

Modelado molecular de la isovitexina sobre el receptor de hidrocarburo de arilo: potencialidades farmacológicas

Molecular modeling of isovitexin on the aryl hydrocarbon receptor:
pharmacological potentialities

Oscar Guillermo Collado-García^{1*}, <https://orcid.org/0000-0001-5351-7140>

Orlando Alejandro Abreu-Guirado², <https://orcid.org/0000-0001-6909-025X>

Paul Cos³, <https://orcid.org/0000-0003-4361-8911>

Hans De Winter⁴, <https://orcid.org/0000-0002-4450-7677>

Enrique Molina-Pérez^{1*}, <https://orcid.org/0000-0001-7987-1893>

¹ Departamento Química. Laboratorio de Biotecnología y Química de las Plantas (LaBioQuiP). Facultad de Ciencias Aplicadas. Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Camagüey, Cuba

² Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Laboratorio de Biotecnología y Química de las Plantas (LaBioQuiP). Facultad de Ciencias Aplicadas. Universidad de Camagüey Ignacio Agramonte Loynaz, Camagüey, Cuba

³ Laboratory of Parasitology, Microbiology and Hygiene. University of Antwerp, Belgium

⁴ Laboratory of Medicinal Chemistry. University of Antwerp, Belgium.

ogcolladogarcia@gmail.com

Recibido: 5 de septiembre de 2023

Aprobado: 5 de noviembre de 2023

RESUMEN

El receptor de hidrocarburo de arilo (AHR), es una proteína de clase I (bHLH-PAS). Se sobreexpresa en el cáncer y también tiene funciones biológicas indirectas relacionadas con determinados efectos pro-inflamatorios. La isovitexina es un flavonoide glucosilado presente en plantas como *Piper aduncum*, que se emplea tradicionalmente para tratar infecciones del tracto urinario (ITU). Se determinó por acoplamiento molecular la interacción de la Isovitecina sobre el AHR, en un modelo del dominio de dimerización del heterodímero AHR:ARNT utilizando el programa MOE 2019.01. Los sitios de unión de la Isovitecina sobre el AHR y su complejo

AHR:ARNT son diferentes. Se propone la interfase bHLH/PAS-A como sitio de unión activo. La Isovitexina puede ser activa para bloquear el AHR:ARNT. La presencia del glucósido puede ser importante para el comportamiento antagonista del flavonoides. Se estiman actividades antitumorales y antiinflamatorias para el tratamiento de las ITU en la Isovitexina.

Palabras clave: AHR;cáncer; Isovitexina,;ITU; acoplamiento molecular.

ABSTRACT

The aryl hydrocarbon receptor (AHR) is a class I protein (bHLH-PAS). It is overexpressed in cancer and also has indirect biological functions related to certain pro-inflammatory effects. Isovitexin is a glycosylated flavonoid present in plants such as *Piper aduncum*, which is traditionally used to treat urinary tract infections (UTI). The interaction of Isovitexin on the AHR was determined by molecular docking, in a model of the dimerization domain of the AHR:ARNT heterodimer using the MOE 2019.01 program. The binding sites of Isovitexin on the AHR and its AHR:ARNT complex are different. The bHLH/PAS-A interface is proposed as an active binding site. Isovitexin may be active in blocking AHR:ARNT. The presence of the glycoside may be important for the antagonistic behavior of the flavonoids. Antitumor and anti-inflammatory activities are estimated for the treatment of UTIs in Isovitexin.

Keywords: AHR; cancer; isovitexin; UTI; molecular docking.

Introducción

El ensamblaje de las proteínas monoméricas del tipo bHLH-PAS de clase I y clase II en los correspondientes heterodímeros es una temática actualmente en investigación. Las regiones N-terminales de las proteínas bHLH-PAS contienen los dominios bHLH, PAS-A y PAS-B, los que se encuentran relativamente conservados dentro de su familia de proteínas. Las estructuras heterodiméricas multidominio revelaron algunas informaciones sorprendentes acerca del modo de unión de las proteínas bHLH-PAS para formar los heterodímeros funcionales a través de las interacciones a nivel de los dominios antes mencionados.⁽¹⁾

El receptor de hidrocarburo de arilo (AHR), conocido como receptor de dioxina, es un factor de transcripción básico que contiene hélice-bucle-hélice (bHLH) y Per-Arnt-Sim (PAS), siendo un tipo homólogo de proteína de clase I. Está presente en numerosas

especies animales, incluidos los seres humanos, con una distribución específica en diferentes tipos de células y tejidos. Activa la expresión génica de una manera dependiente del ligando,⁽²⁾ donde el prototipo se conoce como 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD), una dioxina arquetípica conocida como uno de los congéneres más potentes. La unión del ligando a AHR conduce a la translocación nuclear y a la heterodimerización con la proteína translocadora nuclear de AHR (ARNT). El heterodímero AHR:ARNT se une a secuencias de ADN (elementos sensibles a xenobióticos, XRE), y regula la expresión de genes diana, incluidas las enzimas metabolizadoras de fármacos, como el citocromo P450 (CYP1A1).⁽²⁾

