riesgo bajo de causar irritación ocular, incluyendo la mayoría de los compuestos como fitocromobilina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, y el fármaco de referencia, lisinopril®. Sin embargo, ceceline, desoxipeganina y guvacolina mostraron valores superiores a 0.5, indicando un riesgo elevado de irritación ocular que podría limitar su uso en productos que entren en contacto con los ojos.

Respecto a la toxicidad respiratoria, compuestos como fitocromobilina presentan valores superiores a 0.7, lo que sugiere un alto riesgo de toxicidad respiratoria. Esto indica que estos compuestos podrían tener efectos adversos significativos en el sistema respiratorio, requiriendo una evaluación cuidadosa en su desarrollo. Otros compuestos, como palustrina, tienen valores entre 0.3 y 0.7, lo que sugiere un riesgo moderado de toxicidad respiratoria. Aunque no es tan crítico como el riesgo alto, estos compuestos aún podrían necesitar estudios adicionales para evaluar su seguridad en entornos donde la exposición respiratoria es posible. En contraste, compuestos como (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina tienen valores inferiores a 0.3, indicando un bajo riesgo de toxicidad respiratoria.

Finalmente, el factor de bioconcentración evalúa el potencial de un compuesto para acumularse en organismos vivos y su impacto ambiental potencial. Compuestos como alstonine, ceceline, fenicoxantina, isomitiloxantina, y criptoforina tienen valores de BCF superiores a 1, indicando un alto riesgo de bioacumulación, lo que podría llevar a efectos negativos en el medio ambiente. En contraste, compuestos como cucurbitina, fitocromobilina y N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida presentan valores de BCF inferiores a 0.1, lo que sugiere un bajo riesgo de bioacumulación y una menor probabilidad de impacto ambiental significativo. El fármaco de referencia, lisinopril®, muestra un riesgo moderado de bioacumulación con valores entre 0.1 y 1, lo que puede implicar una consideración balanceada entre eficacia y posible impacto ambiental.

**Cuadro 11. Predicción del perfil toxicológico de compuestos derivados de *P. tricornutum* en irritación ocular y otros parámetros**

<b>Compuesto</b>	<b>EC</b>	<b>EI</b>	<b>RT</b>	<b>BCF</b>
Fitocromobilina	0.003	0.006	0.988	-0.072
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	0.003	0.021	0.215	0.027
<b>Lisinopril</b>	<b>0.003</b>	<b>0.013</b>	<b>0.361</b>	<b>0.11</b>
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	0.003	0.009	0.055	0.197
Palustrina	0.003	0.007	0.69	0.306
Febrifugina	0.003	0.012	0.432	0.447
3-Hidroxiquinina	0.003	0.01	0.971	0.538
Lobelina	0.003	0.011	0.816	0.899
Cinconidinona	0.003	0.014	0.88	0.95
Talastine	0.003	0.015	0.823	0.975
Criptoforina	0.003	0.011	0.486	1.003
Isomitiloxantina	0.003	0.007	0.973	1.118
Fenicoxantina	0.003	0.056	0.507	1.243
Alstonine	0.003	0.015	0.911	1.813
Salsolina	0.004	0.026	0.91	0.836
Ceceline	0.004	0.609	0.979	1.325
Tetrahydroharmol	0.005	0.035	0.962	0.404
Cucurbitina	0.011	0.046	0.297	-0.089
1-Fenetil-4-piperidinona	0.021	0.284	0.663	0.392
Desoxipeganina	0.023	0.575	0.943	0.802
Guvacolina	0.919	0.668	0.552	0.279
5-Aminopentanal	0.994	0.413	0.885	0.531

Parámetros toxicológicos obtenidos mediante el análisis de ADMETLab. Abreviaturas; EI: irritación ocular; EC: corrosión ocular; TR: toxicidad respiratoria; BCF: factor de bioconcentración.

#### **8.5.4 Predicción *in silico* de las reglas RGCM, SChEMBL, no biodegradable, sensibilización de la piel y toxicidad acuática aguda**

Los hallazgos más destacados de este análisis revelan que los compuestos cucurbitina, palustrine y tetrahidroharmol exhiben perfiles altamente favorables, sin registrar violaciones en ninguna de las categorías evaluadas (genotoxicidad, sensibilización cutánea, biodegradabilidad, riesgo de sensibilización pulmonar y toxicidad acuática). Este comportamiento sugiere que estos compuestos son seguros tanto desde el punto de vista toxicológico como ambiental, lo que los posiciona como candidatos potenciales para aplicaciones seguras en diversas áreas.

En contraste, compuestos como criptoforina, 3-hidroxiquinina y N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida presentaron una o dos violaciones específicas. Criptoforina mostró inhibición en la categoría de sensibilización cutánea, mientras que 3-hidroxiquinina y N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida presentaron fallas en biodegradabilidad y riesgo de sensibilización pulmonar, respectivamente. Aunque su perfil toxicológico general es aceptable, estos riesgos puntuales deben considerarse en su evaluación para evitar posibles efectos adversos.

En cuanto a los compuestos con riesgo moderado, se identificaron desoxipeganina, 5-aminopentanal y salsolina, los cuales presentaron violaciones en sensibilización cutánea o toxicidad acuática. Aunque estas infracciones sugieren ciertos problemas de seguridad, su perfil tóxico es menos preocupante en comparación con los compuestos que presentaron múltiples violaciones, por lo que podrían considerarse con precaución en contextos específicos. No obstante, sigue siendo necesario un análisis cuidadoso para garantizar la seguridad en su aplicación.



Por otro lado, compuestos como guvacolina, fenicoxantina e isomitiloxantina presentaron múltiples violaciones en parámetros críticos, lo que sugiere un perfil toxicológico y ambiental preocupante. Guvacolina mostró problemas de genotoxicidad, riesgo de sensibilización pulmonar y alta toxicidad acuática, lo que implica un potencial impacto negativo en la salud humana y el ecosistema. Fenicoxantina e isomitiloxantina también exhibieron violaciones en todas las categorías evaluadas, con una toxicidad acuática particularmente elevada, lo que refuerza su perfil de alto riesgo.

Finalmente, ceceline presentó una combinación de violaciones en genotoxicidad, biodegradabilidad y toxicidad acuática, lo que subraya su perfil toxicológico adverso y su potencial para causar daños ambientales significativos. Este análisis refuerza la importancia de realizar evaluaciones exhaustivas de los compuestos, tanto desde una perspectiva toxicológica como ambiental, para garantizar su seguridad y minimizar riesgos asociados a su uso industrial o farmacéutico.

**Cuadro 12. Predicción del perfil toxicológico de compuestos derivados de *P. tricornutum* en regla de genotoxicidad, carcinogenicidad y mutagenicidad y parámetros adicionales.**

Compuesto	RGCM	SChEMBL	NB	RSP	TAA
Cucurbitina	0	0	0	0	0
Palustrine	0	0	0	0	0
Tetrahydroharmol	0	0	0	0	0
Criptoforina	0	2	0	0	0
3-Hidroxiquinina	0	0	1	0	0
N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida	0	0	0	1	0
(2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina	0	0	0	1	0
Lobelina	0	0	0	1	0
Febrifugina	0	0	1	1	0
1-Fenetil-4-piperidinona	0	0	1	1	0
Talastine	0	0	1	1	0
Cinconidinona	0	0	1	1	0
<b>Lisinopril</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>0</b>
5-Aminopentanal	0	1	0	3	0
Salsolina	0	0	0	4	0
Desoxipeganina	0	0	0	1	1
Fitocromobilina	0	1	0	1	2
Guvacolina	1	0	0	1	3
Fenicoxantina	1	2	1	5	3
Isomitiloxantina	1	3	1	4	4
Alstonine	3	0	1	0	0
Ceceline	4	0	2	1	3

Parámetros toxicológicos obtenidos mediante el análisis de ADMETLab. Abreviaturas; RGCM: Regla de Genotoxicidad, Carcinogenicidad y Mutagenicidad; SChEMBL: regla estructurales de SureChEMBL; NB: no biodegradable; RSP: regla de sensibilización de la piel; TAA: toxicidad acuática aguda.

## IX DISCUSIÓN

### 9.1 Pre-identificación de compuestos de *Phaeodactylum tricornutum*

En la actualidad, existe una amplia gama de compuestos bioactivos prometedores en el ámbito de la salud, con potenciales aplicaciones en sectores como la biotecnología, la farmacología, la nutracéutica, la cosmética y la producción animal. Las microalgas se distinguen por su alta plasticidad metabólica, lo que les permite adaptarse a entornos cambiantes mediante la producción de metabolitos secundarios. Estas microalgas son capaces de sintetizar una variedad de compuestos bioactivos, incluidos pigmentos, lípidos, glicolípidos, péptidos, policétidos, ácidos fenólicos, vitaminas, flavonoides, macrólidos, alcaloides y terpenoides (201).

Para obtener compuestos bioactivos, se utilizan métodos de extracción que emplean disolventes como el metanol. Este solvente es ampliamente utilizado debido a su alta polaridad, lo que lo hace efectivo para extraer una variedad de compuestos. Entre los compuestos que se pueden obtener con metanol se incluyen alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, terpenoides, glicósidos, saponinas, ácidos fenólicos, lignanos y esteroides (202).

En los resultados de la preidentificación del presente trabajo, se observó una mayor proporción de compuestos pertenecientes a la clase de los terpenoides. Estos compuestos han sido identificados en microalgas como *Chlamydomonas reinhardtii* y *Botryococcus braunii* (203, 204). Además, utilizando extracto metanólico, Ko y col. reportaron la presencia de terpenoides en *Sargassum macrocarpum* (205).

El segundo grupo con mayor proporción en la preidentificación correspondió a los compuestos de tipo alcaloide. Se ha reportado la presencia de alcaloides en diversas microalgas, incluyendo *Spirulina platensis*, *isochrysis galbana* y *Tetraselmis* (206). Asimismo, se ha documentado la presencia de alcaloides en extractos metanólicos de las microalgas *Anabaena sp.*, *Oscillatoria sp.*, *Stichococcus sp.* y *Chlorella sp.*, (207).

Los carotenoides son otro grupo de compuestos que presentaron una mayor proporción en la preidentificación. En diatomeas, se han descrito siete tipos de carotenoides, incluyendo las xantofilas fucoxantina, diatouxantina, diadinoxantina, anteraxantina, zeaxantina y violaxantina, además del  $\beta$ -caroteno. La presencia de carotenoides también se ha reportado en diversas microalgas como *Haematococcus pluvialis*, *Chromochloris zofingiensis*, *Dunaliella salina*, *Chlorella zofingiensis*, *Spirulina platensis*, *Caulerpa taxifolia*, *Chlorella ellipsoidea*, *Laminaria japónica*, *Undaria pinnatifid*, *Isochrysis zhanjiangensis* y *Odontella aurita* (208). En el presente estudio se preidentificó la xantofila fucoxantina, además de otras xantofilas como astaxantina, citranaxantina, giroxantina, hopkinsiaxantina, rodoxantina, isomitiloxantina y fenicoxantina.

En paralelo, los ácidos carboxílicos son metabolitos secundarios producidos por diversas especies de microalgas, incluyendo *Chlorella spp.* y *Scenedesmus spp* (209). En el estudio realizado, se identificó una variedad de ácidos carboxílicos, entre los cuales destacan el ácido 5-hidroxipiperidina-2-carboxílico, ácido 6-heptenoico, ácido 2-hidroxiciclohexanocarboxílico y el ácido 5-hidroxipiperidina-2-carboxílico.

Otro grupo destacado por su abundancia son los ácidos grasos los cuales ya han sido encontrados en microalgas como *Thalassiosira pseudonana*, *Odontella aurita*, *Attheya longicornis*, *Synedra sp* y en *Phaodactylum tricorutum* (159). Algunos de los ácidos grasos ya

encontrados en microalgas incluyen el ácido eicosapentaenoico, ácido palmitoleico y ácido linolénico, los cuales también fueron preidentificados en este estudio.

En *P. tricornutum* se han identificado varios compuestos que coinciden con los preidentificados en el presente estudio, como el  $\beta$ -caroteno (210), fucoxantina y diatoxantina (211), además de un ácido graso (2E,4E,6E,8E,10E,12E)-15-[(1S,4S,6S)-4-hydroxy-2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptan-1-yl]-4,9,13-trimethyl-14-oxopentadeca2,4,6,8,10, 12-hexaenal (212). La presencia de estos compuestos ya identificados en *P. tricornutum* proporciona una mayor certeza sobre la precisión de la preidentificación realizada. Sin embargo, para una confirmación definitiva de los compuestos obtenidos, se recomienda llevar a cabo estudios adicionales. En particular, los estudios de acoplamiento molecular de estos compuestos derivados de *P. tricornutum* resultan esenciales para comprender su comportamiento y afinidad con diversos blancos moleculares.

### **9.1.1 Acoplamiento molecular de los compuestos derivados de *P. tricornutum***

La energía de enlace se refiere comúnmente a la energía requerida para romper un enlace covalente entre dos átomos. En el caso del ATP (adenosina trifosfato), la hidrólisis en una solución acuosa tiene una energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ ) de aproximadamente -7.5 kcal/mol, indicando que esta reacción es termodinámicamente espontánea. De hecho, el  $\Delta G$  de la hidrólisis del ATP se utiliza frecuentemente como un ejemplo estándar para ilustrar el concepto de espontaneidad de las reacciones químicas. En términos químicos, un proceso espontáneo se define como aquel que ocurre sin la necesidad de un aporte externo de energía. Un  $\Delta G$  negativo ( $\Delta G < 0$ ) es indicativo de que una reacción es espontánea (213).

Aplicando este principio al análisis de acoplamiento molecular, se eligieron los compuestos que presentaban las mejores energías de enlace con la enzima convertidora de

angiotensina. De los mejores veintidós compuestos, nueve tuvieron una energía de enlace con la ECA más negativa que la del fármaco de referencia lisinopril<sup>®</sup>, (-29.535 kcal/mol) y también más negativa que la energía de hidrólisis del ATP (-7.5 kcal/mol). Estos compuestos fueron febrifugina (-33.144 kcal/mol), (2S,2R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina (-32.529 kcal/mol), lobelina (-32.289 kcal/mol), talastina (-32.284 kcal/mol), cinconidina (-32.001 kcal/mol), palustrina (-31.976 kcal/mol), cecelina (-31.708 kcal/mol), 3-hidroxiquinina (-31.383 kcal/mol) y 1-fenetil-4-piperidinona (-30.26 kcal/mol). Las energías de enlace de estos compuestos sugieren que se unen de manera eficaz a la ECA, formando un complejo estable y potencialmente ejerciendo un efecto beneficioso en la regulación de la presión arterial (214).

Por otro lado, los compuestos que presentaron energías de enlace menos negativas que la del fármaco de referencia fueron los siguientes: N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida (-29.205 kcal/mol), curcubitina (-28.55 kcal/mol), 5-aminopentanal (-28.347 kcal/mol), salsonina (-28.226 kcal/mol), desoxipeganina (-28.128 kcal/mol), guvacolina (-27.789 kcal/mol), criptoforina (-27.589 kcal/mol), tetrahydroarmol (-26.88 kcal/mol), fitocromobilina (-22.539 kcal/mol) y isomitiloxantina, (-21.512 kcal/mol). Aunque estos compuestos presentaron valores de energía de enlace menos negativos que el fármaco de referencia, sus valores aún son más negativos que la energía de hidrólisis del ATP (-7.5 kcal/mol), lo que indica que estas reacciones también son espontáneas.

Por lo tanto, no se descarta que estos compuestos puedan tener un posible efecto beneficioso en la regulación de la presión arterial, lo cual sustentó su inclusión en los análisis predictivos realizados.

En un estudio similar se evaluaron compuestos de los tipos terpenoide, esteroide, flavonoide, fenol y glucósido. Se realizó un acoplamiento molecular con enfoque rígido

utilizando la enzima convertidora de angiotensina. Se utilizó como referencia el fármaco lisinopril<sup>®</sup>, que presentó una energía de enlace de -9.83 kcal/mol, un valor que difiere del obtenido en este estudio. Sin embargo, esta diferencia puede atribuirse al tipo de enfoque de acoplamiento molecular empleado, ya que al ser la ECA una metaloproteína, es más adecuado utilizar un acoplamiento molecular específico para metaloproteínas. En ese estudio, los compuestos  $\beta$ -sitosterol (-9.27 kcal/mol) y sinalbin (-9.14 kcal/mol) presentaron energías de enlace cercanas a la del fármaco de referencia, lo que sugiere que los compuestos naturales tienen potencial para ser utilizados como reguladores de la presión arterial (215).

En otro estudio se evaluó el acoplamiento de los meroterpenoides 7-metil sargachromenol (dos isoformas, R y S), ácido sargaquinoico y sargachromenol (dos isoformas, R y S) con la enzima convertidora de angiotensina. Dichos meroterpenoides fueron obtenidos de un extracto metanólico del alga *Sargassum macrocarpum*. En ese estudio no se incluyó un fármaco de referencia; sin embargo, los valores obtenidos de energía de enlace de los meroterpenoides fueron significativamente más negativos que el valor de energía de enlace del fármaco de referencia utilizado en este estudio.

Los valores obtenidos fueron los siguientes: ácido sargaquinoico (-248.169 kcal/mol), R-sargachromenol (-198.931 kcal/mol), S-sargachromenol (-190.337 kcal/mol), R-7-metil sargachromenol (-218.374 kcal/mol) y S-7-metil sargachromenol (-227.35 kcal/mol). Estos resultados destacan la importancia de los productos naturales como posibles opciones terapéuticas para la hipertensión arterial (205).

### **9.1.2 Análisis de las interacciones de los compuestos**

Para el análisis de las interacciones formadas entre los respectivos compuestos y la enzima convertidora de angiotensina, se consideró el sitio activo de la enzima, que incluye los bolsillos

principales S1, S'1, S'2 y el motivo conservado de unión al zinc (HEXXH), el cual es crítico para la actividad catalítica de la ECA. En el bolsillo S1 se encuentran los residuos Ala354, Glu384 y Tyr523; en el bolsillo S'1, el residuo Glu162; en el bolsillo S'2, los residuos Gln281, His353, Lys511, His513 y Tyr520; y en el motivo de unión al zinc los residuos His383, Glu384 e His387. Los bolsillos del sitio activo de la ECA desempeñan un papel crucial, ya que determinan la especificidad de la enzima hacia los sustratos y la eficiencia catalítica. Además, el conocimiento de la estructura y función de estos bolsillos permite el desarrollo de terapias más efectivas para la regulación de la presión arterial (216).

La evaluación de las interacciones de los compuestos con los diferentes bolsillos del sitio activo de la enzima convertidora de angiotensina sugiere que varios compuestos pueden formar interacciones clave que potencian su capacidad de inhibir la enzima. El lisinopril<sup>®</sup>, fármaco de referencia, mostró interacciones en los bolsillos S1 y S'2 y en el motivo de unión al zinc, confirmando su eficacia como inhibidor de la ECA (54).