En este sentido, esta interacción del ADN está altamente correlacionada con el paso inicial de los eventos de toxicidad subsiguientes, incluida la carcinogenicidad, la reproducción y el deterioro inmunológico, conocidos como efectos de toxicidad por dioxinas.⁽³⁾ Por otro lado, se reporta que el AHR participa en la regulación de la inmunidad innata y en las respuestas adaptativas en varios tipos de células inmunes, incluyendo linfocitos y células presentadoras de antígeno (APC).⁽⁴⁾

Las proteínas AHR y ARNT se expresan en casi todos los tejidos del organismo, son miembros de la familia básica de factores de transcripción proteínas bHLH-PAS. La unión del ligando en AHR ocurre en la cavidad interna del dominio PAS-B, mientras que el proceso de heterodimerización de AHR con ARNT implica interacciones entre sus dominios bHLH-PAS, y la unión al ADN para formar el heterodímero funcional AHR:ARNT.^(1,2,5)

El complejo AHR:ARNT requiere coactivadores adicionales, que incluyen miembros de otras familias de factores de transcripción para su actividad biológica. La conservación evolutiva y expresión generalizada en células inmunes de este factor de transcripción, señalan importantes funciones fisiológicas. Los estudios sobre las vías de regulación del sistema inmune, en animales y humanos, indican que la proteína AHR está involucrada en varias vías críticas de señalización para la homeostasis, la regulación de genes, la inflamación, la secreción de citocinas, entre otras.⁽⁴⁾

Por otro lado, numerosos estudios han puesto de relieve el papel de los polifenoles a la hora de contrarrestar diferentes enfermedades. Los polifenoles presentan variadas actividades biológicas, son reconocidos como antioxidantes que regulan el estrés oxidativo y la inflamación crónica. Varios estudios se centran en los beneficiosos efectos antiinflamatorios, y anticancerígenos.⁽⁶⁾ En particular, los flavonoides constituyen un importante grupo de polifenoles que pueden interactuar con los

componentes celulares inmunes de una manera diferente e influir en las respuestas inmunes a nivel molecular.⁽⁷⁾

Los flavonoides incluyen productos naturales y sintéticos que desde el punto de vista químico se pueden clasificar en: (1) compuestos cuya característica estructural se basa en derivados de un propilbenceno sustituido con fenilo (1-fenilpropano) que posee un esqueleto C15; (2) compuestos que tienen un esqueleto C16 que son derivados de propilbenceno sustituidos con fenilo (rotenoides); (3) flavonolignanos, cuya estructura se basa en derivados de propilbenceno sustituido con fenilo condensado con precursores de lignanos C6-C3.⁽⁸⁾

La Isovitexina (apigenin-6-C-glucósido), es un isómero de posición de la Vitexina, que contiene un 6-C-glucósido en comparación con el 8-C-glucósido de la Vitexina. Esta flavona se ha reportado en varias plantas.⁽⁹⁾ En la Isovitexina se ha demostrado experimentalmente las actividades antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, cardioprotectora y neuroprotectora.⁽⁹⁾

Una de las especies vegetales en la que se ha aislado la Isovitexina es *Piper aduncum* L. (Piperaceae), conocida en Cuba como “Platanillo de Cuba” o “Guayuyo”.⁽¹⁰⁾ Se encuentra entre las especies autorizadas por el CECMED,⁽¹¹⁾ para el desarrollo y producción de medicamentos herbarios. Esta piperácea posee un gran aval de empleo tradicional en varios países y en Cuba, particularmente en afecciones del tracto urinario.^(10,12) También se ha reportado su uso tradicional para el cáncer,⁽¹³⁾ y se han comprobado experimentalmente el efecto antitumoral y antiinflamatorio de los extractos.⁽¹⁴⁾ Estudios *in vitro* han reportado que el extracto etanólico de la especie de *Piper aduncum* mostró actividad citotóxica frente a células MCF-7 (cáncer de mamas) y NCI-H460 (carcinoma pulmonar), y la fracción clorofórmica del extracto metanólico fué activa en líneas celulares de cáncer gástrico.⁽¹⁵⁾

Por todo lo anterior, se procedió a modelar la interacción de la Isovitexina sobre el receptor de hidrocarburo de arilo mediante acoplamiento molecular, para abordar el potencial farmacológico de este flavonoide en la terapéutica de las ITU y del cáncer.

Materiales y métodos

Método de acoplamiento molecular: Se seleccionó la estructura química de la isovitexina, y un modelo del receptor AHR monomérico y del complejo heterodímero

con ARNT sobre las estructuras cristalinas de ARNT (PDB:4zp4) y AHR. Para el modelado molecular se empleó el programa MOE 2019.01.

Determinación de los contactos atómicos entre las interfases de las proteínas:

Para este fin fué empleado el programa Cocomaps server (bioCOMplexes Contact MAPS) (<https://www.molnac.unisa.it/BioTools/cocomaps/>).

Determinación de los residuos de aminoácidos importantes para la interacción proteína-proteína:

El análisis de la flexibilidad de las mutaciones de alanina se realizó mediante los programas Robetta (<http://rosetta.bakerlab.org/alascansubmit.jsp>) y Rosetta Backrub (<https://kortemmelab.ucsf.edu/backrub/cgi-bin/rosettaweb.py?query=submit>).

Visualización y presentación de los complejos, poses e interacciones: Se utilizó el programa MOE 2019.01.

Resultados y discusión

La elucidación del proceso de dimerización del AHR con el AHR translocador nuclear (ARNT) es crucial para entender los mecanismos de la actividad funcional de AHR. El análisis y los resultados obtenidos de este sistema complejo de interacciones interdominio en las interfaces de dimerización, están en correspondencia con estudios desarrollados por Corrada *et al.*⁽¹⁶⁾

El bloqueo o modulación de la formación del heterodímero AHR:ARNT es fundamental para atenuar las actividades biológicas que se desencadenan de forma directa, tras la unión del ligando. El AHR puede presentarse en diversos estados, inactivo o activo, por lo que la interferencia en las interacciones proteína-proteína (IPP) constituyen un reto para poder modular la formación del heterodímero, donde es importante identificar el sitio de unión efectivo para lograr el objetivo tanto cuando el AHR se encuentre activo como inactivo. Los sitios de unión de la Isovitexina en la superficie del AHR no son conocidos.

A continuación, se presentan los posibles sitios de unión del flavonoide en esta proteína cuando se encuentra en su formas monomérica (AHR) y heterodimérica (AHR:ARNT). En la Figura 1 se muestra el sitio activo de interacción de la Isovitexina con este receptor, comprendido en la interfase formada entre los dominios bHLH y PAS-A del AHR. La puntuación final de acoplamiento molecular (Scoring, S) es de -5,803 7; y la energía de unión ($\Delta G_{\text{binding}}$) de -34,324 0 kcal/mol. La

Isovitexina se une por enlace de hidrógeno con la fenilalanina Phe134 (PAS-A) a través del grupo hidroxilo de la posición 4', y con el aminoácido Glu114 (PAS-A) con el grupo OH de la posición 3'-Az.

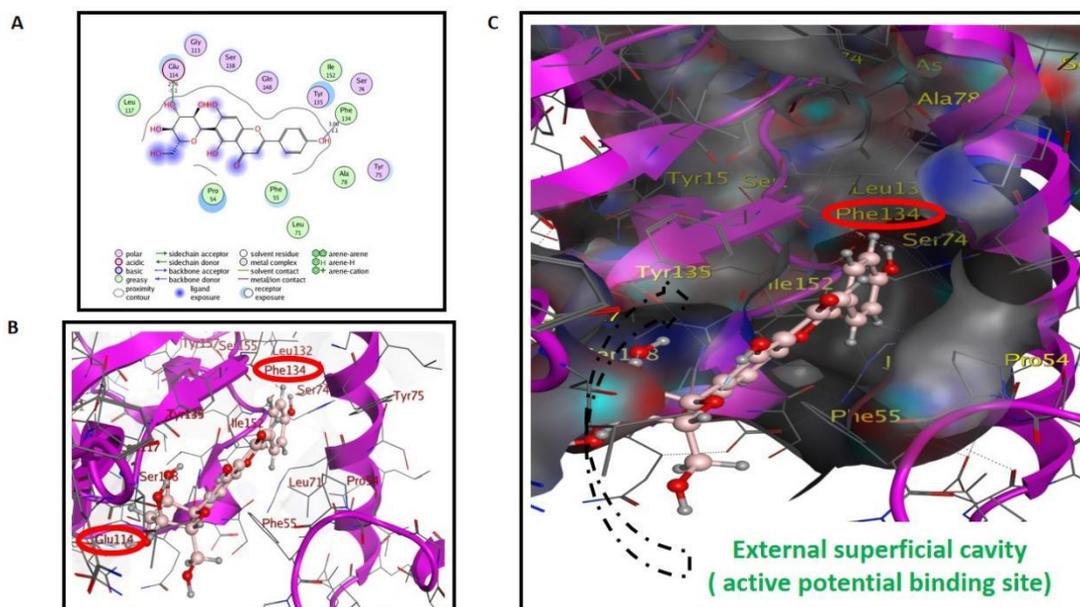


Fig. 1- Interacciones de la Isovitexina con la interfase entre los dominios bHLH y PAS-A (color magenta). A: Red de interacción entre AHR y el compuesto estudiado. B: Pose 5 activa. C: Mapa de potencial electrostático. En rojo los aminoácidos que participan en la unión