Entre los compuestos analizados, muchos mostraron interacciones significativas con los mismos residuos, destacando la febrifugina, que interactuó con todos los residuos importantes en el bolsillo S1 y algunos en el motivo de unión al zinc.

Tetrahydroarmol al igual que febrifugina presento interacción en el residuo Glu 384, el cual es un residuo crucial en la interacción de lisinopril con la ECA. La presencia de múltiples interacciones similares a lisinopril<sup>®</sup>, sugiere que estos compuestos podrían tener un mecanismo de inhibición similar, lo cual podría ser prometedor para su potencial como inhibidores de la ECA (214). Además los compuestos Sasolina y desoxipeganina muestran interacciones con los tres residuos clave en el bolsillo S1, esto podría indicar un fuerte potencial para interactuar con la ECA y posiblemente inhibir su función (216). La alta frecuencia de interacción con Tyr523



sugiere que este residuo es crucial para la unión de compuestos (217). Por lo tanto, optimizar la afinidad por Tyr523 mediante modificaciones estructurales podría aumentar la eficacia de los inhibidores de la ECA.

Por otro lado, los compuestos salsolina y desoxipeganina presentan interacciones con los tres residuos clave de HEXXH (His383, Glu384 e His387). Estos residuos son fundamentales para la actividad de la ECA, y las interacciones fuertes con ellos pueden aumentar la eficacia del inhibidor. Mejorar estas interacciones podría conducir al desarrollo de inhibidores más potentes y específicos (218).

Estas interacciones específicas no solo afectan la eficacia del compuesto, sino que también son cruciales para determinar su perfil ADME y su toxicidad. Los tipos de interacciones entre un fármaco y sus blancos biológicos, así como con las estructuras celulares, influyen directamente en la absorción, distribución, metabolismo y excreción de los compuestos.

Por ello, comprender cómo estas interacciones impactan en cada uno de estos aspectos es indispensable para optimizar el diseño de nuevos compuestos farmacológicos, garantizando así su eficacia y seguridad (219). Las interacciones pi-pi y pi-alquilo entre compuestos aromáticos pueden favorecer la solubilidad en lípidos, facilitando la absorción a través de las membranas biológicas, lo que podría aumentar la biodisponibilidad del fármaco. No obstante, una alta afinidad en estas interacciones puede llevar a una acumulación excesiva en tejidos específicos, lo que resultaría en toxicidad local o sistémica (220). Por otro lado, las interacciones Van der Waals, aunque más débiles, contribuyen a la estabilidad de las moléculas en la fase líquida, lo que influye en su solubilidad y, por lo tanto, en su absorción. Estas interacciones también pueden afectar la capacidad de un fármaco para atravesar barreras biológicas, influyendo en su distribución general (221). En el análisis de acoplamiento molecular, compuestos como

desoxipeganina y fitocromobilina exhiben una variedad de interacciones, incluidas pi-alquilo, Van der Waals y pi-pi apiladas. Esta capacidad para formar múltiples tipos de interacciones sugiere que estos compuestos podrían tener una mayor eficacia y estabilidad al unirse a la enzima convertidora de angiotensina (214). En contraste, salsolina y guvacolina presentan interacciones desfavorables, lo que indica que sus estructuras necesitan ajustes para mejorar su afinidad y eficacia. Las interacciones desfavorables pueden resultar en un metabolismo ineficiente, lo que provocaría la acumulación de metabolitos tóxicos. Identificar y corregir estas interacciones no favorables es crucial para optimizar el diseño de inhibidores (68).

Los compuestos febrifugina, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, talastina, cinconidinona, cecelina y 1-fenetil-4-piperidinona muestran interacciones extensivas y posiblemente significativas con los residuos críticos en los bolsillos S1, S'2 y HEXXH. Esto sugiere que estos compuestos podrían ser los inhibidores más efectivos contra la ECA. La similitud en los patrones de interacción con los residuos de HEXXH indica que estos compuestos podrían interferir con la actividad catalítica de la enzima, al igual que el lisinopril (222). Esta observación resalta el potencial de los productos naturales como reguladores de la presión arterial.

Los resultados obtenidos destacan la importancia de realizar estudios adicionales para validar las interacciones identificadas en el acoplamiento molecular. Se recomienda llevar a cabo ensayos de afinidad de unión y estudios en modelos celulares (in vitro o in vivo). Además, combinar inhibidores con diferentes interacciones con los residuos críticos de la ECA podría ofrecer un enfoque terapéutico sinérgico. Esta combinación de compuestos podría implicar mecanismos de acción diversos, resultando en una inhibición más efectiva y una mejor regulación de la presión arterial. No obstante, para asegurar la viabilidad terapéutica de estos

compuestos, es igualmente crucial evaluar su biodisponibilidad y toxicidad, aspectos que determinan su eficacia clínica y perfil de seguridad, y que se abordan en los siguientes apartados.

### **9.3 Análisis predictivos los compuestos derivados de *P. tricornutum***

#### **9.3.1 Biodisponibilidad**

La biodisponibilidad describe el grado y la velocidad con los cuales el principio activo de un medicamento es absorbido y alcanza el torrente sanguíneo tras su administración por vía oral, tópica, parenteral o rectal. Este parámetro refleja la fracción de la dosis administrada que llega al sistema circulatorio en forma activa y está disponible para ejercer su efecto terapéutico. La biodisponibilidad puede verse influenciada por diversos factores, incluyendo las propiedades fisicoquímicas del fármaco, la vía de administración, las interacciones con otras sustancias, así como los procesos de absorción, metabolismo hepático y excreción (223).

##### **9.3.1.1 Absorción gastrointestinal**

La forma más práctica de administración de fármacos es la vía oral. El perfil farmacocinético de los fármacos administrados por esta vía depende de la rapidez con la que se absorben a través de la pared intestinal antes de entrar en la circulación sistémica. La absorción, a su vez, se ve afectada por factores como la presencia de transportadores en la membrana intestinal, la degradación enzimática y la permeabilidad de la membrana. El tracto gastrointestinal es un sitio común donde la toxicidad puede manifestarse durante el desarrollo de fármacos y su uso clínico (172).

Es crucial que ciertas propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas no se transgredan, ya que el diseño y la toxicidad del fármaco dependen de ello. Las reglas de Lipinski, Egan, Veber y Ghose, utilizadas para evaluar compuestos, indican que no deben violarse más de dos

parámetros. Factores como el tamaño molecular y los enlaces de hidrógeno son clave para predecir la permeabilidad y absorción.

Estos descriptores son esenciales para la capacidad de un fármaco de atravesar barreras biológicas (224). En el análisis realizado, se observó que compuestos como fitocromobilina, fenicoxantina e isomitiloxantina exceden el número permitido de violaciones según las reglas de Lipinski. En particular, su peso molecular supera el límite de 500 Da, siendo significativamente mayor que el del lisinopril. Estas violaciones impactan negativamente en el puntaje de biodisponibilidad de los compuestos evaluados. En un estudio similar al presente, se realizó un análisis de predicción ADME y de toxicidad de 95 compuestos de microalgas como *Chlorella pyrenoidosa*, *Dunaliella primolecta*, *Haematococcus pluvialis*, *Arthrospira platensis* y *Dunaliella salina*. En este análisis, compuestos del tipo flavonoide, como camostat, calothrixina A, apigenina, catequina, epicatequina y quercetina, exhibieron una alta absorción gastrointestinal y no presentaron violaciones en las reglas de Lipinski. Esto sugiere un perfil favorable en términos de biodisponibilidad y permeabilidad, destacando su adecuada formulación para la administración oral y su potencial efectividad terapéutica (225).

En los análisis del presente estudio, la mayoría de los compuestos mostró una alta absorción gastrointestinal, sugiriendo un alto potencial de biodisponibilidad. Este perfil sugiere que, en futuras validaciones, los compuestos podrían alcanzar niveles terapéuticos efectivos con dosis reducidas, disminuyendo los costos asociados y los riesgos de toxicidad. Además, una absorción eficiente permitiría su formulación en diferentes presentaciones farmacéuticas sin necesidad de ajustes estructurales complejos. Por otro lado, esta rápida absorción sería beneficiosa en tratamientos que demandan una acción inmediata y podría contribuir a una

respuesta más homogénea entre los pacientes, limitando los efectos de variabilidad fisiológica como el pH gástrico o la motilidad intestinal (226).

De acuerdo con estudios previos, se ha demostrado que ciertos compuestos con alta absorción gastrointestinal presentan una mayor biodisponibilidad, lo cual coincide con los resultados observados en este trabajo. Un estudio evaluó el perfil de absorción mediante la plataforma SwissADME, en el estudio analizaron flavonoides y terpenoides en relación con su efecto sobre la ECA, encontrando que el flavonoide fisetina presentó una notable alta absorción gastrointestinal, lo que sugiere su potencial eficacia en aplicaciones terapéuticas (227). Además, otro estudio investigó la absorción de terpenoides, flavonoides y glucósidos utilizando la plataforma en línea ADMETLab. Los resultados revelaron que los compuestos  $\alpha$ -rhamnopyranosyl,  $\beta$ -sitosterol y sinalbin también exhibieron una alta capacidad de absorción (215). Estos resultados destacan la importancia de la absorción gastrointestinal en la eficacia de los compuestos bioactivos, ya que una alta absorción puede mejorar la disponibilidad y el efecto terapéutico de los mismos en el organismo.

Un aspecto fundamental para considerar en la absorción gastrointestinal de fármacos es que una mayor absorción puede llevar a concentraciones plasmáticas elevadas. Si estas concentraciones superan los umbrales terapéuticos, existe un riesgo incrementado de toxicidad. La absorción excesiva o rápida puede resultar en niveles tóxicos de un fármaco antes de que este sea metabolizado o excretado adecuadamente (228). Por ejemplo, los compuestos del presente análisis como cucurbitina, 5-aminopentanal y N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, que presentan tanto alta absorción gastrointestinal como alta solubilidad acuosa, lo cual es positivo para la eficacia terapéutica, pero también aumenta el riesgo de toxicidad, especialmente si el compuesto tiene efectos adversos a concentraciones elevadas. Por lo tanto,

es crucial que estos compuestos sean evaluados en estudios posteriores in vitro para comprender mejor su perfil de absorción.

En contraste, compuestos como isomitiloxantina, fenicoxantina y ceceline, con alta lipofilia y absorción gastrointestinal, también pueden acumularse en concentraciones elevadas, aumentando así el riesgo de efectos tóxicos (229).

### **9.3.1.2 Barrera hematoencefálica**

La barrera hematoencefálica es crucial para los medicamentos dirigidos al sistema nervioso central, ya que lo protege de sustancias potencialmente nocivas. Para que un fármaco sea efectivo en el SNC, debe atravesar esta barrera. Los parámetros ADME son esenciales para evaluar la capacidad de un fármaco para atravesar la BHE y su eficacia terapéutica (230). Los antihipertensivos, como IECA y ARA-II, generalmente no necesitan cruzar la BHE, ya que actúan en el sistema cardiovascular periférico, a diferencia de los alfa-adrenérgicos que sí requieren atravesarla para su acción en el SNC (59).

Como se mencionó anteriormente, los parámetros fisicoquímicos y farmacocinéticos influyen significativamente en la capacidad de los compuestos para atravesar barreras biológicas, como BHE. Los compuestos con bajo peso molecular tienen una mayor probabilidad de atravesar la BHE en comparación con aquellos de mayor tamaño. Asimismo, los compuestos lipofílicos atraviesan más fácilmente la BHE debido a su naturaleza lipídica (224). En el análisis realizado en el presente estudio, se determinó que los compuestos capaces de atravesar la BHE son 3-hidroxiquinina, desoxipeganina, alstonina, salsolina, tetrahydroharmol, 1-fenetil-4-piperidinona, talastina, lobelina, cinconidinona y cecelina. Entre estos, lobelina, alstonina y talastina presentan valores relativamente altos de lipofilia, lo que sugiere que podrían atravesar

las membranas celulares con mayor facilidad, favoreciendo su distribución en tejidos del sistema nervioso central.

De manera consistente con estos hallazgos, un estudio evaluó el perfil ADME de compuestos derivados de plantas y la microalga *Dunaliella salina*, identificando que ácidos fenólicos, flavonoles y terpenoides mostraron la capacidad de atravesar la BHE (231). Sin embargo, en contraste con estos resultados, el presente análisis encontró que los compuestos con mayor capacidad para cruzar la BHE fueron principalmente alcaloides, un benzenoide y una cetona. Esto subraya cómo diferentes estructuras químicas y grados de lipofilia pueden influir en la permeabilidad a través de la BHE, resaltando la importancia de considerar diversos parámetros fisicoquímicos en el diseño de fármacos.

Un aspecto clave a tener en cuenta cuando un fármaco atraviesa fácilmente la barrera hematoencefálica es el riesgo de que alcance concentraciones elevadas en el cerebro, lo que incrementa la probabilidad de efectos tóxicos (232). En el presente análisis, compuestos como isomitiloxantina y fenicoxantina, que se destacaron por su alta lipofilia, también presentaron pesos moleculares superiores a 500 Da. Esto sugiere que, aunque poseen la capacidad de atravesar con facilidad la membrana celular, existe un riesgo potencial de acumulación excesiva en el tejido cerebral, lo que podría derivar en efectos adversos, como neurotoxicidad.

### **9.3.1.3 Sustratos de la glicoproteína P (P-gp)**

La P-gp, conocida también como proteína de resistencia a múltiples fármacos, es una proteína glicosilada que expulsa activamente diversos sustratos fuera de las células, reduciendo la permeabilidad intestinal y la biodisponibilidad oral de muchos fármacos. La P-gp está presente en diversas partes del cuerpo, incluyendo el intestino, el hígado, los riñones, el

páncreas, el cerebro y la placenta. Las moléculas que son sustrato de P-gp suelen presentar baja biodisponibilidad debido a su expulsión antes de ser absorbidas adecuadamente.

La solubilidad del fármaco, su permeabilidad a través de la membrana apical intestinal y el eflujo mediado por P-gp determinan la cantidad de fármaco que ingresa a la circulación sistémica, lo cual es crucial para el diseño de medicamentos orales efectivos (233).

Los sustratos de P-gp suelen ser moléculas anfipáticas con pesos moleculares entre 200 y 1900 Da y frecuentemente contienen anillos aromáticos neutros o básicos. Entre estos sustratos se encuentran analgésicos, medicamentos contra el cáncer, inhibidores de la proteasa del VIH, antibióticos, agentes inmunosupresores y el bloqueador de los canales de calcio verapamilo. Ceceline (PM: 304.34 Da) dexniguldipine (PM: 609.71 Da), ambos con numerosos anillos aromáticos, son ejemplos que sugieren que estos compuestos, debido a su alta lipofilia y estructura compleja, probablemente son sustratos de P-gp. Esta interacción podría afectar la biodisponibilidad, lo que implicaría que una menor cantidad del compuesto llegue al torrente sanguíneo. Además, podría influir en la eficacia terapéutica, ya que no se alcanzaría la concentración necesaria en el sitio de acción debido al bombeo del compuesto fuera de la célula (233).

En un estudio se llevó a cabo una evaluación *in silico* de la similitud entre los antihipertensivos aliskiren® y captopril® con péptidos de *Linum usitatissimum*, utilizando la plataforma SwissADME (234). El análisis mostró que ambos fármacos inhiben la proteína P-gp, lo que sugiere un buen perfil de biodisponibilidad, confirmado por un puntaje de biodisponibilidad superior a 0.55. Los inhibidores de la ECA, como captopril® y lisinopril®, ejercen su acción principalmente en los riñones y los pulmones, donde bloquean la conversión



de angiotensina I a angiotensina II. Este proceso es crucial para disminuir la vasoconstricción y la liberación de aldosterona, reduciendo la presión arterial.

La inhibición de la P-gp permite que estas moléculas mantengan concentraciones adecuadas en sus sitios de acción, evitando su expulsión celular y facilitando así su eficacia terapéutica (55, 233).

En el análisis llevado a cabo, se identificaron compuestos que no son sustratos de P-gp. Debido a que no son expulsados por esta proteína, dichas moléculas probablemente presentan una mayor biodisponibilidad oral, lo que podría aumentar su eficacia en tratamientos que requieren administración oral. Esta característica resalta la importancia de la interacción con la P-gp en la optimización de la biodisponibilidad y eficacia de los fármacos. Adicionalmente, en un estudio *in silico* se evaluó el potencial de inhibir la ECA y el perfil ADME de los flavonoides fisetina y ácido ursólico, donde ambos compuestos naturales resultaron negativos para sustratos de esta glicoproteína (227). Esta característica es especialmente importante para el desarrollo de tratamientos basados en compuestos naturales, que podrían ofrecer alternativas efectivas y seguras a los medicamentos sintéticos tradicionales.

#### **9.3.1.4 Permeabilización de la piel (log Kp)**

La administración de medicamentos a través de la piel representa un desafío debido a la complejidad de las capas que conforman este órgano. Sin embargo, la entrega de fármacos a la circulación sistémica mediante esta ruta ofrece ventajas potenciales en comparación con la administración oral. Entre estas ventajas se incluyen la evitación del metabolismo de primer paso, la superación del entorno gástrico adverso y una mayor comodidad para el paciente. A pesar de estos beneficios, la administración transdérmica enfrenta desafíos significativos, como

la propia complejidad de la piel, que puede limitar la eficacia y la cantidad de fármaco que se puede absorber (235).

Un valor alto de  $\log K_p$  sugiere que el fármaco es más permeable a través de la piel, lo que puede aumentar la biodisponibilidad sistémica del medicamento. Factores como un peso molecular bajo y una alta lipofilia contribuyen a este parámetro. En esta evaluación, los compuestos destacados fueron el carotenoide fenicoxantina y el fotopigmento isomitiloxantina. Aunque ambos tienen un peso molecular superior a lo establecido por las reglas de los 5 de Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge, su alta lipofilia sugiere que podrían ser candidatos para administración dérmica. Por otro lado, a pesar de que el fármaco lisinopril® mostró un  $\log K_p$  bajo en los resultados de la evaluación, un estudio demostró que la administración transdérmica ionoforética *in vitro* de lisinopril® a través de la piel de cerdo puede optimizar considerablemente su tasa de permeación (236). Esto sugiere que, aunque el lisinopril® no cumpla inicialmente con las características ideales para la administración dérmica, la aplicación de técnicas innovadoras como la iontoforesis puede convertirlo en un candidato prometedor para este tipo de terapia.

### **9.3.2 Probabilidad de interacción de los compuestos derivados de *P. tricornutum* como inhibidores de subfamilias del CYP450**

Durante el metabolismo de los fármacos, sus moléculas se alteran químicamente después de ingresar al cuerpo. Este metabolismo se divide en reacciones de fase I y fase II, en las cuales participan enzimas especializadas, como las pertenecientes a la familia del citocromo P450 (CYP). Las enzimas CYP están involucradas en el metabolismo de aproximadamente el 80% de los fármacos, principalmente las subfamilias CYP1, CYP2 y CYP3 (isoformas CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 y CYP3A4), y se expresan mayormente en el hígado. Estas

enzimas participan en la conversión de productos lipofílicos en productos hidrofílicos, facilitando así su eliminación rápida. Además, influyen en la acción del fármaco, su seguridad, biodisponibilidad y resistencia (237).