La pose activa bloquea los contactos atómicos de los residuos de aminoácidos que tienen $\Delta\Delta G^\circ$ de unión superior a 1 kcal/mol, determinada tras mutaciones de alanina para el complejo heterodímero AHR:ARNT, siendo estos: Phe55, Tyr75, Tyr135, Gln148 y Ile152, los cuales son importantes para la interacción con los residuos de la pareja (partner) ARNT (Figura 2A). Se establecen interacciones menores a 6Å del tipo π - π apilada entre el anillo π B de la Isovitexina con los aminoácidos Tyr75 y Tyr135 de AHR, mientras que con la Phe55 interacciona de igual forma el anillo A del flavonoide. La fenilalanina (Phe134) no es un residuo importante de AHR para la formación del heterodímero, pero presenta contactos atómicos inferiores a 6Å con el residuo Phe158 de su pareja ARNT, con interacciones de tipo hidrofóbico. Este último residuo de aminoácido sí es importante para que el ARNT interactúe con el AHR (Figura 2B).

La Isovitexina interactúa mediante enlace de hidrógeno con el grupo carbonilo que forma parte del enlace peptídico de la cadena polipeptídica. El residuo de ácido glutámico (Glu114) de AHR no es un residuo significativo en la estructura de esta

proteína para formar el heterodímero funcional (Figura 2A), pero establece contacto atómico con el residuo de leucina (Leu164) del ARNT que es importante para la formación del heterodímero (Figura 2B). En este caso, la Isovitecina establece enlaces por puente de hidrógeno con el grupo carboxilo de este aminoácido. Estos resultados coinciden con lo reportado por Fukunaga *et al.*, 1995,⁽¹⁷⁾ donde se destaca que los dominios bHLH y PAS son requeridos para la dimerización de AHR con ARNT, por lo que un bloqueo de las IPP en estos sitios disminuye la actividad biológica transcripcional *in vivo* del AHR.

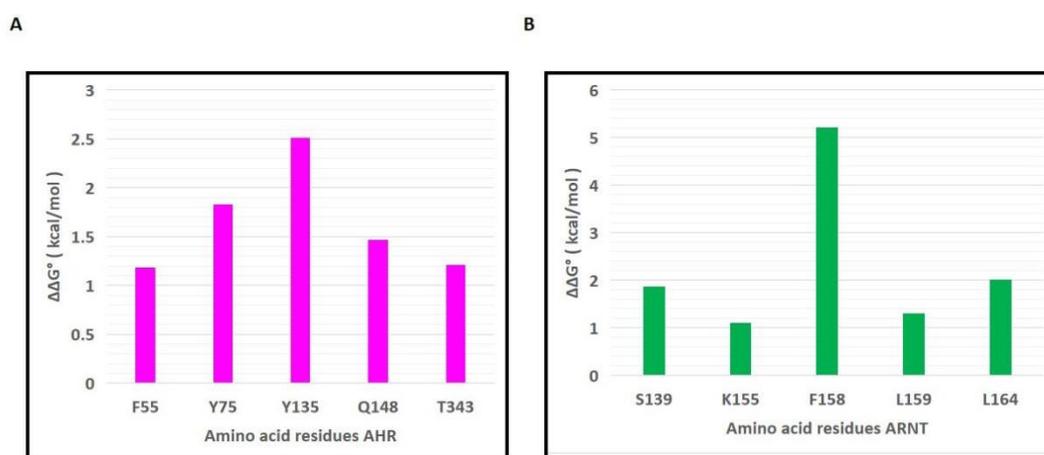


Fig. 2 -Mutaciones de alanina. (A) proteína AHR; (B) proteína ARNT

Cuando el heterodímero está formado a nivel nuclear, la Isovitecina también puede acoplarse a determinados sitios de unión. En este caso, se estima que la capacidad de interferir es mínima, ya que se han establecido los contactos atómicos efectivos que permiten la formación del mismo. En las Figuras 3-5 se presentan los sitios de unión identificados mediante el acoplamiento molecular en AHR:ARNT.

En la Figura 3 (A y B) se muestra el sitio de unión de la Isovitecina en la interfase identificada en el heterodímero AHR:ARNT, a través de una energía de unión de -36,1629 kcal/mol y $S = -6,2358$, por lo que no interfiere en la formación del heterodímero, por ser este sitio una cavidad interna formada después que ambas proteínas se han unido. La siguiente pose del flavonoide se presenta en la Figura 4 (A y B), con una energía de unión de -33,3404 kcal/mol con $S = -5.9808$, y al igual que en la pose anterior, la Isovitecina se une a la misma interfase de dominios en el heterodímero, pero además se une al ARNT mediante enlaces de hidrógeno con los residuos de ácido glutámico (Glu128) y lisina (Lys209).

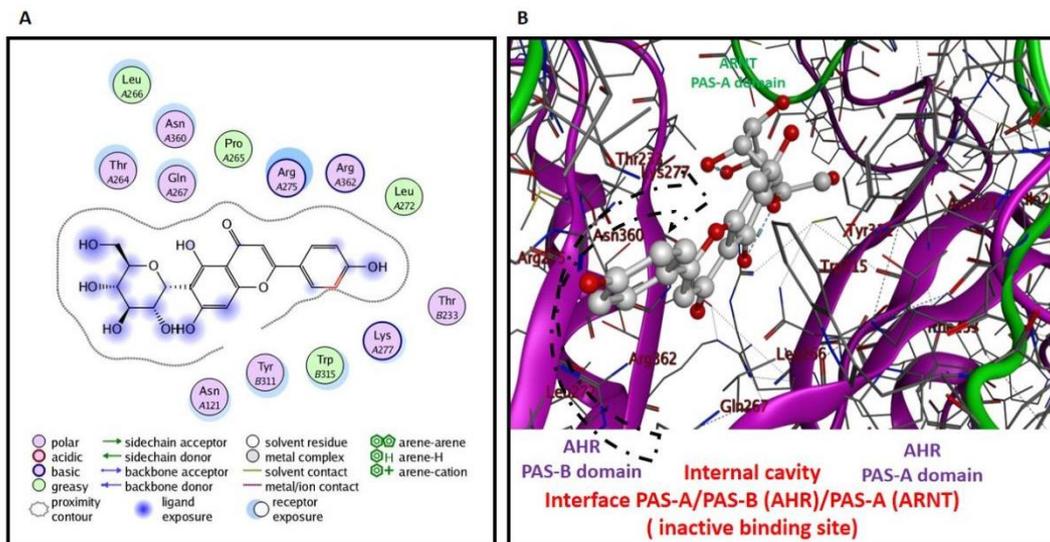


Fig. 3- Interacciones de la Isovitexina con la interfase entre los dominios PAS-A/PAS-B(AHR)/PAS-A(ARNT) en el heterodímero AHR:ARNT. A: Red de interacción entre AHR, ARNT y el compuesto estudiado. B: Pose 1 inactiva

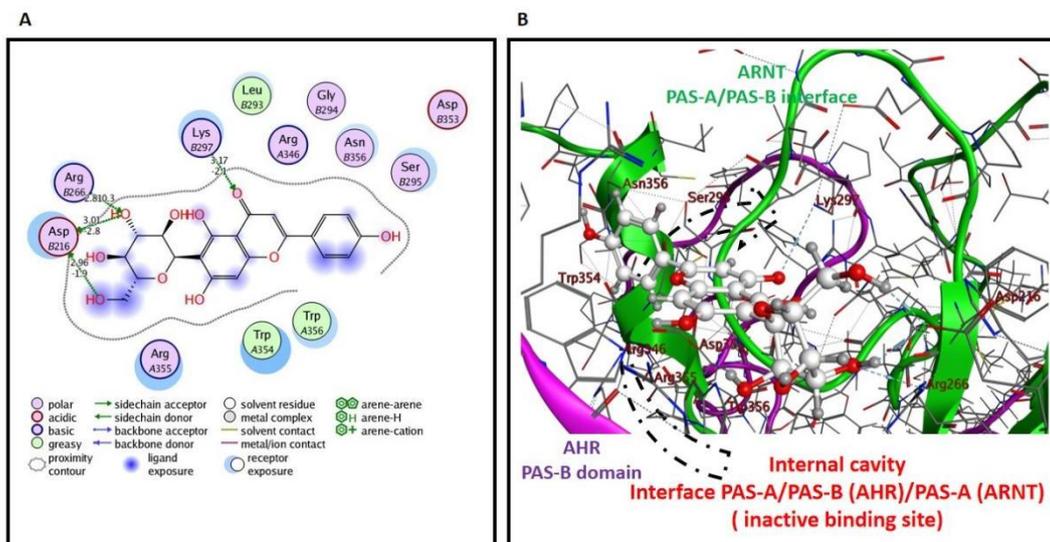


Fig. 4- Interacciones de la Isovitexina con la interfase entre los dominios PAS-B(AHR)/PAS-A/PAS-B(ARNT) en el heterodímero AHR:ARNT. A: Red de interacción entre AHR, ARNT y el compuesto estudiado. B: acoplamiento molecular en el sitio de unión inactivo de la pose 2

En la Figura 5 (A y B) la flavona se une con una energía de -13.2613 kcal/mol y S= -5.8249, a la misma interfase de dominios antes mencionados en el heterodímero, por tanto no afecta la formación de AHR:ARNT.