### **9.3.2.1 Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP1A2**

La isoforma CYP1A2 es una enzima crucial del citocromo P450, responsable del metabolismo de diversos fármacos clínicos, incluidos analgésicos, antipsicóticos, antidepresivos, estimulantes del SNC, y anticancerígenos. Además, metaboliza compuestos endógenos como la bilirrubina, uroporfirinógeno y melatonina, y activa procarcinógenos. La inducción de CYP1A2 puede reducir la eficacia terapéutica de los fármacos y aumentar el riesgo de cáncer de pulmón. Evaluar la inhibición de CYP1A2 en compuestos candidatos es esencial para prevenir interacciones farmacocinéticas y minimizar la toxicidad mediada por el metabolismo de xenobióticos (238).

Los compuestos analizados en el estudio mediante la plataforma SwissADME que tienen probabilidad de inhibición con CYP1A2 son tetrahydroharmol, cinchonidinona, lobelina, talastina y cecelina. El uso de estos compuestos debe considerarse cuidadosamente debido al riesgo de acumulación de fármacos que son sustratos de la enzima CYP1A2 y a los posibles efectos secundarios que podrían complicar la terapia farmacológica. No obstante, estos compuestos pueden ser beneficiosos en situaciones donde la inhibición de CYP1A2 es deseable para disminuir la activación de procarcinógenos y reducir la toxicidad de ciertos xenobióticos. A pesar de los riesgos, los compuestos que inhiben CYP1A2 pueden ser valiosos en situaciones donde esta inhibición es necesaria. Por ejemplo, pueden reducir la activación de

procarcinógenos, lo que disminuye el riesgo de cáncer, y limitar la toxicidad de ciertos xenobióticos, mejorando así la seguridad del tratamiento (238).

En un estudio se evaluó el perfil farmacológico de compuestos derivados de *Amphora sp.*, donde los compuestos 6-dodecanona, (E)-octadec-11-enoato de metilo, 15-metilhexadecanoato de metilo y 2,3-dimetil-undec-1-en-3-ol demostraron inhibición significativa de la enzima CYP1A2.

Esta inhibición sugiere que estos compuestos podrían modular el metabolismo de fármacos, lo cual es relevante en terapias antivirales, antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, antineoplásicas y antioxidantes. La capacidad de inhibir CYP1A2 podría no solo potenciar la eficacia de otras moléculas terapéuticas al reducir su metabolismo, sino también contribuir directamente a sus propiedades farmacológicas, posicionando a los derivados de microalgas como prometedores candidatos en el desarrollo de nuevas terapias (239).

#### **9.3.2.2 Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP2C19**

CYP2C19 pertenece a la subfamilia CYP2C de citocromos y está involucrada en el metabolismo de diversos compuestos utilizados en el ámbito clínico, tales como anticonvulsivos, inhibidores de la bomba de protones, anticoagulantes y antidepresivos tricíclicos. Algunos de los medicamentos metabolizados por CYP2C19 incluyen clopidogrel®, diazepam®, citalopram®, voriconazol®, entre otros. El gen CYP2C19 es altamente polimórfico, lo que provoca variaciones en la actividad enzimática, la respuesta terapéutica y las reacciones adversas a los medicamentos. Considerar la actividad de esta enzima es crucial para optimizar el tratamiento farmacológico y mejorar la eficacia y seguridad de los medicamentos (240).

En un estudio se examinó el potencial de los compuestos activos de *Spirulina platina*, *Spirulina platensis* y *Spirulina sp.*. Dentro del análisis mediante PreADMET, ninguno de los compuestos mostró inhibición de la enzima CYP2C19, con la excepción de vemurafenib, que sí exhibió una inhibición significativa. Este hallazgo sugiere que, aunque los compuestos de *Spirulina* tienen un perfil de seguridad favorable en cuanto a la interacción con CYP2C19, el vemurafenib podría interferir con el metabolismo de fármacos que dependen de esta enzima.

Por lo tanto, su uso concomitante con otros medicamentos metabolizados por CYP2C19 podría requerir ajustes en las dosis para evitar interacciones farmacológicas adversas o alteraciones en la eficacia terapéutica (241).

En contraste, en el análisis de los compuestos de *P. tricornutum*, como alstonina, talastina y cecelina, realizado mediante SwissADME, reveló que estos exhiben inhibición en la subfamilia CYP2C19. Dada la importancia de CYP2C19 en el metabolismo de una amplia gama de fármacos, la inhibición de esta enzima podría alterar significativamente la eficacia terapéutica y aumentar el riesgo de efectos secundarios y toxicidad. Sin embargo, en ciertos contextos terapéuticos, tal inhibición puede ser ventajosa. En general, la relevancia de CYP2C19 en la farmacocinética de los medicamentos resalta la necesidad de una evaluación detallada de las posibles interacciones para optimizar la seguridad y eficacia de los tratamientos.

### **9.3.2.3 Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP2C9**

CYP2C9 es miembro de la subfamilia CYP2C, y su función es eliminar aproximadamente el 15% de los fármacos que experimentan una reacción metabólica de fase I. Esta enzima desempeña un papel crítico en la hidroxilación de fármacos ácidos o neutros, incluyendo principalmente anticonvulsivos como la fenitoína®, agentes hipoglucemiantes como la

tolbutamida<sup>®</sup>, antiinflamatorios como el diclofenaco<sup>®</sup>, anticoagulantes como la warfarina<sup>®</sup> y antihipertensivos como el losartán<sup>®</sup> (242). Al igual que otras enzimas de la subfamilia CYP2C, CYP2C9 presenta polimorfismos genéticos que resultan en amplias variaciones interindividuales en el metabolismo de fármacos. Considerar la actividad de esta enzima es crucial para evaluar los riesgos relacionados con la toxicidad, interacciones medicamentosas y la variabilidad en la respuesta terapéutica, así como para optimizar el control terapéutico y las dosis (243).

En los resultados obtenidos en el estudio, se identificó que los compuestos criptoforina y talastina presentan una probabilidad de interacción con la enzima CYP2C9. Esta interacción sugiere que dichos compuestos podrían modificar el metabolismo de fármacos que dependen de CYP2C9, lo que podría potencialmente aumentar el riesgo de toxicidad e interacciones medicamentosas adversas. En contraste, los compuestos restantes no muestran una inhibición significativa de CYP2C9, lo que sugiere que podrían ser utilizados de manera segura como tratamientos para regular la presión arterial sin inducir interacciones perjudiciales con esta enzima. No obstante, es esencial realizar validaciones *in vitro* para confirmar estas observaciones y garantizar la seguridad y eficacia de los tratamientos propuestos. Mientras tanto, los compuestos criptoforina y talastina podrían ser considerados en escenarios terapéuticos donde la inhibición de CYP2C9 sea deseada; sin embargo, también se necesita una validación adicional para confirmar la naturaleza y el impacto de su interacción con la enzima.

Adicionalmente, en el estudio que evaluó compuestos de *Chlorella pyrenoidosa*, *Dunaliella primolecta*, *Haematococcus pluvialis*, *Arthrospira platensis* y *Dunaliella salina*, se observó que la apigenina muestra una inhibición significativa de CYP2C9. Este hallazgo indica que la apigenina podría alterar el metabolismo de fármacos que dependen de CYP2C9, lo que podría aumentar el riesgo de toxicidad e interacciones medicamentosas. En contraste, los otros

compuestos evaluados en el estudio no presentaron inhibición significativa de CYP2C9, sugiriendo un menor riesgo de interferir con el metabolismo de medicamentos metabolizados por esta enzima. La relevancia de estos hallazgos se ve reforzada por el origen de los compuestos evaluados, provenientes de microalgas que ofrecen un potencial terapéutico significativo debido a sus propiedades bioactivas únicas (225).

#### **9.3.2.4 Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor del CYP2D6**

CYP2D6 está involucrada en aproximadamente el 20% del metabolismo de los fármacos utilizados actualmente. Esta enzima puede metabolizar una variedad de sustratos, incluyendo sustratos endógenos como la tiramina y el ácido 5-hidroxiindolacético, así como fármacos como la codeína<sup>®</sup>, tramadol<sup>®</sup>, paroxetina<sup>®</sup>, metoprolol<sup>®</sup>, bisoprolol<sup>®</sup> y tamoxifeno<sup>®</sup>. Al igual que otras enzimas de la subfamilia CYP, es crucial considerar su actividad y la decisión de inhibir esta enzima para evitar riesgos de toxicidad e interacciones medicamentosas (244).

El análisis de los compuestos mediante SwissADME revela que los compuestos 3-hidroxiquinina, cinconidinona, lobelina, alstonina, cecelina y talastina tienen una alta probabilidad de inhibir la enzima CYP2D6, lo que sugiere que podrían ser utilizados como inhibidores terapéuticos de esta enzima. La inhibición de CYP2D6 puede afectar la biodisponibilidad y la eficacia de otros fármacos metabolizados por esta enzima, alterando sus niveles plasmáticos y potencialmente incrementando el riesgo de efectos secundarios o toxicidad (244).

En contraste, un estudio adicional del perfil farmacocinético de compuestos de *Spirulina*, los compuestos vemurafenib, acetato, colest-5,7-dien-3 $\beta$ -ol, 24-oxocholesterol, latosterol, ficocianina y ficocianobilina mostró que ninguno de estos compuestos presentó inhibición de

CYP2D6 (241). Este hallazgo indica que estos últimos compuestos no alteran significativamente el metabolismo de fármacos dependientes de CYP2D6, sugiriendo un menor riesgo de interacciones medicamentosas adversas relacionadas con esta enzima. Este hallazgo indica que estos últimos compuestos no alteran significativamente el metabolismo de fármacos dependientes de CYP2D6, sugiriendo un menor riesgo de interacciones medicamentosas adversas relacionadas con esta enzima.

Además, estos resultados destacan el potencial de los compuestos derivados de microalgas, como los ácidos grasos presentes en *Spirulina platensis*, así como los compuestos evaluados en el presente estudio: 1-fenetil-4-piperidinona, febrifugina, salsolina, desoxipeganina, guvacolina, 5-aminopentanal y palustrina. Al no presentar inhibición en CYP2D6, estos compuestos parecen minimizar las interacciones con enzimas clave del metabolismo farmacológico. Esto refuerza el valor de los compuestos de microalgas como alternativas terapéuticas seguras, particularmente en regímenes donde las interacciones farmacológicas son un factor crítico. (241).

#### **9.3.2.5 Probabilidad de interacción de los compuestos como inhibidor de CYP3A4**

CYP3A4 se expresa predominantemente en el hígado e intestino y participa en reacciones metabólicas de fase I, como reducción, hidrólisis y oxidación. Esta subfamilia de enzimas está involucrada en más de la mitad del metabolismo de los fármacos. Entre los fármacos anticáncer metabolizados por CYP3A4 se encuentran el tamoxifeno<sup>®</sup> y el exemestano<sup>®</sup>, así como otros fármacos como la ciclofosfamida<sup>®</sup>, docetaxel<sup>®</sup>, irinotecán<sup>®</sup>, imatinib<sup>®</sup> y sorafenib<sup>®</sup>. La actividad farmacológica y la toxicidad de estos fármacos dependen en gran medida de la



actividad de CYP3A4, lo que hace esencial una evaluación cuidadosa y un manejo adecuado en la práctica clínica (245).

En el análisis realizado, se identificó que los compuestos (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, isomitiloxantina, alstonina y cecelina inhiben la enzima CYP3A4, lo que sugiere que podrían considerarse como opciones terapéuticas para la modulación de esta enzima. La inhibición de CYP3A4 puede influir en la biodisponibilidad y la eficacia de otros fármacos metabolizados por esta enzima, alterando sus niveles plasmáticos y potencialmente incrementando el riesgo de efectos secundarios o interacciones medicamentosas (245).

Por otro lado, los compuestos que no muestran interacción con CYP3A4 podrían ser utilizados como reguladores de la presión arterial, alineándose con el objetivo del estudio de identificar opciones terapéuticas con menor riesgo de interacciones farmacológicas. No obstante, para ambos grupos de compuestos, es fundamental realizar validaciones adicionales para confirmar su potencial uso futuro, asegurando así tanto la eficacia terapéutica como la seguridad en aplicaciones clínicas específicas.

### **9.3.3 Similitud a otros fármacos de los compuestos derivados de *P. tricornutum***

El término "similar a un fármaco" se refiere a compuestos que presentan propiedades deseadas, como biodisponibilidad oral, baja toxicidad y permeabilidad de la membrana. Estas propiedades son comunes en los fármacos aprobados. En este contexto, los parámetros evaluados por SwissADME incluyen las reglas de Lipinski, Ghose, Veber, Egan, Muegge y los criterios de biodisponibilidad (189).

### **9.3.4 Criterios de Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge**

Estas reglas son herramientas clave para predecir si una molécula tendrá buena biodisponibilidad y absorción cuando se administra por vía oral. En el análisis realizado a través

de SwissADME, los compuestos fitocromobilina, fenicoxantina, isomitiloxantina, 5-aminopentanal y curcubitina presentaron dos o más violaciones a estos criterios, lo que sugiere que probablemente tendrán una biodisponibilidad oral deficiente. Estas violaciones podrían limitar su capacidad para atravesar membranas celulares de manera eficiente, comprometiendo tanto su biodisponibilidad como su efectividad terapéutica. Además, la presencia de múltiples violaciones sugiere un potencial riesgo de toxicidad, ya que compuestos con baja biodisponibilidad suelen acumularse o generar efectos adversos no deseados (246).

En contraste, el fármaco lisinopril no mostró incumplimientos de las reglas, lo que apoya su buena biodisponibilidad oral y reafirma su seguridad y eficacia como tratamiento confiable para la hipertensión arterial. Estos hallazgos resaltan la importancia de cumplir con los criterios fisicoquímicos para optimizar tanto la seguridad como la eficacia de los compuestos terapéuticos (247).

Por otro lado, un estudio semejante evaluó la eficiencia terapéutica de metabolitos de microalgas como *Arthrospira*, *Porphyridium*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*, *Chlorella protothecoides*, *Prorocentrum minimum*, *Lyngbya majuscula* y *Synechococcus* en proteínas diana antidiabéticas (248). De los compuestos analizados, la luteína, fucoxantina y zeaxantina no presentaron violaciones a las reglas de Lipinski, Ghose, Veber, lo que sugiere un perfil favorable tanto en términos de absorción como de toxicidad reducida. En conjunto, estos resultados sugieren que los compuestos derivados de microalgas representan una fuente prometedora para el desarrollo de nuevos fármacos.

### **9.3.5 Puntuación de biodisponibilidad de Abbott**

La puntuación de biodisponibilidad de Abbott es un parámetro que, similar a las reglas mencionadas previamente, busca predecir la probabilidad de que un compuesto tenga al menos

un 10% de biodisponibilidad oral en ratas o una permeabilidad Caco-2. La permeabilidad Caco-2 es un parámetro utilizado para predecir la absorción gastrointestinal de compuestos y se obtiene mediante ensayos con células Caco-2, una línea celular derivada de adenocarcinoma de colon humano. La puntuación de biodisponibilidad se basa en reglas que consideran el TPSA y las infracciones de la regla de Lipinski, definiendo cuatro clases de compuestos con probabilidades de 1%, 17%, 56% u 85% (189).

Los compuestos fitocromobilina, fenicoxantina e isomitiloxantina presentaron los puntajes más bajos de biodisponibilidad, según los análisis realizados mediante la plataforma SwissADME. Estas observaciones coinciden con las infracciones en las reglas de Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge, lo que sugiere que el uso de estos compuestos debe ser evaluado con cautela, dado su alto riesgo de baja biodisponibilidad y, en consecuencia, de deficiente absorción gastrointestinal. Esta situación podría comprometer su eficacia terapéutica y aumentar la probabilidad de efectos tóxicos debido a la posible acumulación en el organismo. Por otro lado, los demás compuestos analizados, incluido el lisinopril<sup>®</sup>, mostraron puntajes de biodisponibilidad aceptables, siendo la alstonina el que destacó con el mejor desempeño en este parámetro.

En un estudio comparable se evaluó el potencial de compuestos naturales para inhibir la enzima convertidora de angiotensina, utilizando como punto de comparación el fármaco lisinopril. En la evaluación *in silico* realizada mediante SwissADME, los compuestos 1,4-antracenediona, 6-nitro-, 3,5-dipiperonilideno-1-propil-4-piperidona, ciclopentadecanona y heptadecanolida, así como el lisinopril<sup>®</sup>, no presentaron violaciones en las reglas de Lipinski, lo que sugiere un puntaje de biodisponibilidad aceptable. Estos resultados son consistentes con la ausencia de violaciones observada en el lisinopril<sup>®</sup>, y subrayan la importancia de considerar no solo la biodisponibilidad, sino también la relación entre esta, la toxicidad y la eficacia

terapéutica al evaluar la viabilidad de estos compuestos como potenciales candidatos para el desarrollo de nuevas terapias clínicas (249).

#### **9.4 Química medicinal de compuestos derivados de *P. tricornutum***

En la sección de química medicinal, SwissADME evalúa los descriptores de alerta PAINS, alerta Brenk, la semejanza a fármacos líderes y el puntaje de accesibilidad sintética. Esta evaluación es fundamental en el proceso de descubrimiento de fármacos. La química medicinal desempeña un papel crucial en el diseño de compuestos al optimizar la biodisponibilidad y minimizar la toxicidad. A través de modificaciones estructurales, se busca mejorar la absorción, permeabilidad y estabilidad metabólica de los compuestos, garantizando que alcancen su diana terapéutica de manera eficaz (189).

##### **9.4.2 Compuestos de interferencia de ensayos pan**

Los PAINS son moléculas que contienen subestructuras que pueden generar respuestas inespecíficas en ensayos biológicos, lo que conduce a resultados falsos positivos (250). Las señales de falsos positivos pueden generarse a partir de distintos mecanismos, como la fluorescencia de pequeñas moléculas, la actividad redox o las modificaciones covalentes de las proteínas diana. Los PAINS pueden provenir tanto de compuestos sintéticos como naturales, y abarcan moléculas que, aunque son objeto de una investigación exhaustiva en el ámbito farmacéutico, presentan estas características (251). SwissADME genera alertas cuando identifica subestructuras problemáticas en los compuestos evaluados.

En el análisis realizado, en el compuesto tetrahydroarmol se identificó una alerta debido a la subestructura indol-3-il-alquilo. Este tipo de subestructura no solo puede interferir en la actividad biológica del compuesto, sino también afectar su biodisponibilidad al comprometer su

absorción o permeabilidad celular, y aumentar el riesgo de toxicidad debido a posibles interacciones no deseadas con otras biomoléculas.

Por tanto, el desarrollo de tetrahidroarmol como tratamiento potencial debe abordarse con precaución, evaluando su seguridad y eficacia a largo plazo, así como su perfil de biodisponibilidad y toxicidad (250). De manera similar, en un estudio *in silico* se investigó el potencial de *Spirulina platensis* como diurético de asa y agente antiinflamatorio, analizando compuestos como el ácido pentadecanoico, ácido octadecanoico, ácido 9-octadecenoico, ácido hexadecanoico, entre otros. Estos compuestos fueron analizados tanto por su capacidad para cumplir con los criterios de biodisponibilidad como por su perfil toxicológico. Los resultados indicaron que ninguno de los compuestos presentó alertas PAINS, además de obtener un puntaje de biodisponibilidad igual o superior a 0.55. Este estudio subraya la importancia de equilibrar la eficacia farmacológica con la seguridad y biodisponibilidad en el diseño de nuevos medicamentos (252).

#### **9.4.3 Alertas estructurales Brenk**

En la sección de alertas estructurales Brenk, se analizan 105 fragmentos que presentan riesgo potencial de toxicidad, reactividad química o inestabilidad metabólica. Estos fragmentos pueden impactar negativamente la biodisponibilidad, ya que suelen interferir con la absorción del compuesto y acelerar su metabolismo, reduciendo su eficacia antes de alcanzar su diana terapéutica. Además, la presencia de estos fragmentos incrementa el riesgo de toxicidad, ya que pueden generar productos de degradación nocivos o reacciones adversas en el organismo. Identificar y eliminar estas subestructuras es esencial para optimizar tanto la seguridad como la eficacia de un compuesto en el proceso de desarrollo de fármacos (253).

En el estudio se identificaron varias alertas estructurales en algunos compuestos, lo que subraya el riesgo potencial de toxicidad.

El 5-aminopentanal presentó una alerta debido a la presencia de un grupo aldehído, conocido por su alta reactividad y potencial tóxico (254). La criptoforina mostró una alerta asociada a un fragmento polieno, lo que podría comprometer su estabilidad metabólica y, por lo tanto, afectar su biodisponibilidad. Por otro lado, los compuestos palustrina, 3-hidroxiquinina y cinconidinona contenían un alqueno aislado, lo que puede generar inestabilidad química, aumentando el riesgo de toxicidad durante su metabolización (255). Finalmente, la isomitiloxantina presentó múltiples alertas debido a la presencia de fragmentos aceptores de Michael, polienos y triples enlaces, todos asociados con una alta reactividad química y posibles efectos tóxicos (256). Estos hallazgos resaltan la importancia de una evaluación exhaustiva de la viabilidad de estos compuestos como fármacos, considerando tanto su biodisponibilidad como sus riesgos de toxicidad (253).

#### **9.4.4 Accesibilidad sintética**

La accesibilidad sintética es un criterio clave en la selección de moléculas para el desarrollo de fármacos, ya que evalúa la facilidad de síntesis con una puntuación de 1 (muy fácil) a 10 (muy difícil). Este aspecto no solo se relaciona con la complejidad y tamaño de la estructura, sino que también influye en la biodisponibilidad y toxicidad del compuesto. Las moléculas con puntuaciones altas suelen presentar estructuras complejas que dificultan su absorción, limitando así su biodisponibilidad. Además, una síntesis complicada puede generar metabolitos indeseados, aumentando el riesgo de toxicidad. Por lo tanto, es fundamental buscar compuestos que sean accesibles sintéticamente y que, al mismo tiempo, mantengan una buena biodisponibilidad y un perfil de seguridad adecuado (257).

En el estudio, los compuestos con los valores más bajos de accesibilidad sintética, que indican una mayor facilidad de síntesis, fueron: 5-aminopentanal, 1-fenetil-4-piperidinona, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, cucurbitina y salsolina. Estos compuestos son candidatos atractivos para estudios posteriores, ya que su menor dificultad de síntesis puede facilitar su desarrollo como opciones terapéuticas. Por otro lado, los compuestos con altos valores de accesibilidad sintética, como 3-hidroxiquinina, palustrina, fitocromobilina, fenicoxantina e isomitiloxantina, presentan complicaciones adicionales. Estos compuestos no solo tienen dificultades en su síntesis, sino que también mostraron alertas estructurales según el análisis de BRENK (3-hidroxiquinina, palustrina e isomitiloxantina) y bajos puntajes de biodisponibilidad (fitocromobilina, fenicoxantina e isomitiloxantina). La baja biodisponibilidad puede ser atribuida a parámetros fisicoquímicos desfavorables, que podrían comprometer su absorción y eficacia terapéutica, además de incrementar el riesgo de toxicidad. Por lo tanto, se recomienda llevar a cabo una evaluación rigurosa y cuidadosa de estos compuestos en estudios futuros para garantizar su seguridad y viabilidad clínica.

En el análisis realizado por Mohammed I. (225) sobre microalgas como *Chlorella pyrenoidosa*, *Dunaliella primolecta*, *A. platensis*, *D. salina* y *H. pluvialis*, se encontraron compuestos como calotrizina A, apigeneína, catequina y epicatequina, los cuales presentaron un puntaje de accesibilidad sintética favorable, indicando que no presentan dificultad de síntesis. En comparación con el presente análisis, los compuestos en los primeros lugares de accesibilidad sintética (con puntuaciones menores a 2.41) evidencian una mejor viabilidad para su producción. Por lo tanto, se recomienda considerar estos compuestos en estudios posteriores, dado su potencial para ser desarrollados como opciones terapéuticas accesibles.

## **9.5 Perfil de toxicidad de los compuestos derivados de *P. tricornutum***

La evaluación de la toxicidad de los compuestos es un paso crucial en el desarrollo de fármacos, ya que perfiles de toxicidad insuficientes pueden comprometer su éxito. Aproximadamente el 40% de los nuevos fármacos en desarrollo se detienen en los ensayos clínicos debido a toxicidad humana imprevista. Esta alta tasa de fracasos resalta la necesidad de realizar evaluaciones exhaustivas de toxicidad desde las etapas iniciales. Además, la biodisponibilidad y los parámetros fisicoquímicos y farmacocinéticos son factores interrelacionados que influyen en la toxicidad (258). Compuestos con propiedades fisicoquímicas desfavorables pueden tener una biodisponibilidad limitada, lo que a su vez puede generar acumulación y toxicidad en el organismo. Por lo tanto, un análisis integral que contemple la toxicidad, la biodisponibilidad y los parámetros relevantes es fundamental para asegurar la viabilidad clínica de los fármacos en desarrollo (223). ADMETlab incluye parámetros de toxicidad que abarcan la evaluación de genotoxicidad, toxicidad reproductiva, mutagenicidad, carcinogenicidad, toxicidad aguda oral, toxicidad aguda dérmica, toxicidad subcrónica, toxicidad crónica, sensibilización cutánea, irritación ocular e irritación cutánea (179).

### **9.5.2 Bloqueadores hERG**

El gen hERG codifica un canal de potasio esencial para la repolarización del potencial de acción en las células cardíacas, lo que resulta crucial para mantener un ritmo cardíaco normal. Sin embargo, algunos fármacos pueden inhibir este canal, lo que puede dar lugar a arritmias peligrosas, como la prolongación del intervalo QT y Torsades de Pointes. La biodisponibilidad de estos fármacos juega un papel fundamental, ya que compuestos con una absorción deficiente pueden acumularse en el organismo y aumentar el riesgo de toxicidad cardiovascular.



Por lo tanto, es esencial realizar evaluaciones rigurosas de la seguridad cardiaca y la biodisponibilidad durante el proceso de descubrimiento de fármacos, asegurando que los tratamientos propuestos no comprometan la salud del paciente (259).

En el presente análisis realizado por ADMETlab, los compuestos que presentaron valores altos en el parámetro de interacción con hERG son alstonina, isomitiloxantina, cinchonidina, talastina y lobelina. Esto indica que estos compuestos podrían interactuar con el canal hERG, lo que conlleva un riesgo de prolongación del intervalo QT y la posibilidad de desarrollar Torsades de Pointes, exponiendo a los individuos a palpitaciones, desmayos o incluso muerte súbita. Además, la biodisponibilidad de estos compuestos puede influir en su toxicidad; una absorción deficiente podría llevar a acumulaciones peligrosas en el organismo, aumentando el riesgo de efectos adversos (260). Por otro lado, los compuestos guvacolina, palustrina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida y lisinopril® presentan valores bajos en este parámetro, sugiriendo un riesgo reducido de inhibición de hERG y, por lo tanto, un alto potencial para ser utilizados como tratamientos terapéuticos. La adecuada biodisponibilidad y el bajo riesgo de toxicidad hacen de estos compuestos candidatos atractivos para estudios futuros, donde se deberán confirmar su seguridad y eficacia.

De manera similar, en un estudio *in silico* enfocado en compuestos derivados de microalgas, también se evaluaron las interacciones con los canales hERG y el perfil toxicológico (249). En este análisis, compuestos como colest-3,5-dieno, 3,5-dipiperonilideno-1-propil-4-piperidona, acetato de deshidroabietinol, 1,2-dietoxicarbonil-dedimetilcolchicina, 1,3,5-triazina y 2-(4-clorofenilamino) mostraron un riesgo potencial de cardiotoxicidad debido a su interacción con hERG. Sin embargo, otros compuestos, como 1,4-antracenediona, fenol y el fármaco lisinopril, no presentaron dicha interacción, lo que sugiere que tienen un menor riesgo de cardiotoxicidad.

Estos resultados subrayan la importancia de no solo evaluar la toxicidad, sino también los parámetros de biodisponibilidad y farmacocinética de cada compuesto para determinar su viabilidad clínica

### **9.5.3 Hepatotoxicidad humana**

El hígado juega un papel esencial en la detección y procesamiento de señales moleculares provenientes del intestino y de xenobióticos. Los productos químicos y patógenos pueden llegar al hígado a través de la circulación sanguínea o acumularse durante la circulación enterohepática. Este órgano es, por lo tanto, un punto crítico para la formación y acción de metabolitos tóxicos, lo que puede resultar en efectos adversos tanto agudos como crónicos. En particular, los efectos agudos suelen estar asociados con la lesión hepática inducida por fármacos (261). El daño del hígado asociado a fármacos se ve aumentado por enzimas como alanina aminotransferasa, bilirrubina, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina y gamma-Glutamil transpeptidasa (262). Una mayor biodisponibilidad de un fármaco implica que una cantidad significativa del fármaco activo llega al torrente sanguíneo, lo que puede incrementar el riesgo de daño hepático. Los compuestos altamente lipofílicos tienen la capacidad de atravesar fácilmente la membrana lipídica de los hepatocitos, lo que puede provocar una acumulación excesiva en el hígado. Esta acumulación, a su vez, puede inducir estrés oxidativo y daño celular, contribuyendo a la hepatotoxicidad (263).

En la evaluación realizada de la hepatotoxicidad humana de los compuestos, aquellos que presentan una alta probabilidad de riesgo incluyen desoxipeganina, alstonina, fitocromobilina, cinconidinona y lisinopril. De estos, la alstonina mostró el mejor puntaje de biodisponibilidad, lo que sugiere que una mayor proporción de este fármaco activo alcanza la circulación sistémica, potencialmente aumentando su eficacia, pero también su riesgo de hepatotoxicidad.

En contraste, la fitocromobilina no logró alcanzar el puntaje de biodisponibilidad aceptado, lo que puede limitar su absorción y, por ende, su impacto en la hepatotoxicidad. Aunque el lisinopril® es ampliamente utilizado en el tratamiento de la hipertensión, existen informes de casos de lesión hepática inducida por este fármaco, así como por otros inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina como enalapril®, ramipril® y fosinopril®. La relación entre la biodisponibilidad de estos fármacos y su potencial hepatotóxico subraya la importancia de una evaluación exhaustiva para garantizar su seguridad en el uso clínico (264). Los compuestos más prometedores en cuanto a seguridad hepatocelular incluyen N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, cucurbitina, palustrina, 5-aminopentanal y guvacolina. Todos estos compuestos presentaron un puntaje de biodisponibilidad aceptable y se caracterizan por no ser altamente lipofílicos. Esta combinación de propiedades sugiere que tienen el potencial de ser utilizados terapéuticamente con un menor riesgo de hepatotoxicidad, ya que su menor lipofilia podría limitar la acumulación en el hígado y la posibilidad de daño celular.

En una investigación comparable, se evaluó el perfil toxicológico de compuestos derivados de la microalga *Amphora sp.*, donde se determinó que compuestos como 6-Dodecanone, methyl (E)-octadec-11-enoate y Methyl 15-methylhexadecanoate presentan una alta probabilidad de inducir daño hepático (239). Estos compuestos exhibieron una notable absorción gastrointestinal y poseen características lipofílicas, lo que sugiere que estos parámetros están interrelacionados con el riesgo de hepatotoxicidad. En contraste, 2,5-Dimethylcyclohexanol, 2,3-Dimethyl-undec-1-en-3-ol y 3,6,6-Trimethyl-2-norpinanol presentan una menor probabilidad de hepatotoxicidad. Aunque su absorción gastrointestinal también fue elevada, estos compuestos resultaron ser menos lipofílicos que aquellos asociados con un mayor riesgo de daño hepático.

En resumen, la evaluación de la hepatotoxicidad de compuestos farmacológicos y de fuentes naturales, como la microalga *Amphora sp.*, revela que tanto la biodisponibilidad como la lipofilia son factores críticos que influyen en el riesgo de daño hepático. Los compuestos con alta biodisponibilidad y características lipofílicas, como la alstonina y ciertos ésteres, presentan un mayor potencial hepatotóxico. En contraste, compuestos que combinan una biodisponibilidad aceptable con menor lipofilia, como N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, pueden ofrecer alternativas terapéuticas más seguras. Estos hallazgos subrayan la necesidad de un análisis exhaustivo de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos en desarrollo, para garantizar su seguridad en el uso clínico.

#### **9.5.4 Toxicidad AMES**

En las fases de desarrollo de los fármacos, es fundamental conocer la mutagenicidad de los compuestos, ya que está estrechamente relacionada con la carcinogenicidad, lo que puede llevar al fracaso en el desarrollo del fármaco. La prueba de Ames se utiliza en las predicciones *in silico* para evaluar la mutagenicidad de los compuestos de interés. Este ensayo se basa en la reversión de mutaciones en bacterias y simula el metabolismo de los mamíferos, mostrando una alta sensibilidad a las sustancias químicas que podrían causar daño en el material genético (265). Las propiedades ADME juegan un papel crucial en la mutagenicidad, a su vez parámetros fisicoquímicos incluyen, como la solubilidad de los compuestos al determinar si puede ser absorbido por el tracto gastrointestinal, compuestos lipofílicos tienden a acumularse en los tejidos y a su vez interactuar con facilidad con el ADN, la presencia de grupos funcionales puede conducir a la reactividad del compuesto y causar mutaciones, y compuestos con bajo peso molecular pueden penetrar más fácilmente las células debido a que son absorbidos con más facilidad.

Las propiedades y otros parámetros fisicoquímicos, como la solubilidad, juegan un papel crucial en la mutagenicidad, ya que determinan si los compuestos pueden ser absorbidos por el tracto gastrointestinal. Los compuestos lipofílicos tienden a acumularse en los tejidos y a interactuar más fácilmente con el ADN, aumentando así el riesgo de mutaciones. Además, la presencia de grupos funcionales puede incrementar la reactividad del compuesto, lo que también contribuye a su potencial mutagénico. Finalmente, los compuestos de bajo peso molecular pueden penetrar más fácilmente en las células, facilitando su absorción y potencialmente amplificando su efecto mutagénico (266).

En la evaluación de los compuestos, los resultados más altos corresponden a criptoforina, 1-fenetil-4-piperidinona, ceceline, 5-aminopentanal y alstonina. De estos, 5-aminopentanal presenta el menor tamaño molecular, mientras que los demás tienen un tamaño inferior a 350 Da. En términos de solubilidad, 5-aminopentanal muestra la mayor solubilidad en el análisis, mientras que ceceline se clasifica entre los compuestos más lipofílicos. Estas características fisicoquímicas sugieren que el uso de estos compuestos podría estar asociado con un mayor riesgo de carcinogénesis, dado que los compuestos lipofílicos tienden a acumularse en los tejidos y a interactuar más fácilmente con el ADN, aumentando así su potencial mutagénico. Por otro lado, los resultados más favorables se observan con los compuestos lisinopril®, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, 3-hidroxiquinina, palustrina y fitocromobilina, que presentan un perfil más equilibrado en términos de solubilidad y lipofilia. Estos compuestos podrían ser considerados para futuras evaluaciones debido a su menor riesgo de mutagenicidad. En un estudio reciente, se evaluó la mutagenicidad de varios IECA, entre ellos lisinopril, y los resultados indicaron que ninguno de los fármacos evaluados presentó actividad mutagénica, reforzando su perfil de seguridad en este aspecto (267).

Por otra parte, en un estudio similar al presente, se exploraron compuestos bioactivos derivados de microalgas, evaluando su perfil toxicológico. Los hallazgos indicaron que los compuestos vemurafenib, colestá-5,7-dien-3 $\beta$ -ol, acetato de 24-oxocolesterol, latosterol, ficocianina y ficocianobilina no presentan riesgos de mutagenicidad (241). Esta ausencia de mutagenicidad es relevante, ya que sugiere que estos compuestos podrían tener un menor potencial carcinogénico. Además, todos ellos compartieron una buena probabilidad de absorción gastrointestinal y un peso molecular inferior a 500 Da, características que favorecen su biodisponibilidad y reducen el riesgo de interacciones dañinas con el ADN. Estos resultados sugieren que estos compuestos podrían tener un perfil de seguridad favorable para su uso en aplicaciones terapéuticas, destacando el potencial de los compuestos derivados de microalgas en el desarrollo de fármacos.

#### **9.5.5 Toxicidad oral aguda en ratas**

La toxicidad aguda se refiere a los efectos nocivos que una sustancia química puede provocar a partir de exposiciones únicas o repetidas en un breve período de tiempo, usualmente menos de 24 horas. Para evaluar la toxicidad aguda, se realizan estudios que consideran diversas vías de exposición, como la oral, dérmica e inhalatoria. Las pruebas de toxicidad oral aguda implican la evaluación de las reacciones tóxicas inmediatas y la determinación de la dosis letal 50 (LD50) tras una sola administración oral en roedores (268). La biodisponibilidad de un fármaco está directamente relacionada con la toxicidad oral aguda, ya que determina que cantidad del fármaco llega a la circulación sistémica. Esto, a su vez, influye en la concentración que puede acumularse en los tejidos, donde tiene el potencial de generar efectos tóxicos (223).