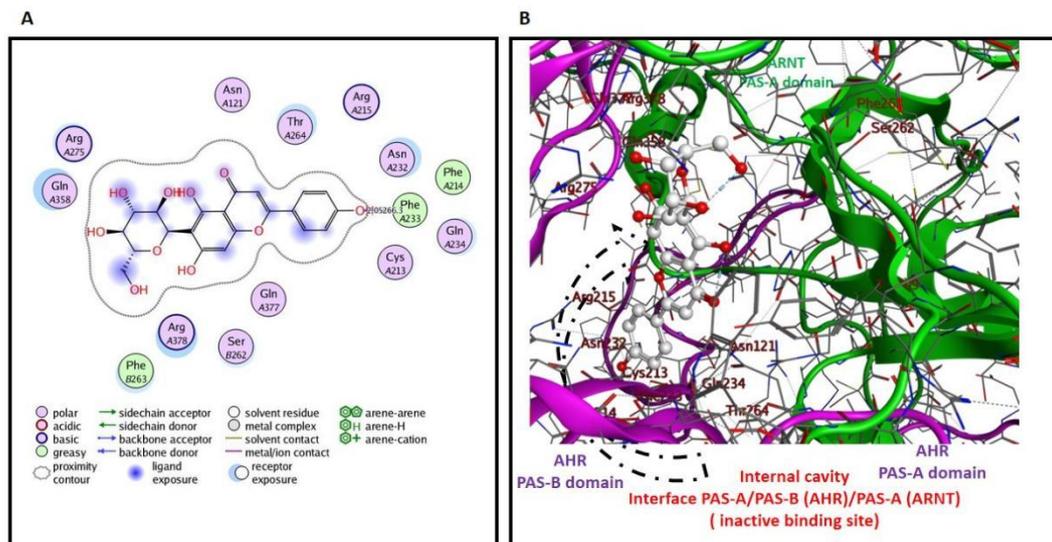


Fig. 5- Interacciones de la Isovitexina con la interfase entre los dominios PAS-A/PAS-B(AHR)/PAS-A(ARNT) en el heterodímero AHR:ARNT. A: Red de interacción entre AHR, ARNT y el compuesto estudiado. B: acoplamiento molecular en el sitio de unión inactiva de la pose 4

Las poses presentadas en las Figuras 3-5, constituyen una evidencia de que se forma una cavidad entre las interfases de las dos proteínas que interactúan a nivel de los dominios PAS-A y PAS-B de AHR y del dominio PAS-A de ARNT. Las interacciones fundamentales son de tipo hidrofóbico, aunque en el caso de la pose 2, se establecen además enlaces de hidrógeno entre dos grupos hidroxilos del anillo glucosídico y el oxígeno del grupo carbonilo del esqueleto base de la Isovitexina.

En la Figura 6 la Isovitexina se une a sitios diferentes cuando están dimerizados AHR y ARNT, en comparación a los presentados en las Figuras 3-5, ya que ocupa cavidades que se forman entre en las interfases tras la heterodimerización, las cuales no afectan su formación y presuntamente la funcionalidad del heterodímero. Es importante destacar, que la Isovitexina se une a sitios distintos en el AHR y AHR:ARNT. En la Figura 6A se destaca la unión isovitexina (blanco) en las interfases PAS-A/PAS-B(AHR)/PAS-A(ARNT) y PAS-B(AHR)/PAS-A/PAS-B(ARNT) destacadas en rojo en el heterodímero, mientras que en la proteína monomérica AHR, la Isovitexina (rojo) se une a los sitios destacados en azul (Figura 6B). En la Figura 6B el mejor sitio de interacción de la Isovitexina para afectar la unión de ambos monómeros a nivel de las interfases de los dominios bHLH y PAS-A se destaca con un ovalo negro.

Antes que se forme el heterodímero funcional a nivel nuclear e interactúe con el ADN para activar los genes correspondientes relacionados con su función biológica, la Isovitexina se une al monómero de AHR activado (por ligando exógeno o endógeno) en un sitio diferente al sitio de unión a ligando (cavidad interna del dominio PAS-B de AHR) y por este mecanismo a nivel de un sitio alostérico puede interferir en la conformación óptima a adoptar el plegamiento de ambas cadenas polipeptídicas al unirse al ADN. Fundamentalmente, se proponen interacciones hidrofóbicas y enlace de hidrógeno con los residuos Phe134 y Glu114 que son fundamentales para la unión. Este flavonoide glucosilado presuntamente provoca un impedimento estérico (Figura 1) en monómero AHR.