En la evaluación realizada, los compuestos desoxipeganina, 3-hidroxiquinina, 5-aminopentanal, tetrahydroarmol y fitocromobilina presentaron los valores más altos de toxicidad oral aguda. La fitocromobilina mostró el puntaje más bajo en biodisponibilidad, lo que sugiere que su toxicidad podría estar relacionada con una acumulación del compuesto debido a su deficiente absorción gastrointestinal. Por otro lado, los otros compuestos se caracterizan por una alta solubilidad, lo que facilita su acumulación en los tejidos. Además, tanto 5-aminopentanal como tetrahydroarmol poseen un peso molecular muy bajo, lo que les permite atravesar más fácilmente las membranas celulares, incrementando así el riesgo de acumulación intracelular y, por ende, su toxicidad. Estos resultados indican que estos compuestos presentan una alta probabilidad de ser tóxicos, por lo que se recomienda precaución en su uso en futuros estudios. Es posible que estos compuestos necesiten ajustes en su formulación para cumplir con los requisitos de TOA y ser considerados como alternativas terapéuticas seguras. Los compuestos lisinopril®, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, cucurbitina, guvacolina y palustrina obtuvieron los valores más favorables en cuanto a TOA, destacando el lisinopril con el valor más bajo y reafirmando su uso seguro como tratamiento de la hipertensión arterial (269). Además, estos compuestos presentan puntajes aceptables de biodisponibilidad y cumplen con los parámetros de solubilidad, lo que sugiere una buena absorción y distribución en el organismo. Dado su bajo riesgo de TOA, el uso de estos compuestos podría ser prometedor en estudios futuros, especialmente en el desarrollo de alternativas terapéuticas seguras.

### **9.5.6 Carcinogenicidad**

Existen compuestos químicos que pueden interactuar directamente con el ADN y alterar procesos metabólicos celulares, lo que puede llevar al desarrollo de tumores.

En el proceso de desarrollo de fármacos, es crucial considerar las propiedades químicas de los compuestos y los posibles cambios que puedan provocar. Predecir la carcinogenicidad y evaluar el riesgo de cáncer son aspectos fundamentales para el éxito del fármaco (270). La carcinogénesis incluye la mutagénesis, pero también implica otros procesos celulares, como la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores, que contribuyen a la transformación de una célula mutada en cancerosa. Este proceso, al igual que la mutagénesis, está influido por las propiedades ADME ya que determinan la biodisponibilidad de compuestos potencialmente carcinógenos. Además, parámetros fisicoquímicos como la solubilidad, lipofilicidad, peso molecular, área de superficie polar y la presencia de grupos funcionales desempeñan un papel crucial en la absorción, distribución y metabolización de estos compuestos, afectando su capacidad para inducir mutaciones y promover la carcinogénesis (271)

En los resultados de la presente evaluación, los compuestos con mayor riesgo de inducir carcinogénesis en el organismo son criptoforina, ceceline, fitocromobilina, desoxipeganina y alstonina. En particular, ceceline y alstonina presentan un alto riesgo de mutagénesis, por lo que requieren un manejo especial debido a su elevado potencial de inducir tumores. Por otro lado, fitocromobilina, a pesar de presentar un bajo puntaje en biodisponibilidad, lo que indica mala absorción y potencial riesgo de acumulación a nivel del estómago e intestino delgado, no debe descartarse como tóxico, ya que otros factores como la acumulación en tejidos o el metabolismo podrían incrementar su potencial carcinogénico (271). En contraste, desoxipeganina, con una alta solubilidad, puede tener mayor biodisponibilidad, lo que podría aumentar su riesgo de toxicidad si se distribuye ampliamente en el organismo.



Los compuestos con menor probabilidad de desarrollar carcinogénesis incluyen palustrina, fenicoxantina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, sasolina y lisinopril®. Es importante mencionar que la fenicoxantina presenta los valores más altos en lipofilicidad, lo que, junto con su baja solubilidad, puede limitar su absorción y potencialmente aumentar el riesgo de acumulación en tejidos, aunque su bajo riesgo de carcinogénesis sugiere que no es tan perjudicial. En contraste, el lisinopril® cumple adecuadamente con los parámetros de solubilidad, absorción gastrointestinal y puntaje de biodisponibilidad, lo que indica una buena disponibilidad sistémica, y su menor lipofilicidad sugiere un menor riesgo de acumulación y toxicidad en comparación con otros compuestos. En un estudio realizado *in silico*, se evaluó el potencial carcinogénico de IECA, entre ellos delapril®, enalapril®, imidapril®, lisinopril®, moexipril®, perindopril®, ramipril®, trandolapril® y espirapril® (267). Los resultados indicaron que ninguno de estos compuestos mostró evidencia de actividad carcinogénica, lo que refuerza el perfil de seguridad, en particular el de lisinopril, dadas sus propiedades previamente descritas,

Por otra parte un estudio evaluó el perfil toxicológico de las microalgas *G. corticata* y *H. dialata* (272). En dicho estudio, los compuestos ácido eicosanoide, ácido oleico, hexadecanal, colesterol, heptadecano, neofitadieno y 2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil-[R-[R,R-(E)]] no presentaron riesgo de carcinogénesis. Estos compuestos presentan similitudes estructurales con palustrina, fenicoxantina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida y sasolina; sin embargo, las mayores similitudes se encuentran en sus propiedades lipofílicas. En este estudio, únicamente el trifluoroacetato de dodecilo presenta un riesgo de carcinogénesis. Este compuesto comparte con la criptoforina, ceceline, fitocromobilina, desoxipeganina y alstonina un alto perfil de lipofilia, lo que sugiere que puede interactuar fácilmente con membranas biológicas.

Esta lipofilia también puede influir en la biodisponibilidad de estos compuestos, dado que una mayor lipofilia puede facilitar la absorción y distribución en tejidos, lo que a su vez podría estar relacionado con sus perfiles de toxicidad (273).

### **9.5.7 Irritación y corrosión ocular**

La evaluación de la irritación y corrosión ocular es fundamental cuando se desarrollan productos químicos destinados a ser utilizados cerca o directamente en el ojo. Aunque la mayoría de los tratamientos se administran por vía oral, esta evaluación es importante para garantizar la seguridad del individuo, entender cómo el compuesto interactúa con diversos tejidos, no solo con el sistema digestivo, e identificar y minimizar posibles efectos negativos en los pacientes (274).

En el presente estudio, se analizaron diversos compuestos para determinar su potencial de irritación y corrosión ocular. Los resultados mostraron que la 1-fenetil-4-piperidinona, guvacolina, 5-aminopentanal, desoxipeganina y ceceline presentaron un alto riesgo de irritación ocular. Aunque todos estos compuestos exhiben buena absorción gastrointestinal y solubilidad, la alta lipofilia de ceceline puede aumentar su riesgo de toxicidad ocular al facilitar su interacción con las membranas celulares. Esto sugiere la necesidad de realizar estudios adicionales para confirmar el riesgo y garantizar una mayor seguridad en su uso.

En contraste, se identificaron compuestos como N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, palustrina, febrifugina, (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, lisinopril®, fitocromobilina, isomitiloxantina y 3-hidroxiquinina, que presentan una baja o nula probabilidad de causar daño ocular.

A pesar de que todos estos compuestos son altamente solubles, fitocromobilina, al ser lipofílica y tener un bajo puntaje de biodisponibilidad, sugiere un menor riesgo de irritación

ocular. Estos hallazgos indican que, en términos de seguridad ocular, los compuestos mencionados son más confiables. No obstante, es imperativo llevar a cabo estudios adicionales para corroborar su perfil de seguridad.

### **9.5.8 Toxicidad respiratoria**

Dentro de la evaluación de la toxicidad y seguridad de los fármacos, la toxicidad respiratoria inducida por sustancias químicas es el mayor contribuyente al fracaso de un nuevo medicamento, debido a las reacciones secundarias causadas por estos medicamentos. Los signos clínicos que pueden ocasionar incluyen asma, bronquitis, neumonía, rinitis, sibilancias e incluso la muerte. Medicamentos como antibióticos, inmunosupresores, anticancerígenos y medicamentos cardíacos son los que con mayor frecuencia suelen ocasionar toxicidad respiratoria (275).

En la evaluación llevada a cabo en el estudio, se analizaron diversos compuestos, entre los cuales tetrahydroarmol, 3-hidroxiquinina, isomitiloxantina, ceceline y fitocromobilina mostraron los valores más elevados, lo que sugiere un mayor riesgo de toxicidad respiratoria. Estos compuestos también se encontraban entre los de mayor lipofilia en el análisis. La lipofilia de estos compuestos es un factor crítico, ya que les permite atravesar fácilmente las membranas biológicas, incluida la barrera alveolar del sistema respiratorio, lo que aumenta su acumulación en los tejidos pulmonares. Esta acumulación puede provocar efectos adversos, como reacciones inflamatorias y daño a las células epiteliales, incrementando el riesgo de toxicidad respiratoria (276).

A la luz de estos resultados, se aconseja ejercer precaución al considerar el uso de estos compuestos en aplicaciones clínicas futuras, así como la realización de estudios adicionales para validar este riesgo

### 9.5.9 Factor de bioconcentración

El factor de bioconcentración (BCF) es la relación que existe entre la concentración de sustancias químicas en la biota, resultado de la absorción a través de la superficie respiratoria, y la concentración en el agua en estado estacionario. En el área clínica, es importante considerarlo para evaluar el potencial de toxicidad ambiental así como los posibles riesgos para la salud humana (191).

En este estudio, se analizaron varios compuestos para determinar su BCF y el potencial de toxicidad ambiental. Los compuestos criptoforina, isomitiloxantina, fenicoxantina, ceceline y alstonina presentan valores altos en este parámetro, lo cual sugiere que tienen un alto riesgo de toxicidad en el ambiente. Este alto BCF puede estar relacionado con varios factores fisicoquímicos: la criptoforina, por ejemplo, tiene un coeficiente de distribución negativo de -3.55, indicando que es relativamente más hidrofílica, lo que podría reducir su acumulación en organismos acuáticos. En contraste, la isomitiloxantina y la fenicoxantina presentan LogP de 7.93 y 8.95, respectivamente, lo que indica una alta lipofilidad y sugiere una mayor propensión a bioconcentrarse. Sin embargo, ambos compuestos también presentan baja solubilidad acuosa lo que podría influir en su disponibilidad en el medio acuático. Por otro lado, el TPSA elevado de la isomitiloxantina ( $74.6 \text{ \AA}^2$ ) podría limitar su bioconcentración al aumentar su interactividad con el agua. Adicionalmente, la criptoforina tiene un TPSA de  $23.47 \text{ \AA}^2$ , lo que sugiere que su naturaleza menos polar podría facilitar su acumulación.

Por lo tanto, se recomienda realizar estudios complementarios para evaluar los riesgos en la salud humana asociados a estos compuestos.

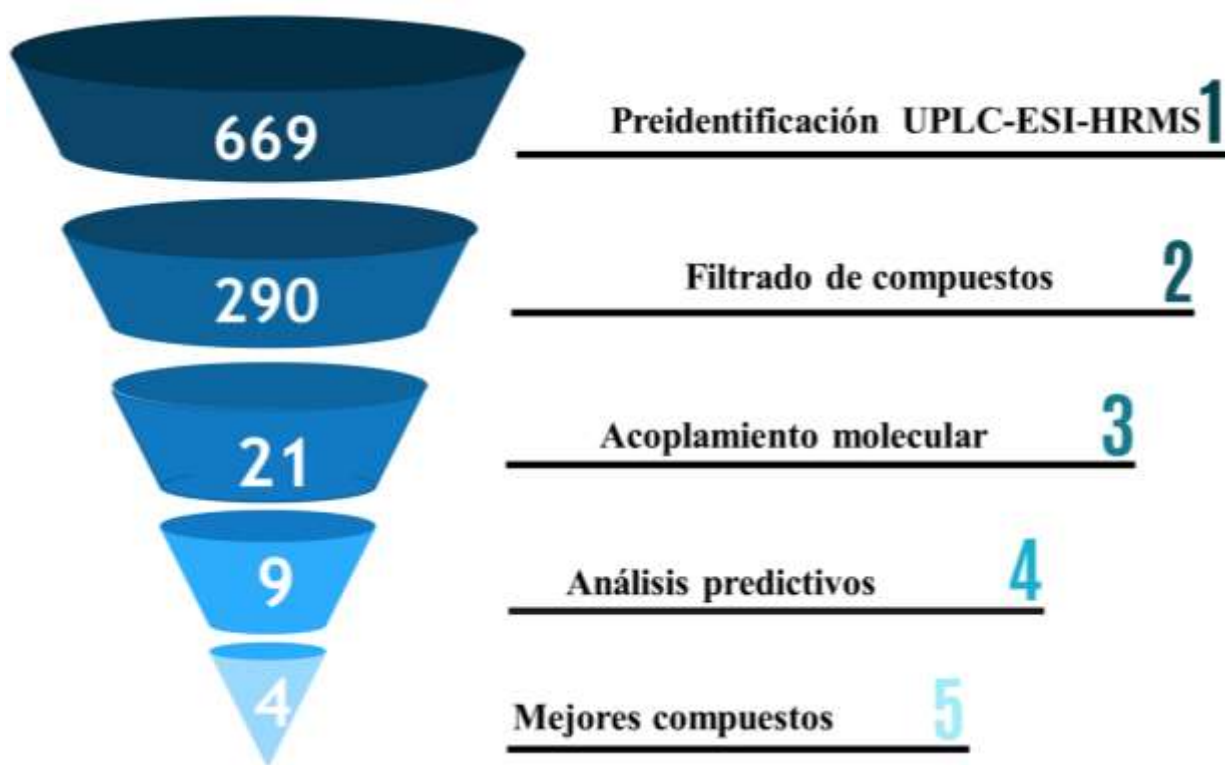
Por otro lado, los compuestos cucurbitina, fitocromobilina, N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, lisinopril® y (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina pueden ser considerados

para posteriores estudios como posibles opciones de tratamientos debido a que obtuvieron valores favorables en el factor de bioconcentración. En particular, el N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida presenta un LogP de -0.99 y una superficie polar topológica de 87.46 Å<sup>2</sup>, indicando una alta polaridad que sugiere un bajo potencial de bioacumulación. El lisinopril<sup>®</sup>, con un LogP de 0.15 y un TPSA de 132.96 Å<sup>2</sup>, también sugiere un equilibrio entre lipofilia e hidrofília, lo que puede limitar su acumulación en organismos (277). Por su parte, el (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina tiene un LogP de 1.24 y un TPSA de 129.46 Å<sup>2</sup>, lo que indica una mayor lipofilicidad que puede favorecer su bioconcentración, pero aún se considera una opción viable debido a sus características fisicoquímicas. Esta información es crucial para tomar decisiones informadas en el desarrollo de nuevos medicamentos, asegurando tanto la seguridad ambiental como la salud humana.

Además, se han analizado otros fármacos como antidepresivos, difenhidramina, diclofenaco y carbamazepina, que han sido ampliamente evaluados en relación con la bioacumulación. En un estudio reciente, se analizó la bioconcentración de carbamazepina<sup>®</sup>, sildenafil<sup>®</sup> y enalapril<sup>®</sup>, compuestos que se han detectado en aguas residuales y en diversas especies de peces (278). Los hallazgos sugieren que el riesgo de bioacumulación de carbamazepina<sup>®</sup> y sildenafil<sup>®</sup> es superior al de enalapril<sup>®</sup>; sin embargo, el riesgo ambiental asociado no es considerado elevado.

Esta información es crucial para tomar decisiones informadas en el desarrollo de nuevos medicamentos, asegurando tanto la seguridad ambiental como la salud humana, y subraya la necesidad de evaluar cuidadosamente los compuestos seleccionados en función de su perfil de bioconcentración y toxicidad.

En resumen, el presente estudio proporciona una base sólida para la preidentificación de compuestos con potencial farmacológico, particularmente aquellos derivados de fuentes naturales como *P. tricornutum*. La combinación de preselección de moléculas, acoplamiento molecular y análisis predictivos no solo permitió identificar compuestos prometedores, sino también realizar una evaluación integral de su biodisponibilidad y toxicidad (Figura 17). Estos resultados resaltan la relevancia de las herramientas *in silico* para optimizar el descubrimiento de nuevos fármacos, aprovechando el potencial de las microalgas para el desarrollo de terapias más sostenibles y eficaces, orientando de manera eficiente el diseño de estudios experimentales futuros.



**Figura 19. Proceso de filtrado y análisis *in silico* de compuestos derivados de *Phaeodactylum tricornutum*.** El embudo ilustra el filtrado progresivo, comenzando con 669 compuestos preidentificados mediante UPLC-ESI-HRMS (cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución con ionización por electrospray) (1), seguido por la selección de 290 compuestos tras un filtrado preliminar (2). Luego, 21 compuestos fueron evaluados mediante acoplamiento molecular (3) y posteriormente sometidos a análisis predictivos, resultando en 9 compuestos prometedores (4), de los cuales se identificaron los 4 mejores compuestos (5).

## X CONCLUSIONES

- En el presente estudio se realizó una preidentificación de compuestos en *Phaeodactylum tricornutum*, donde se encontró una mayor proporción de terpenoides, seguidos de carotenoides, ácidos carboxílicos y ácidos grasos. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos donde se han identificado este tipo de compuestos en diferentes especies de microalgas, incluyendo *P. tricornutum*. La concordancia con investigaciones anteriores aporta validez a los resultados obtenidos en este estudio. No obstante, se recomienda la realización de estudios adicionales para confirmar de manera definitiva los compuestos identificados en esta preidentificación.
- De acuerdo con los análisis *in silico*, se logró elucidar que los compuestos con mejor interacción con la ECA y que potencialmente formarían un complejo estable ejerciendo un efecto beneficioso en la regulación de la presión arterial, fueron: Febrifugina, (2S,2R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina, lobelina, talastina, cinconidinona, palustrina, cecelina, 3-hidroxiquinina y 1-fenetil-4-piperidinona. Aunque los compuestos restantes presentaron un valor de energía de enlace menos negativos que el fármaco de referencia (lisinopril®), dichos valores siguen siendo aceptables para la formación de una unión eficaz con la ECA. Por lo que podrían tener potencial como tratamientos terapéuticos. A pesar de los resultados prometedores, es necesaria la realización de estudios adicionales para confirmar la actividad antihipertensiva.
- Los residuos clave en el sitio activo de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), como Tyr523 y Glu384, junto con las interacciones pi-pi, pi-alquilo y Van der Waals, juegan un papel importante en las interacciones de los compuestos con la ECA. Estas interacciones son cruciales para la optimización de inhibidores, aunque se necesita más investigación para entender su contribución exacta en la inhibición de la enzima.



- Los compuestos que sugieren una alta afinidad y potencial eficacia como inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina incluyen febrifugina, la cual muestra interacciones extensivas y significativas, similares a las de lisinopril®. (2S,5R)-4-dodecil-2,5-dimetilmorfolina presenta interacciones en múltiples sitios clave de la ECA. Desoxipeganina exhibe múltiples tipos de interacciones que sugieren una mayor eficacia y estabilidad. Fitocromobilina posee diversas interacciones que podrían aumentar su estabilidad y eficacia. Cecelina puede establecer interacciones con residuos críticos en múltiples sitios de la enzima. La combinación de diferentes inhibidores también podría proporcionar enfoques terapéuticos sinérgicos.

- La alstonina se destaca como uno de los compuestos más prometedores debido a su favorable perfil farmacocinético, que incluye alta biodisponibilidad y capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica. Asimismo, cucurbitina también presentan un buen perfil farmacocinético, lo que sugiere que deberían ser consideradas para estudios adicionales. En contraste, compuestos como la fitocromobilina, la fenicoxantina y la isomitiloxantina enfrentan desafíos significativos y requieren una evaluación más rigurosa para determinar su viabilidad como agentes terapéuticos.

- El lisinopril®, reconocido como fármaco de referencia, se mantiene como una opción sólida en el tratamiento de la hipertensión. Sin embargo, compuestos como la N-carbamoil-3-piperazin-1-ilpropanamida, la cucurbitina y el palustrina emergen como alternativas prometedoras, gracias a sus perfiles de baja toxicidad y buena biodisponibilidad. Estas características los convierten en candidatos potenciales para el desarrollo de nuevos fármacos antihipertensivos.

## XI BIBLIOGRAFÍA

1. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS. Acc/aha/aapa/abc/acpm/ags/APhA/ASH/ASPC/nma/pcna guideline for the prevention, Detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a Report of the American College of Cardiology/American heart Association. Task force on clinical practice guidelines//J. Am. Coll. Cardiol.-2017.-Nov 13. Почки. 2018;7(1):68-74.
2. de la Fuente GdA, del Valle KP, Tocora DG, Puyol DR. Hipertensión arterial y riñón. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2019;12(81):4759-64.
3. Oparil S, Acelajado MC, Bakris GL, Berlowitz DR, Cífková R, Dominiczak AF, et al. HHS public access. Hypertension. *Nat Rev Dis Prim [Internet]*. 2019;22(4):1-48.
4. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European heart journal*. 2018;39(33):3021-104.
5. Ramos MV. Hipertensión arterial: novedades de las guías 2018. *Revista uruguaya de cardiología*. 2019;34(1):131-52.
6. Beetul K, Gopeechund A, Kaullysing D, Mattan-Moorgawa S, Puchooa D, Bhagooli R. Challenges and opportunities in the present era of marine algal applications. *Algae-Organisms for imminent biotechnology*. 2016;40.
7. Leu S, Boussiba S. Advances in the production of high-value products by microalgae. *Industrial Biotechnology*. 2014;10(3):169-83.
8. Barkia I, Saari N, Manning SR. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine drugs*. 2019;17(5):304.
9. Barranco A. Biorrefinería de microalgas: Estudio de procesos a partir de *Phaeodactylum tricornutum*. 2015.
10. Reports BT. *Phaeodactylum tricornutum* as a source of value-added products: a review of recent developments in cultivation and extraction technologies. Elsevier. 2022;19.
11. OMS. Hypertension 2023 [Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension#>].
12. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo Jr JL, et al. The seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 7 report. *Jama*. 2003;289(19):2560-71.
13. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Collins KJ, Dennison Himmelfarb C, et al. 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;71(19):e127-e248.
14. Méndez AM. Criterios diagnósticos del American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension 2017 en México. *Atención Familiar*. 2020;27(3):155-8.
15. Boron WF, Boulpaep EL. Boron y Boulpaep. *Manual de fisiología médica: Elsevier Health Sciences; 2022*.
16. Manuel Gorostidia RSO, Anna Oliverasc, Julian Segurad. Hipertensión Arterial Esencia. *Nefrología al día*. 2021.

17. Aguilera-Méndez A, Nieto-Aguilar R, Serrato-Ochoa D, Manuel-Jacobo GC. La hipertensión arterial y el riñón: El dúo fatídico de las enfermedades crónicas no transmisibles. *Investigación y Ciencia*. 2020;28(79):84-92.
18. Singh M, Singh A, Pandey P, Chandra S, Singh K, Gambhir I. Molecular genetics of essential hypertension. *Clinical and experimental hypertension*. 2016;38(3):268-77.
19. Rossier BC, Bochud M, Devuyst O. The hypertension pandemic: an evolutionary perspective. *Physiology*. 2017;32(2):112-25.
20. Santamaría R, Gorostidi M. Hipertensión arterial secundaria: cuándo y cómo debe investigarse. *NefroPlus*. 2015;7(1):11-21.
21. Whelton W. 2017 Guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults. *J Am Coll Cardiol*. 2017.
22. Unger T, Borghi C, Charchar F, Khan NA, Poulter NR, Prabhakaran D, et al. 2020 International Society of Hypertension global hypertension practice guidelines. *Hypertension*. 2020;75(6):1334-57.
23. Gorostidi M, Santamaría Olomo R, Oliveras A. Hipertensión arterial Hipertensión Arterial Esencial.
24. Rimoldi SF, Scherrer U, Messerli FH. Secondary arterial hypertension: when, who, and how to screen? *European heart journal*. 2014;35(19):1245-54.
25. Campos-Nonato I, Oviedo-Solís C, Vargas-Meza J, Ramírez-Villalobos D, Medina-García C, Gómez-Álvarez E, et al. Prevalencia, tratamiento y control de la hipertensión arterial en adultos mexicanos: resultados de la Ensanut 2022. *Salud Pública de México*. 2023;65:1-12.
26. SINALOA SDS. BOLETIN

EPIDEMIOLOGICO. Subdirección Estatal de Vigilancia Epidemiológica; 2024.

27. Pirahanchi Y, Jessu R, Aeddula NR. Physiology, sodium potassium pump. *StatPearls* [Internet]: StatPearls Publicación; 2023.
28. Nguyen PT, Deisl C, Fine M, Tippetts TS, Uchikawa E, Bai X-c, et al. Structural basis for gating mechanism of the human sodium-potassium pump. *Nature communications*. 2022;13(1):5293.
29. Carolina A, Francisco SC. Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease 3rd Edition, 2018. Elsevier Inc. George L. Bakris and Matthew Sorrentino. *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción)*. 2018;51(2):87-8.
30. Feng W, Dell'Italia LJ, Sanders PW. Novel paradigms of salt and hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. 2017;28(5):1362.
31. Chan RJ, Parikh N, Ahmed S, Ruzicka M, Hiremath S. Blood pressure control should focus on more potassium: controversies in hypertension. *Hypertension*. 2024;81(3):501-9.
32. Gallo G, Rubattu S, Autore C, Volpe M. Natriuretic peptides: it is time for guided therapeutic strategies based on their molecular mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(6):5131.
33. Woodard GE, Rosado JA. Natriuretic peptides in vascular physiology and pathology. *International review of cell and molecular biology*. 2008;268:59-93.
34. Kohan DE, Barton M. Endothelin and endothelin antagonists in chronic kidney disease. *Kidney international*. 2014;86(5):896-904.
35. Pijacka W, McBryde FD, Marvar PJ, Lincevicius GS, Abdala AP, Woodward L, et al. Carotid sinus denervation ameliorates renovascular hypertension in adult Wistar rats. *The Journal of Physiology*. 2016;594(21):6255-66.

36. Mancia G, Grassi G. The autonomic nervous system and hypertension. *Circulation research*. 2014;114(11):1804-14.
37. Mu S, Shimosawa T, Ogura S, Wang H, Uetake Y, Kawakami-Mori F, et al. Epigenetic modulation of the renal  $\beta$ -adrenergic–WNK4 pathway in salt-sensitive hypertension. *Nature medicine*. 2011;17(5):573-80.
38. Bakris GL, Sorrentino MJ. *A companion to Braunwald's Heart Disease*. Philadelphia; 2018.
39. Wagner Grau P. *Pathophysiology of hypertension: New concepts*. 2018.
40. Barcia Andrade A. *Sistema renina angiotensina, riesgo cardiovascular y de infecciones, actualización: Jijipajapa*. UNESUM; 2022.
41. Colafella KMM, Bovée DM, Danser AJ. The renin-angiotensin-aldosterone system and its therapeutic targets. *Experimental eye research*. 2019;186:107680.
42. Ciau-Solís N, Betancur-Ancona D. Sistema renina-angiotensina (SRA) en las patologías cardiovasculares: papel sobre la hipertensión arterial. *J negat no posit results*. 2021:163-76.
43. Olivas FM, Yago LE. Conceptos nuevos sobre el sistema renina angiotensina. *Hipertensión y riesgo vascular*. 2010;27(5):211-7.
44. Re RN. Mechanisms of disease: local renin–angiotensin–aldosterone systems and the pathogenesis and treatment of cardiovascular disease. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*. 2004;1(1):42-7.
45. Basso N. El sistema renina-angiotensina-aldosterona en la hipertensión arterial. *Capítulos cardiología*. 2000:144-65.
46. Gutiérrez BD. *Curso básico sobre hipertensión. Tema 1. Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA)*. *Farmacia profesional*. 2017;31(1):21-7.
47. García Cabrera L, Rodríguez Reyes O, Gala Vidal H. Aldosterona: nuevos conocimientos sobre sus aspectos morfofuncionales. *Medisan*. 2011;15(6):828-34.
48. Fountain JH, Kaur J, Lappin SL. *Physiology, renin angiotensin system*. StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing; 2023.
49. Carracedo J, Ramírez R. *Fisiología Renal*. *Soc Española Nefrol*. 2020:1-20.
50. Sayed-Tabatabaei F, Oostra B, Isaacs A, Van Duijn C, Wittteman J. ACE polymorphisms. *Circulation research*. 2006;98(9):1123-33.
51. Vatsala Khurana BG. *Angiotensin converting enzyme (ACE)*. *Acta CC, editor*2022.
52. Spence JD. Controlling resistant hypertension. *Stroke and Vascular Neurology*. 2018;3(2).
53. Aydin F, Turkoglu V, Bas Z. Purification and characterization of angiotensin-converting enzyme (ACE) from sheep lung. *Molecular Biology Reports*. 2021;48(5):4191-9.
54. Natesh R, Schwager SL, Sturrock ED, Acharya KR. Crystal structure of the human angiotensin-converting enzyme–lisinopril complex. *Nature*. 2003;421(6922):551-4.
55. Zisaki A, Miskovic L, Hatzimanikatis V. Antihypertensive drugs metabolism: an update to pharmacokinetic profiles and computational approaches. *Current pharmaceutical design*. 2015;21(6):806-22.
56. Israili Z. Clinical pharmacokinetics of angiotensin II (AT1) receptor blockers in hypertension. *Journal of human hypertension*. 2000;14(1):S73-S86.
57. Tamargo J, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Vaquero M, Delpón E. Características farmacológicas de los ARA-II. ¿Son todos iguales? *Revista Española de Cardiología Suplementos*. 2006;6(3):10C-24C.
58. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophysical reviews*. 2017;9:91-102.

59. Gopar-Nieto R, Ezquerra-Osorio A, Chávez-Gómez NL, Manzur-Sandoval D, Raymundo-Martínez GI. How to treat hypertension? Current management strategies. *Archivos de cardiología de México*. 2021;91(4):493-9.
60. Surma S, Więcek A, Adamczak M, editors. Diuretics—a review of the current knowledge. *Renal Disease and Transplantation Forum*; 2023.
61. Wright JT, Dunn JK, Cutler JA, Davis BR, Cushman WC, Ford CE, et al. Outcomes in hypertensive black and nonblack patients treated with chlorthalidone, amlodipine, and lisinopril. *Jama*. 2005;293(13):1595-608.
62. Fonseca-Correa JI, Correa-Rotter R. Sodium-glucose cotransporter 2 inhibitors mechanisms of action: a review. *Frontiers in Medicine*. 2021;8:777861.
63. Oh SW, Han SY. Loop diuretics in clinical practice. *Electrolytes & Blood Pressure: E & BP*. 2015;13(1):17.
64. do Vale GT, Ceron CS, Gonzaga NA, Simplicio JA, Padovan JC. Three generations of  $\beta$ -blockers: history, class differences and clinical applicability. *Current hypertension reviews*. 2019;15(1):22-31.
65. Patel. DNJB. Alpha-Blockers. In: *Clinics MSUCoOMUoIHa*, editor. StatPearls2023.
66. Ramya K, Suresh R, Kumar HY, Kumar BP, Murthy NS. Decades-old renin inhibitors are still struggling to find a niche in antihypertensive therapy. A fleeting look at the old and the promising new molecules. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2020;28(10):115466.
67. Usuda D, Higashikawa T, Hotchi Y, Usami K, Shimosawa S, Tokunaga S, et al. Angiotensin receptor blocker neprilysin inhibitors. *World Journal of Cardiology*. 2021;13(8):325.
68. Acharya KR, Sturrock ED, Riordan JF, Ehlers MR. Ace revisited: a new target for structure-based drug design. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2003;2(11):891-902.
69. Online D. Enalapril: Uses, Interactions, Mechanism of Action [
70. Xie F, Van Bocxlaer J, Vermeulen A. Physiologically based pharmacokinetic modelling of lisinopril in children: A case story of angiotensin converting enzyme inhibitors. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2021;87(3):1203-14.
71. Ahmad MCJBPF. ramipril. Isla del Tesoro (FL): StatPearls Publishing17 de agosto de 2023.
72. Syed YY. Perindopril/indapamide/amlodipine in hypertension: a profile of its use. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2022;22(2):219-30.
73. Ghazi L, Cohen LP, Muntner P, Shimbo D, Drawz PE. Effects of intensive versus standard office-based hypertension treatment strategy on white-coat effect and masked uncontrolled hypertension: from the SPRINT ABPM ancillary study. *Hypertension*. 2020;76(4):1090-6.
74. Segura J, Gorostidi M. Hipertensión arterial resistente. Estrategias de tratamiento y papel de la terapia de denervación simpática renal *Hospital Universitario*.12:2-5.
75. Gupta P, Patel P, Štrauch B, Lai FY, Akbarov A, Marešová V, et al. Risk factors for nonadherence to antihypertensive treatment. *Hypertension*. 2017;69(6):1113-20.
76. Acelajado MC, Hughes ZH, Oparil S, Calhoun DA. Treatment of resistant and refractory hypertension. *Circulation research*. 2019;124(7):1061-70.
77. Champaneria MK, Patel RS, Oroszi TL. When blood pressure refuses to budge: exploring the complexity of resistant hypertension. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2023;10:1211199.

78. Mimouni V, Ulmann L, Pasquet V, Mathieu M, Picot L, Bougaran G, et al. The potential of microalgae for the production of bioactive molecules of pharmaceutical interest. *Current pharmaceutical biotechnology*. 2012;13(15):2733-50.
79. Guiry MD. How many species of algae are there? *Journal of phycology*. 2012;48(5):1057-63.
80. Barsanti L, Coltelli P, Evangelista V, Frassanito AM, Passarelli V, Vesentini N, et al., editors. *Oddities and curiosities in the algal world. Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection*; 2008: Springer.
81. Khan MI, Shin JH, Kim JD. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*. 2018;17(1):36.
82. Galarza VO. Carbohydrates and proteins in microalgae: potential functional foods. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2019;22.
83. Spain O, Plöhn M, Funk C. The cell wall of green microalgae and its role in heavy metal removal. *Physiologia Plantarum*. 2021;173(2):526-35.
84. Gomez-Casati DF, Barchiesi J, Busi MV. Mitochondria and chloroplasts function in microalgae energy production. *PeerJ*. 2022;10:e14576.
85. Gonçalves CdA, Figueredo CC. What we really know about the composition and function of microalgae cell coverings?-an overview. *Acta Botanica Brasilica*. 2020;34(4):599-614.
86. Pignolet O, Jubeau S, Vaca-Garcia C, Michaud P. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 2013;40(8):781-96.
87. Lopez-Padron I, Martinez-Gonzalez L, Perez-Dominguez G, Reyes-Guerrero Y, Nunez-Vazquez M, Cabrera-Rodriguez JA. *Algae and their uses in agriculture. An update*. 2020.
88. Baudalet P-H, Ricochon G, Linder M, Muniglia L. A new insight into cell walls of Chlorophyta. *Algal Research*. 2017;25:333-71.
89. Kasanah N, Ulfah M, Imania O, Hanifah AN, Marjan MID. Rhodophyta as Potential Sources of Photoprotectants, Antiphotoaging Compounds, and Hydrogels for Cosmeceutical Application. *Molecules*. 2022;27(22):7788.
90. Cotas J, Leandro A, Pacheco D, Gonçalves AM, Pereira L. A comprehensive review of the nutraceutical and therapeutic applications of red seaweeds (Rhodophyta). *Life*. 2020;10(3):19.
91. Khanaychenko AN, Rylkova O, Aganesova L, Popova O, Aleoshin V, Saburova M. *Rhodomonas storeatuloformis* sp. nov.(Cryptophyceae, Pyrenomonadaceae), a new cryptomonad from the Black Sea: morphology versus molecular phylogeny. *Fottea*. 2022;22(1):122-36.
92. Serrano JY, Nuñez DW, Mondragon APNJM, Pereira DT. *Microalgas: Indicadores Ambientales de Calidad de Agua del Humedal Torca Microalgae: Environmental Indicators of Water Quality at Torca Wetland*.
93. Fransisco V. *TAXONOMÍA Y ECOLOGÍA DE ALGAS DULCEACUÍCOLAS. DÍVÍSION EUGLENOPHYTA. III - TAXONOMÍA*. In: México UNAd, editor. VII Congreso Nacional de Ficología; Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Los Reyes, Iztacala. Estado de México. MÉXICO.: 13 de Octubre del 2013; 2013.
94. Lora M, López F, Pérez C. *Algas de Cristal; diatomeas. Recursos Naturales y Sociedad*. 2020;6(1):25-42.

95. Silar P. Protistes Eucaryotes: origine, evolution et biologie des microbes eucaryotes: Creative Commons; 2016.
96. Haimeur A, Mimouni V, Ulmann L, Martineau A-S, Messaouri H, Pineau-Vincent F, et al. Fish oil and microalga omega-3 as dietary supplements: a comparative study on cardiovascular risk factors in high-fat fed rats. *Lipids*. 2016;51:1037-49.
97. Judge A, Dodd Michael S. *Metabolism. Essays in Biochemistry*. 2020;64(4):607-47.
98. Ramírez Rojano M. Extracción y caracterización de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus thuringiensis*: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; 2016.
99. LibreTexts. *Metabolitos Primarios y Secundarios*. Microbiology 2023.
100. Ampofo J, Abbey L. Microalgae: Bioactive composition, health benefits, safety and prospects as potential high-value ingredients for the functional food industry. *Foods*. 2022;11(12):1744.
101. Yanuhar U, Khumaidi A. The application of pigment-protein fraction from *Nannochloropsis oculata* on  $\beta$ -actin response of *Cromileptes altivelis* infected with viral nervous necrosis. *Jurnal Akuakultur Indonesia*. 2017;16(1):22-32.
102. Del Mondo A, Smerilli A, Ambrosino L, Albin A, Noonan DM, Sansone C, et al. Insights into phenolic compounds from microalgae: Structural variety and complex beneficial activities from health to nutraceuticals. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2021;41(2):155-71.
103. Kaurinovic B, Vastag D. *Flavonoids and phenolic acids as potential natural antioxidants*: IntechOpen London, UK; 2019.
104. Martínez-Ruiz M, Martínez-González CA, Kim D-H, Santiesteban-Romero B, Reyes-Pardo H, Villaseñor-Zepeda KR, et al. Microalgae bioactive compounds to topical applications products—a review. *Molecules*. 2022;27(11):3512.
105. Priyadarshani I, Rath B. Commercial and industrial applications of micro algae-a review. *J Algal Biomass Utln* 3 (4): 89–100. 2012.
106. Rivera-Serrano BV, Cabanillas-Salcido SL, Cordero-Rivera CD, Jiménez-Camacho R, Norzagaray-Valenzuela CD, Calderón-Zamora L, et al. Antiviral Effect of Microalgae *Phaeodactylum tricornutum* Protein Hydrolysates against Dengue Virus Serotype 2. *Marine Drugs*. 2024;22(8):369.
107. Ramanan R, Kim B-H, Cho D-H, Oh H-M, Kim H-S. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. *Biotechnology advances*. 2016;34(1):14-29.
108. Amaro HM, Guedes AC, Malcata FX. Antimicrobial activities of microalgae: an invited review. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. 2011;2:1272-84.
109. García T, Castillo T, Martínez A, Galindo E. *Phaeodactylum tricornutum*, una fuente potencial de ácido eicosapentaenoico. *BioTecnología*. 2021;5.
110. Reboloso-Fuentes M, Navarro-Pérez A, Ramos-Miras J, Guil-Guerrero J. Biomass nutrient profiles of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of Food Biochemistry*. 2001;25(1):57-76.
111. Falaise C, François C, Travers M-A, Morga B, Haure J, Tremblay R, et al. Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine drugs*. 2016;14(9):159.
112. Cha KH, Koo SY, Lee D-U. Antiproliferative effects of carotenoids extracted from *Chlorella ellipsoidea* and *Chlorella vulgaris* on human colon cancer cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2008;56(22):10521-6.
113. Miralto A, Barone G, Romano G, Poulet S, Ianora A, Russo G, et al. The insidious effect of diatoms on copepod reproduction. *Nature*. 1999;402(6758):173-6.