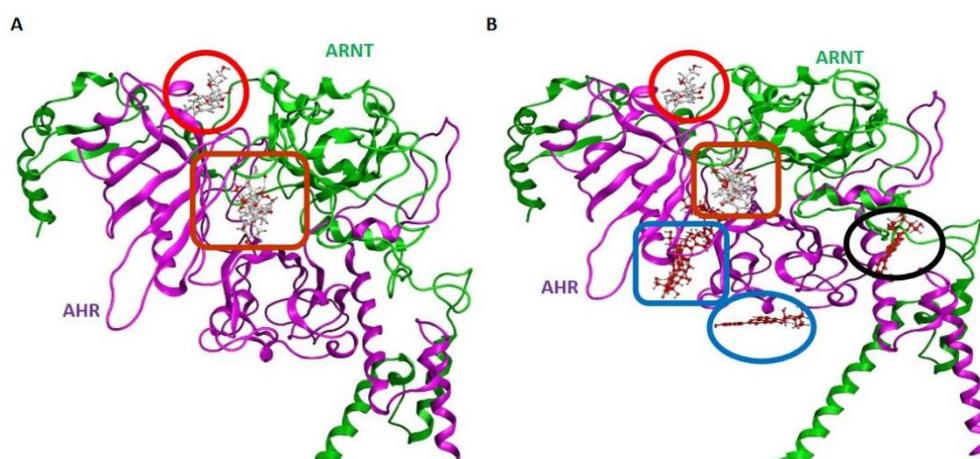


Fig. 6- Interacción de la Isovitexina con el heterodímero funcional AHR (magenta) / ARNT (verde)

Los resultados mostrados pueden justificar el posible mecanismo de acción a nivel de un sitio de unión alostérico para bloquear las IPP en las interfases de AHR que participan en la formación del heterodímero AHR:ARNT. Es conocido que el AHR es un factor dependiente en ligando de la transcripción que media en una gran variedad de efectos biológicos y toxicológicos, como resultado de la exposición a una variedad estructuralmente diversa de productos químicos sintéticos y naturales. Aunque el mecanismo global de acción del AHR ha sido extensamente estudiado e involucra un receptor nuclear, los detalles de los acontecimientos moleculares exactos que se dan como resultado a la mayoría efectos bioquímicos, fisiológicos, y toxicológicos dependientes de AHR, son objeto de investigación por la complejidad del mecanismo. Hay estudios que identifican y caracterizan nuevas vías y mecanismos moleculares

por los cuales el AHR ejerce las acciones endógenas para el desarrollo fisiológico y la respuesta para productos químicos exógenos,⁽¹⁸⁾ por lo que es un área de intensa investigación.

Específicamente al analizar el monómero de AHR, se ha determinado que en la región comprendida entre el dominio bHLH y PAS-A en la cadena de aminoácidos de la proteína AHR (Figura 1) es un sitio secundario de unión de la Isovitexina en el monómero, que no se establece en el heterodímero, y de esta forma afecta en determinado grado la formación del mismo al interactuar con el residuo fenilalanina (Phe134) que es predecesor de un residuo importante para la unión con el ARNT,(Tyr135). La fenilalanina (Phe134) también tiene contactos menores de 6Å con la fenilalanina (Phe158), con interacción hidrofóbica a $d=4,74\text{Å}$, que es importante para que el ARNT interactúe con el AHR (Figura 2). La diversidad de sitios de unión de los ligandos en AHR es posible, en contraste con el único sitio de unión reportado para AHR (dominio PAS-B), ya que existen preferencias de ligandos por otros sitios de unión diferentes.⁽¹⁹⁾

El hallazgo de un posible sitio de interacción de la Isovitexina para interferir las IPP en la formación del heterodímero AHR:ARNT, que se activa por diversos ligandos a nivel del dominio (PAS-B) de AHR (ej. TCDD), está en correspondencia con los reportes de Zhan, *et al.*, 2003,⁽²⁰⁾ y Bungsu *et al.*, 2021,⁽⁷⁾ de otros flavonoides que no activan el AHR. Las correlaciones estructura/actividad en la activación de AHR sugirieron que el nivel de actividad depende del tamaño molecular, la polaridad y la estructura de flavonas. En el caso de la Apigenina, Luteolina y Vitexina indujeron débilmente la actividad de AHR, ya que los grupos hidroxilo en el anillo B y en C-3 del anillo C pueden reducir la activación.⁽³⁾ Amakura *et al.*, 2008,⁽³⁾ han descrito que las flavonas tienen un elevado potencial inhibidor ($EC_{70}= 0,7-5,3 \mu\text{M}$) contra la activación de AHR inducida por TCDD, por lo que la tendencia de los glucósidos a debilitar estas actividades fue similar al de las flavonas.⁽³⁾

Por lo tanto, los efectos quimioprotectores de los flavonoides pueden deberse a que exhiben actividades múltiples (actividades agonistas/antagonistas) e interactúen con varios receptores celulares, incluyendo el receptor AHR,⁽²⁰⁾ por lo que esta dualidad de actividades puede también presentarse con la Isovitexina. Además, se ha reportado que los extractos alcohólicos y acuosos de plantas ricas en flavonoides, interactúan con la vía de señalización de AHR en bioensayos *in vitro*, mostrando efecto agonista a altas concentraciones y efecto antagonista a bajas concentraciones,^(3,21) de ahí la

importancia de considerar esta dualidad de comportamiento en los estudios experimentales.