114. Nappo M, Berkov S, Massucco C, Di Maria V, Bastida J, Codina C, et al. Apoptotic activity of the marine diatom *Cocconeis scutellum* and eicosapentaenoic acid in BT20 cells. *Pharmaceutical Biology*. 2012;50(4):529-35.
115. Samarakoon KW, Ko J-Y, Lee J-H, Kwon O-N, Kim S-W, Jeon Y-J. Apoptotic anticancer activity of a novel fatty alcohol ester isolated from cultured marine diatom, *Phaeodactylum tricornutum*. *Journal of functional foods*. 2014;6:231-40.
116. Sachindra NM, Sato E, Maeda H, Hosokawa M, Niwano Y, Kohno M, et al. Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007;55(21):8516-22.
117. Ngo D-H, Vo T-S, Ngo D-N, Wijesekara I, Kim S-K. Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. *International journal of biological macromolecules*. 2012;51(4):378-83.
118. Nauroth JM, Liu YC, Van Elswyk M, Bell R, Hall EB, Chung G, et al. Docosahexaenoic acid (DHA) and docosapentaenoic acid (DPA<sub>n</sub>-6) algal oils reduce inflammatory mediators in human peripheral mononuclear cells in vitro and paw edema in vivo. *Lipids*. 2010;45:375-84.
119. Ohgami K, Shiratori K, Kotake S, Nishida T, Mizuki N, Yazawa K, et al. Effects of astaxanthin on lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro and in vivo. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(6):2694-701.
120. Guzmán S, Gato A, Lamela M, Freire-Garabal M, Calleja J. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytotherapy Research*. 2003;17(6):665-70.
121. Delattre C, Pierre G, Laroche C, Michaud P. Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. *Biotechnology advances*. 2016;34(7):1159-79.
122. Miyakoshi M. Study of *Chlorella* produced from the Chikugo area. *Clin Rep*. 1980;14:3931-41.
123. Murakami T. Effect of *Chlorella* on blood pressure, cerebral stroke lesions, hypertensive vascular changes and life span in spontaneously hypertensive rats. *J Jpn Soc Nutr Food Sci*. 1987;40:351-9.
124. Suetsuna K, Chen J-R. Identification of antihypertensive peptides from peptic digest of two microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Marine Biotechnology*. 2001;3:305-9.
125. Lu J, Ren D-F, Xue Y-L, Sawano Y, Miyakawa T, Tanokura M. Isolation of an antihypertensive peptide from alcalase digest of *Spirulina platensis*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010;58(12):7166-71.
126. Ko S-C, Kang N, Kim E-A, Kang MC, Lee S-H, Kang S-M, et al. A novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from a marine *Chlorella ellipsoidea* and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Process Biochemistry*. 2012;47(12):2005-11.
127. Samarakoon KW, O-Nam K, Ko J-Y, Lee J-H, Kang M-C, Kim D, et al. Purification and identification of novel angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from cultured marine microalgae (*Nannochloropsis oculata*) protein hydrolysate. *Journal of Applied Phycology*. 2013;25:1595-606.
128. Wu H, Xu N, Sun X, Yu H, Zhou C. Hydrolysis and purification of ACE inhibitory peptides from the marine microalga *Isochrysis galbana*. *Journal of Applied Phycology*. 2015;27:351-61.



129. Heo S-Y, Ko S-C, Kim CS, Oh G-W, Ryu B, Qian ZJ, et al. A heptameric peptide purified from *Spirulina* sp. gastrointestinal hydrolysate inhibits angiotensin I-converting enzyme-and angiotensin II-induced vascular dysfunction in human endothelial cells. *International journal of molecular medicine*. 2017;39(5):1072-82.
130. Cao D, Lv X, Xu X, Yu H, Sun X, Xu N. Purification and identification of a novel ACE inhibitory peptide from marine alga *Gracilariopsis lemaneiformis* protein hydrolysate. *European Food Research and Technology*. 2017;243:1829-37.
131. Montone CM, Capriotti AL, Cavaliere C, La Barbera G, Piovesana S, Zenezini Chiozzi R, et al. Peptidomic strategy for purification and identification of potential ACE-inhibitory and antioxidant peptides in *Tetradasmus obliquus* microalgae. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018;410:3573-86.
132. Xie J, Chen X, Wu J, Zhang Y, Zhou Y, Zhang L, et al. Antihypertensive effects, molecular docking study, and isothermal titration calorimetry assay of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from *Chlorella vulgaris*. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018;66(6):1359-68.
133. Chen J, Tan L, Li C, Zhou C, Hong P, Sun S, et al. Mechanism analysis of a novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide from *isochrysis zhanjiangensis* microalgae for suppressing vascular injury in human umbilical vein endothelial cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2020;68(15):4411-23.
134. Ghaem Far Z, Babajafari S, Kojuri J, Mohammadi S, Nouri M, Rostamizadeh P, et al. Antihypertensive and antihyperlipemic of spirulina (*Arthrospira platensis*) sauce on patients with hypertension: A randomized triple-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*. 2021;35(11):6181-90.
135. Bohlin KH. *Zur morphologie und biologie einzelliger algen* 1897.
136. Rastogi A, Maheswari U, Dorrell RG, Vieira FRJ, Maumus F, Kustka A, et al. Integrative analysis of large scale transcriptome data draws a comprehensive landscape of *Phaeodactylum tricornutum* genome and evolutionary origin of diatoms. *Scientific reports*. 2018;8(1):4834.
137. QUIMA. *Phaeodactylum tricornutum: MÁS QUE UNA DIATOMEA* BLOG DE DIVULGACIÓN DEL GRUPO DE QUIMA [Available from: <http://eacfe-quima.blogspot.com/2016/05/phaeodactylum-tricornutum-mas-que-una.html>].
138. Vardi A, Thamtrakoln K, Bidle KD, Falkowski PG. Diatom genomes come of age. *Genome Biology*. 2009;9:1-5.
139. G D. Conservation and culture in laboratory plancktonycalgae In *Research Methods in marine biology*. Corl Schiepe Ed University of Wshington Press GB. 1972:127.
140. Villanova V, Singh D, Pagliardini J, Fell D, Le Monnier A, Finazzi G, et al. Boosting biomass quantity and quality by improved mixotrophic culture of the diatom *Phaeodactylum tricornutum*. *Frontiers in Plant Science*. 2021;12:642199.
141. Guillard RR, Ryther JH. Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian journal of microbiology*. 1962;8(2):229-39.
142. Derwenskus F, Metz F, Gille A, Schmid-Staiger U, Briviba K, Schließmann U, et al. Pressurized extraction of unsaturated fatty acids and carotenoids from wet *Chlorella vulgaris* and *Phaeodactylum tricornutum* biomass using subcritical liquids. *Gcb Bioenergy*. 2019;11(1):335-44.

143. Wang S, Said IH, Thorstenson C, Thomsen C, Ullrich MS, Kuhnert N, et al. Pilot-scale production of antibacterial substances by the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin. *Algal research*. 2018;32:113-20.
144. Wagner H, Jakob T, Lavaud J, Wilhelm C. Photosystem II cycle activity and alternative electron transport in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* under dynamic light conditions and nitrogen limitation. *Photosynthesis Research*. 2016;128:151-61.
145. Butler T, Kapoore RV, Vaidyanathan S. *Phaeodactylum tricornutum*: a diatom cell factory. *Trends in biotechnology*. 2020;38(6):606-22.
146. Dhaouadi F, Awwad F, Diamond A, Desgagné-Penix I. Diatoms' breakthroughs in biotechnology: *Phaeodactylum tricornutum* as a model for producing high-added value molecules. *American Journal of Plant Sciences*. 2020;11(10):1632-70.
147. Wishart DS. Metabolomics for investigating physiological and pathophysiological processes. *Physiological reviews*. 2019;99(4):1819-75.
148. Rinschen MM, Ivanisevic J, Giera M, Siuzdak G. Identification of bioactive metabolites using activity metabolomics. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2019;20(6):353-67.
149. Jang C, Chen L, Rabinowitz JD. Metabolomics and isotope tracing. *Cell*. 2018;173(4):822-37.
150. Roessner U, Bowne J. What is metabolomics all about? *BioTechniques*. 2009;46(5):363-5.
151. Shah SH, Kraus WE, Newgard CB. Metabolomic profiling for the identification of novel biomarkers and mechanisms related to common cardiovascular diseases: form and function. *Circulation*. 2012;126(9):1110-20.
152. Kind T, Wohlgemuth G, Lee DY, Lu Y, Palazoglu M, Shahbaz S, et al. FiehnLib: mass spectral and retention index libraries for metabolomics based on quadrupole and time-of-flight gas chromatography/mass spectrometry. *Analytical chemistry*. 2009;81(24):10038-48.
153. Bachhav R, Bachhav P, Bhamare M, Bachhav R, Sonawane G. A Concise Review on High-Performance Liquid Chromatography. *J Pharmaceut Res*. 2023;8(2):340-51.
154. Ali AH. High-performance liquid chromatography (HPLC): a review. *Ann Adv Chem*. 2022;6:010-20.
155. Gomis Yagües V. Tema 4. Cromatografía de líquidos de alta resolución. *Técnicas Instrumentales en el Análisis Industrial*. 2008.
156. Miller JM, Crowther JB. *Analytical chemistry in a GMP environment: a practical guide*. (No Title). 2000.
157. Sabitha Vadakedath VK, Vikram Godishala, Venkata Bharat Kumar Pinnelli, Samar Sami Alkafaas, Sara Sami Elkafas. *The Principle, Types, and Applications of Mass Spectrometry: A Comprehensive Review*. y Science and Education Publishing. 2022;7, No. 1(): 6-22.
158. De Hoffmann E, Stroobant V. *Mass spectrometry: principles and applications*: John Wiley & Sons; 2007.
159. Zulu NN, Zienkiewicz K, Vollheyde K, Feussner I. Current trends to comprehend lipid metabolism in diatoms. *Progress in lipid research*. 2018;70:1-16.
160. Noriega P, Gortaire G, Osorio E. Mass spectrometry and its importance for the analysis and discovery of active molecules in natural products. *Natural Drugs from Plants*. 2021:33-43.
161. Ho CS, Lam C, Chan MH, Cheung R, Law L, Lit L, et al. Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications. *The Clinical Biochemist Reviews*. 2003;24(1):3.

162. Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(18):4331.
163. Stanzione F, Giangreco I, Cole JC. Use of molecular docking computational tools in drug discovery. *Progress in Medicinal Chemistry*. 2021;60:273-343.
164. Raval K, Ganatra T. Basics, types and applications of molecular docking: A review. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology*. 2022;7(1):12-6.
165. Mohanty M, Mohanty PS. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*. 2023;154(7):683-707.
166. Wlodawer A, Minor W, Dauter Z, Jaskolski M. Protein crystallography for non-crystallographers, or how to get the best (but not more) from published macromolecular structures. *The FEBS journal*. 2008;275(1):1-21.
167. Torres PH, Sodero AC, Jofily P, Silva-Jr FP. Key topics in molecular docking for drug design. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(18):4574.
168. Agu P, Afiukwa C, Orji O, Ezeh E, Ofoke I, Ogbu C, et al. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*. 2023;13(1):13398.
169. Brooijmans N, Kuntz ID. Molecular recognition and docking algorithms. *Annual review of biophysics and biomolecular structure*. 2003;32(1):335-73.
170. Halperin I, Ma B, Wolfson H, Nussinov R. Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*. 2002;47(4):409-43.
171. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*. 2004;3(11):935-49.
172. Currie GM. Pharmacology, part 2: introduction to pharmacokinetics. *Journal of nuclear medicine technology*. 2018;46(3):221-30.
173. Slørdal L, Spigset O. Basic pharmacokinetics--distribution. *Tidsskrift for den Norske laegeforening: tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke*. 2005;125(8):1007-8.
174. Le J, PharmD M, BCPS-ID F, FCCP F. skaggs school of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. University of California San Diego. 2020.
175. Pan G. Roles of hepatic drug transporters in drug disposition and liver toxicity. *Drug Transporters in Drug Disposition, Effects and Toxicity*. 2019:293-340.
176. Susa ST HA, Preuss CV. *Drug Metabolism*. StatPearls Enero del 2024; Agosto del 2023.
177. Bolleddula J, Brady K, Bruin G, Lee A, Martin JA, Walles M, et al. Absorption, distribution, metabolism, and excretion of therapeutic proteins: Current industry practices and future perspectives. *Drug Metabolism and Disposition*. 2022;50(6):837-45.
178. Komura H, Watanabe R, Mizuguchi K. The trends and future prospective of in silico models from the viewpoint of ADME evaluation in drug discovery. *Pharmaceutics*. 2023;15(11):2619.
179. Dulsat J, López-Nieto B, Estrada-Tejedor R, Borrell JI. Evaluation of free online ADMET tools for academic or small biotech environments. *Molecules*. 2023;28(2):776.
180. Lovering F, Bikker J, Humblet C. Escape from flatland: increasing saturation as an approach to improving clinical success. *Journal of medicinal chemistry*. 2009;52(21):6752-6.
181. Ritchie TJ, Ertl P, Lewis R. The graphical representation of ADME-related molecule properties for medicinal chemists. *Drug Discovery Today*. 2011;16(1-2):65-72.

182. Ertl P, Rohde B, Selzer P. Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties. *Journal of medicinal chemistry*. 2000;43(20):3714-7.
183. Wildman SA, Crippen GM. Prediction of physicochemical parameters by atomic contributions. *Journal of chemical information and computer sciences*. 1999;39(5):868-73.
184. Moriguchi I, Hirono S, Liu Q, NAKAGOME I, MATSUSHITA Y. Simple method of calculating octanol/water partition coefficient. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 1992;40(1):127-30.
185. Daina A, Michielin O, Zoete V. iLOGP: a simple, robust, and efficient description of n-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *Journal of chemical information and modeling*. 2014;54(12):3284-301.
186. Ali J, Camilleri P, Brown MB, Hutt AJ, Kirton SB. Revisiting the general solubility equation: in silico prediction of aqueous solubility incorporating the effect of topographical polar surface area. *Journal of chemical information and modeling*. 2012;52(2):420-8.
187. Delaney JS. ESOL: estimating aqueous solubility directly from molecular structure. *Journal of chemical information and computer sciences*. 2004;44(3):1000-5.
188. Yalkowsky SH, Valvani SC. Solubility and partitioning I: solubility of nonelectrolytes in water. *Journal of pharmaceutical sciences*. 1980;69(8):912-22.
189. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific reports*. 2017;7(1):42717.
190. Lipinski Christopher A, Franco L, Dominy Beryl W, Feeney Paul J. Enfoques experimentales y computacionales para estimar la solubilidad y la permeabilidad en entornos de descubrimiento y desarrollo de fármacos. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2001;46:3-26.
191. Dong J, Wang N-N, Yao Z-J, Zhang L, Cheng Y, Ouyang D, et al. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *Journal of cheminformatics*. 2018;10:1-11.
192. Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Research*. 2021;49(W1):W5-W14.
193. Norzagaray-Valenzuela CD, Valdez-Ortiz A, Shelton LM, Jiménez-Edeza M, Rivera-López J, Valdez-Flores MA, et al. Residual biomasses and protein hydrolysates of three green microalgae species exhibit antioxidant and anti-aging activity. *Journal of Applied Phycology*. 2017;29(1):189-98.
194. German-Báez L, Valdez-Flores M, Félix-Medina J, Norzagaray-Valenzuela C, Santos-Ballardo D, Reyes-Moreno C, et al. Chemical composition and physicochemical properties of *Phaeodactylum tricornutum* microalgal residual biomass. *Food Science and Technology International*. 2017;23(8):681-9.
195. Pereira H, Custódio L, Rodrigues MJ, Bruno de Sousa C, Oliveira M, Barreira L, et al. Biological activities and chemical composition of methanolic extracts of selected autochthonous microalgae strains from the Red Sea. *Marine drugs*. 2015;13(6):3531-49.
196. Cervantes-Hernández F, Alcalá-González P, Martínez O, Ordaz-Ortiz JJ. Placenta, pericarp, and seeds of tabasco chili pepper fruits show a contrasting diversity of bioactive metabolites. *Metabolites*. 2019;9(10):206.
197. Salinas-Moreno Y, Arteaga-Garibay R, Arroyo-Silva A, Ordaz-Ortiz JJ, Ruvalcaba-Gómez JM, Gálvez-Marroquín LA. Antimicrobial activity and phenolic composition of varieties of *Hibiscus sabdariffa* L. with red and white calyces. *CyTA-Journal of Food*. 2023;21(1):1-9.

198. Santos-Martins D, Forli S, Ramos MJ, Olson AJ. AutoDock4Zn: an improved AutoDock force field for small-molecule docking to zinc metalloproteins. *Journal of chemical information and modeling*. 2014;54(8):2371-9.
199. Karjalainen MJ, Neuvonen PJ, Backman JT. In vitro inhibition of CYP1A2 by model inhibitors, anti-inflammatory analgesics and female sex steroids: predictability of in vivo interactions. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2008;103(2):157-65.
200. Jeppesen U, Gram L, Vistisen K, Loft S, Poulsen H, Brøsen K. Dose-dependent inhibition of CYP1A2, CYP2C19 and CYP2D6 by citalopram, fluoxetine, fluvoxamine and paroxetine. *European journal of clinical pharmacology*. 1996;51:73-8.
201. Hernández-Urcera J, Romero A, Cruz P, Vasconcelos V, Figueras A, Novoa B, et al. Screening of Microalgae for Bioactivity with Antiviral, Antibacterial, Anti-Inflammatory and Anti-Cancer Assays. *Biology*. 2024;13(4):255.
202. Riyadi P, Susanto E, Anggo A, Arifin M, Rizki L. Effect of methanol solvent concentration on the extraction of bioactive compounds using ultrasonic-assisted extraction (UAE) from *Spirulina platensis*. *Food Research*. 2023;7(3):59-66.
203. Lauersen KJ, Baier T, Wichmann J, Wördenweber R, Mussgnug JH, Hübner W, et al. Efficient phototrophic production of a high-value sesquiterpenoid from the eukaryotic microalga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Metabolic engineering*. 2016;38:331-43.
204. Cheng P, Ji B, Gao L, Zhang W, Wang J, Liu T. The growth, lipid and hydrocarbon production of *Botryococcus braunii* with attached cultivation. *Bioresource technology*. 2013;138:95-100.
205. Ko S-C, Kim J-Y, Lee JM, Yim M-J, Kim H-S, Oh G-W, et al. Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibition and Molecular Docking Study of Meroterpenoids Isolated from Brown Alga, *Sargassum macrocarpum*. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(13):11065.
206. López-Hernández JF, García-Alamilla P, Palma-Ramírez D, Álvarez-González CA, Paredes-Rojas JC, Márquez-Rocha FJ. Continuous microalgal cultivation for antioxidants production. *Molecules*. 2020;25(18):4171.
207. JENNIFER S RF, ECHEVERRÍA I. Evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de microalgas usando cepas ATCC. *Química Central [Internet]*. 4 de Diciembre 2018;6 (1):57-66.
208. Ren Y, Sun H, Deng J, Huang J, Chen F. Carotenoid production from microalgae: biosynthesis, salinity responses and novel biotechnologies. *Marine Drugs*. 2021;19(12):713.
209. Cheng JJ TY. Algae as a feedstock for biofuel production. In: *Algae as a feedstock for biofuel production* In. 3 2011. p. 65-97.
210. Bertrand M. Carotenoid biosynthesis in diatoms. *Photosynthesis research*. 2010;106(1):89-102.
211. Pennington F, Guillard RR, Liaaen-Jensen S. Carotenoid distribution patterns in Bacillariophyceae (diatoms). *Biochemical systematics and ecology*. 1988;16(7-8):589-92.
212. Shaw B, Andersen R, Harrison P. Feeding deterrence properties of apo-fucoanthinoids from marine diatoms. I. Chemical structures of apo-fucoanthinoids produced by *Phaeodactylum tricorutum*. *Marine Biology*. 1995;124:467-72.
213. PEIMBERT TORRES M. De la bioenergética a la bioquímica del ATP. 2010.
214. Zheng W, Tian E, Liu Z, Zhou C, Yang P, Tian K, et al. Small molecule angiotensin converting enzyme inhibitors: A medicinal chemistry perspective. *Frontiers in Pharmacology*. 2022;13:968104.

215. Hasan R, Herowati R. Molecular Docking and Pharmacokinetic Studies of *Moringa oleifera* As Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Pharmacy & Pharmaceutical Sciences Journal/Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 2024;11(1).
216. Li X, Feng C, Hong H, Zhang Y, Luo Z, Wang Q, et al. Novel ACE inhibitory peptides derived from whey protein hydrolysates: Identification and molecular docking analysis. *Food Bioscience*. 2022;48:101737.
217. Wang X, Wu S, Xu D, Xie D, Guo H. Inhibitor and substrate binding by angiotensin-converting enzyme: quantum mechanical/molecular mechanical molecular dynamics studies. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 2011;51(5):1074-82.
218. Lin Z, Lai J, He P, Pan L, Zhang Y, Zhang M, et al. Screening, ACE-inhibitory mechanism and structure-activity relationship of a novel ACE-inhibitory peptide from *Lepidium meyenii* (Maca) protein hydrolysate. *Food Bioscience*. 2023;52:102374.
219. Niu J, Straubinger RM, Mager DE. Pharmacodynamic drug–drug interactions. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2019;105(6):1395-406.
220. Liang Z, Li QX.  $\pi$ -Cation interactions in molecular recognition: Perspectives on pharmaceuticals and pesticides. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2018;66(13):3315-23.
221. Su G, Yang S, Jiang Y, Li J, Li S, Ren J-C, et al. Modeling chemical reactions on surfaces: The roles of chemical bonding and van der Waals interactions. *Progress in Surface Science*. 2019;94(4):100561.
222. Corradi HR, Schwager SL, Nchinda AT, Sturrock ED, Acharya KR. Crystal structure of the N domain of human somatic angiotensin I-converting enzyme provides a structural basis for domain-specific inhibitor design. *Journal of molecular biology*. 2006;357(3):964-74.
223. Stielow M, Witczyńska A, Kubryń N, Fijałkowski Ł, Nowaczyk J, Nowaczyk A. The bioavailability of drugs—the current state of knowledge. *Molecules*. 2023;28(24):8038.
224. Bohnert T, Prakash C. ADME profiling in drug discovery and development: an overview. *Encyclopedia of drug metabolism and interactions*. 2011:1-42.
225. Mohammed I. Virtual screening of Microalgal compounds as potential inhibitors of Type 2 Human Transmembrane serine protease (TMPRSS2). arXiv preprint arXiv:210813764. 2021.
226. Azman M, Sabri AH, Anjani QK, Mustaffa MF, Hamid KA. Intestinal absorption study: Challenges and absorption enhancement strategies in improving oral drug delivery. *Pharmaceuticals*. 2022;15(8):975.
227. P U. In-silico approach: predictive ADME/T properties and ACE inhibitory action of isolated compounds of *Aspidopterys* sps. *Journal of Medical pharmaceutical and allied sciences*. 2024;13:6377-84.
228. Al-Saffar A, da Costa AN, Delaunois A, Leishman DJ, Marks L, Rosseels M-L, et al. Gastrointestinal safety pharmacology in drug discovery and development. *Principles of Safety Pharmacology*. 2015:291-321.
229. Wang J. Comprehensive assessment of ADMET risks in drug discovery. *Current pharmaceutical design*. 2009;15(19):2195-219.
230. Kumar R, Sharma A, Alexiou A, Bilgrami A, Kamal M, Ashraf G. DeePred-BBB: a blood brain barrier permeability prediction model with improved accuracy. *Front Neurosci*. 2022; 16: 858126. 2022.
231. Sánchez-Martínez JD, Garcia AR, Alvarez-Rivera G, Valdés A, Brito MA, Cifuentes A. In vitro study of the blood–brain barrier transport of natural compounds recovered from agrifood by-products and microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;24(1):533.

232. Alavijeh MS, Chishty M, Qaiser MZ, Palmer AM. Drug metabolism and pharmacokinetics, the blood-brain barrier, and central nervous system drug discovery. *NeuroRx*. 2005;2:554-71.
233. Nguyen T-T-L, Duong V-A, Maeng H-J. Pharmaceutical formulations with P-glycoprotein inhibitory effect as promising approaches for enhancing oral drug absorption and bioavailability. *Pharmaceutics*. 2021;13(7):1103.
234. Ji D, Xu M, Udenigwe CC, Agyei D. Physicochemical characterisation, molecular docking, and drug-likeness evaluation of hypotensive peptides encrypted in flaxseed proteome. *Current research in food science*. 2020;3:41-50.
235. Parhi R, Mandru A. Enhancement of skin permeability with thermal ablation techniques: concept to commercial products. *Drug delivery and translational research*. 2021;11:817-41.
236. Jain A, Nayak S, Soni V. Iontophoretic permeation of lisinopril at different current densities and drug concentrations. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*. 2012;2(2):239.
237. Zhao M, Ma J, Li M, Zhang Y, Jiang B, Zhao X, et al. Cytochrome P450 enzymes and drug metabolism in humans. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(23):12808.
238. Bhatt S, Dhiman S, Kumar V, Gour A, Manhas D, Sharma K, et al. Assessment of the CYP1A2 inhibition-mediated drug interaction potential for pinocembrin using in silico, in vitro, and in vivo approaches. *ACS omega*. 2022;7(23):20321-31.
239. Ach. Khumaidi FI, Mohamad Fadjjar, Maftuch, 4Masruri, Uun Yanuhar, 5Yuni Kilawati. Fatty acid profile and in silico pharmacological study of diatom *Amphora* sp. *AAFL Bioflux*. 2020;13(4).
240. Shubbar Q, Alchakee A, Issa KW, Adi AJ, Shorbagi AI, Saber-Ayad M. From genes to drugs: CYP2C19 and pharmacogenetics in clinical practice. *Frontiers in Pharmacology*. 2024;15:1326776.
241. Prasetya FS, Destiarani W, Prihastaningtyas IRC, Agung MUK, Yusuf M. Computational simulations of microalgae-derived bioactive compounds as a novel inhibitor against B-Raf V600E driven melanoma. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2023;13(6):068-86.
242. Tang P-f, Zheng X, Hu X-x, Yang C-c, Chen Z, Qian J-c, et al. Functional measurement of CYP2C9 and CYP3A4 allelic polymorphism on sildenafil metabolism. *Drug Design, Development and Therapy*. 2020:5129-41.
243. Van Booven D, Marsh S, McLeod H, Carrillo MW, Sangkuhl K, Klein TE, et al. Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenetics and genomics*. 2010;20(4):277-81.
244. Taylor C, Crosby I, Yip V, Maguire P, Pirmohamed M, Turner RM. A Review of the Important Role of CYP2D6 in Pharmacogenomics. *Genes*. 2020;11(11):1295.
245. Wang F, Zhang X, Wang Y, Chen Y, Lu H, Meng X, et al. Activation/inactivation of anticancer drugs by CYP3A4: influencing factors for personalized cancer therapy. *Drug Metabolism and Disposition*. 2023;51(5):543-59.
246. Ivanović V, Rančić M, Arsić B, Pavlović A. Lipinski's rule of five, famous extensions and famous exceptions. *Popular Scientific Article*. 2020;3(1):171-7.
247. Bezalel S, Mahlab-Guri K, Asher I, Werner B, Sthoeger ZM. Angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced angioedema. *The American journal of medicine*. 2015;128(2):120-5.
248. Selvaraj C, Kaliasurthi S, Cakmak Z, Cakmak T. Computational screening of anti-diabetic molecules from microalgae metabolites by molecular docking. *Journal of Bioinformatics and Proteomics Review*. 2017;3:1-7.

249. Fadahunsi OS, Olorunnisola OS, Adegbola PI, Subair TI, Elegbeleye OE. Angiotensin converting enzyme inhibitors from medicinal plants: a molecular docking and dynamic simulation approach. *In Silico Pharmacology*. 2022;10(1):20.
250. Baell JB, Holloway GA. New substructure filters for removal of pan assay interference compounds (PAINS) from screening libraries and for their exclusion in bioassays. *Journal of medicinal chemistry*. 2010;53(7):2719-40.
251. Gilberg E, Stumpfe D, Bajorath J. Activity profiles of analog series containing pan assay interference compounds. *RSC advances*. 2017;7(57):35638-47.
252. Riyadi PH, Susanto E, Anggo AD, Arifin MH. IN SILICO ANALYSIS OF SMALL MOLECULES FROM SPIRULINA PLATENSIS AS A LOOP DIERUTIC AND ANTI-INFLAMMATORY AGENT. 2006.
253. Brenk R, Schipani A, James D, Krasowski A, Gilbert IH, Frearson J, et al. Lessons learnt from assembling screening libraries for drug discovery for neglected diseases. *ChemMedChem: Chemistry Enabling Drug Discovery*. 2008;3(3):435-44.
254. LoPachin RM, Gavin T. Molecular mechanisms of aldehyde toxicity: a chemical perspective. *Chemical research in toxicology*. 2014;27(7):1081-91.
255. LoPachin RM, Barber DS, Geohagen BC, Gavin T, He D, Das S. Structure-toxicity analysis of type-2 alkenes: in vitro neurotoxicity. *Toxicological Sciences*. 2007;95(1):136-46.
256. Mulliner D, Wondrousch D, Schüürmann G. Predicting Michael-acceptor reactivity and toxicity through quantum chemical transition-state calculations. *Organic & biomolecular chemistry*. 2011;9(24):8400-12.
257. Ertl P, Schuffenhauer A. Estimation of synthetic accessibility score of drug-like molecules based on molecular complexity and fragment contributions. *Journal of cheminformatics*. 2009;1:1-11.
258. Van Norman GA. Limitations of animal studies for predicting toxicity in clinical trials: is it time to rethink our current approach? *JACC: Basic to Translational Science*. 2019;4(7):845-54.
259. Wang S, Sun H, Liu H, Li D, Li Y, Hou T. ADMET evaluation in drug discovery. 16. Predicting hERG blockers by combining multiple pharmacophores and machine learning approaches. *Molecular pharmaceutics*. 2016;13(8):2855-66.
260. Stergiopoulos C, Tsopelas F, Valko K. Prediction of hERG inhibition of drug discovery compounds using biomimetic HPLC measurements. *ADMET and DMPK*. 2021;9(3):191-207.
261. Rusyn I, Arzuaga X, Cattley RC, Corton JC, Ferguson SS, Godoy P, et al. Key characteristics of human hepatotoxicants as a basis for identification and characterization of the causes of liver toxicity. *Hepatology*. 2021;74(6):3486-96.
262. Tejada Cifuentes F. Hepatotoxicidad por fármacos. *Revista Clínica de Medicina de Familia*. 2010;3(3):177-91.
263. Andrade RJ, Aithal GP, Björnsson ES, Kaplowitz N, Kullak-Ublick GA, Larrey D, et al. EASL clinical practice guidelines: drug-induced liver injury. *Journal of hepatology*. 2019;70(6):1222-61.
264. Al-Rifaie A, Khan MA, Ali A, Dube AK, Gleeson D, Hoeroldt B. Lisinopril-induced liver injury: an unusual presentation and literature review. *European Journal of Case Reports in Internal Medicine*. 2020;7(7).
265. Chu CS, Simpson JD, O'Neill PM, Berry NG. Machine learning–Predicting Ames mutagenicity of small molecules. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*. 2021;109:108011.



266. Wu Z, Guo Y, Qu L, Wang X, Zhang H. Development and validation of a prognostic signature of breast cancer based on drug absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME)-related genes. *Scientific Reports*. 2024;14(1):21619.
267. Regulska K, Matera-Witkiewicz A, Mikołajczyk A, Stanisiz BJ. In silico and in vitro screening for carcinogenic potential of angiotensin-converting enzyme inhibitors and their degradation impurities. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2023;469:116541.
268. Ryu JY, Jang WD, Jang J, Oh K-S. PredAOT: a computational framework for prediction of acute oral toxicity based on multiple random forest models. *BMC bioinformatics*. 2023;24(1):66.
269. Lip G, Ferner R. Poisoning with anti-hypertensive drugs: angiotensin converting enzyme inhibitors. *Journal of human hypertension*. 1995;9(9):711-5.
270. Chen Z, Zhang L, Sun J, Meng R, Yin S, Zhao Q. DCAMCP: A deep learning model based on capsule network and attention mechanism for molecular carcinogenicity prediction. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2023;27(20):3117-26.
271. DeMarini DM. The role of genotoxicity in carcinogenesis. In: Baan RA SB, Straif K, editors, editor. *Tumour Site Concordance and Mechanisms of Carcinogenesis*. No. 165. International Agency for Research on Cancer: IARC Scientific Publications; 2019.
272. Maheswari A, Salamun D. In silico molecular docking of cyclooxygenase (COX-2), ADME-toxicity and in vitro evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activities of marine macro algae. *3 Biotech*. 2023;13(11):359.
273. Matyszewska D, Zaborowska M, Fontaine P. Is lipophilicity the main factor determining the effective drug penetration through lipid membranes? Combined GIXD and PM-IRRAS studies on the example of anthracyclines. *Journal of Molecular Liquids*. 2023;385:122324.
274. Silva AC, Borba JV, Alves VM, Hall SU, Furnham N, Kleinstreuer N, et al. Novel computational models offer alternatives to animal testing for assessing eye irritation and corrosion potential of chemicals. *Artificial intelligence in the life sciences*. 2021;1:100028.
275. Jaganathan K, Tayara H, Chong KT. An explainable supervised machine learning model for predicting respiratory toxicity of chemicals using optimal molecular descriptors. *Pharmaceutics*. 2022;14(4):832.
276. Ginex T, Vazquez J, Gilbert E, Herrero E, Luque FJ. Lipophilicity in drug design: An overview of lipophilicity descriptors in 3D-QSAR studies. *Future medicinal chemistry*. 2019;11(10):1177-93.
277. Grisoni F, Consonni V, Villa S, Vighi M, Todeschini R. QSAR models for bioconcentration: is the increase in the complexity justified by more accurate predictions? *Chemosphere*. 2015;127:171-9.
278. Rojo MG, Cristos D, Carriquiriborde P. Bioconcentration of carbamazepine, enalapril, and sildenafil in neotropical fish species. *Frontiers in Toxicology*. 2023;5:1247453.

## ABREVIACIONES

ADN: Ácido desoxirribonucleico	MALDI: Desorción/ionización láser asistida por matriz
Ang: Angiotensina	Mb: Megabases
AT: Receptor de angiotensina	Met: Metionina
ARA: Antagonistas de los receptores de angiotensina	MS: Espectrometría de masas
Asn: Asparagina	mmHg: Milímetro de mercurio
Cl: Cloro	NO: Óxido nítrico
Da: Dalton	OMS: Organización Mundial de la Salud
DHA: Ácido docosahexaenoico	PA: Presión arterial
DPA: Ácido docosapentaenoico	pH: Potencial de hidrógeno
ECA: Enzima convertidora de angiotensina	PAD: Presión arterial diastólica
ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición	PAS: Presión arterial sistólica
EPA: Ácido eicosapentaenoico	PUFA's: Ácidos grasos poliinsaturados
ESI-HRMS; Espectrometría de Masas de Alta Resolución por Ionización por Electro spray	Pro: Prolina
Gln: Glutamina	Psi : libras por pulgada cuadrada
Glu: Ácido glutámico	ROS: Especies reactivas de oxígeno
Gly: Glicina	SHR: Rata espontáneamente hipertensa
HA: Hipertensión arterial	SNS: Sistema nervioso simpático
HDL: Lipoproteínas de alta densidad del inglés <i>High density lipoprotein</i> .	SRRA: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
IL: Interleucina	TOF: Tiempo de Vuelo
IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina	Thr: Treonina
Ile: Isoleucina	Trp: Triptófano
K: Potasio	Tyr: Tirosina
kDa: Kilo Dalton	TNF: Factor de necrosis tumoral
LDL: Lipoproteínas de baja densidad	UPLC: Cromatografía Líquida de Ultra Alto Rendimiento del inglés <i>Ultra-Performance Liquid Chromatography</i>
LC: Cromatografía líquida	Val: Valina
Leu: Leucina	VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana
Lys: Lisina	VHC: Virus de la hepatitis C
LPS: Lipopolisacárido	VHS: Virus del herpes simple
Na: Sodio	