La Isovitexina es un flavonoide que se ha estudiado por sus posibles efectos sobre el AHR. Algunos estudios sugieren que puede actuar como un agonista del AHR, lo que significa que puede activar la vía de señalización del AHR. Por ejemplo, un estudio encontró que la Isovitexina puede modular la actividad del AHR en células humanas. Sin embargo, se necesita más investigación para comprender completamente el papel de la Isovitexina como agonista o antagonista del AHR,⁽²²⁾ ya que Zhang, Qin y Safe, 2003,⁽²⁰⁾ y Bungsu *et al.*, 2021,⁽⁷⁾ refieren que los flavonoides, incluida la Isovitexina, exhiben actividad agonista o antagonista del AHR de una manera específica según la línea celular y la especie.

Por lo tanto, la isovitexina puede interferir en la actividad biológica al unirse a sitios como el presentado a nivel de la interface bHLH/PAS-A (sitio alostérico) y exhibir una actividad antagonista, lo que concuerda con lo reportado por Goya-Jorge, *et al.*, 2021, para el glucosido-7,3'-luteolina.⁽²³⁾ Sin embargo, su aglicona (apigenina) con menor peso molecular, ha sido reportada como agonista/antagonista de AHR.⁽²³⁾ Por tanto, desde el punto de vista estructural, la Isovitexina puede establecer contactos atómicos con un número mayor de residuos de aminoácidos a nivel de las interfases de los dos monómeros que forman el heterodímero AHR:ARNT, y bloquear las IPP en comparación con la apigenina.

La importancia de estos resultados desde la perspectiva de las propiedades farmacológicas está fundamentalmente relacionada con la influencia de los flavonoides sobre diversas proteínas del tipo bHLH/PAS. Éstas se sobreexpresan en diversos tipos de cáncer, ya que pueden afectar la formación del heterodímero AHR:ARNT, al estar aumentada la presencia del AHR en pacientes fumadores que padecen de cáncer de pulmón,⁽²⁴⁾ donde el AHR media en la actividad carcinogénica y otros efectos tóxicos de una colección variada de contaminantes medioambientales, incluyendo 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) y algunos hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs).⁽⁷⁾ También, reportes actuales de estudios sobre este tema, han tratado de correlacionar la sobreexpresión de AHR con el riesgo de padecer las mujeres el cáncer de mama,⁽²⁵⁾ aunque se reconoce la influencia del contexto en que se desarrolle este cáncer en la línea celular MCF-7.⁽²⁰⁾

Por otro lado, el mecanismo de inflamación indirecto mediado por AHR, que contribuye al agravamiento de las ITU, pudiera ser modulado y/o bloqueado con el empleo de extractos de *P. aduncum* que contengan Isovitexina.

Con estos resultados se aporta novedad en relación a los posibles mecanismos de acción de la Isovitexina a nivel de las interfases de interacción entre AHR y ARNT, identificando un nuevo sitio alostérico de unión para modular las IPP, así como evidencia del uso etnomedicinal de esta planta para el tratamiento de estas patologías, basado en las potencialidades farmacológicas.

Conclusiones

Se determinó por acoplamiento molecular los diferentes sitios de unión de la Isovitexina sobre el receptor de hidrocarburo de arilo (AHR) y su complejo AHR:ARNT. Se propone a la interfase bHLH/PAS-A como sitio alostérico más probable de esta flavona para interferir con la unión del complejo AHR:ARNT. La presencia del glucósido puede ser importante para el comportamiento antagonista de este flavonoide frente al AHR. La Isovitexina podría bloquear la formación del heterodímero AHR:ARNT que se encuentra sobreexpresado en pacientes que padecen de cáncer de pulmón y de mama, así como, interferir en el mecanismo inflamatorio que se desarrolla en las ITU.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer el apoyo de todas las instituciones involucradas en la investigación, así como de todos los colaboradores. Esta investigación ha sido parcialmente financiada por la Cooperación Belga al Desarrollo, VLIR-UOS (Consejo de Universidades Flamenas), a través del Proyecto TEAM con referencia CU2017TEA433A102.

Referencias bibliográficas

1. WU, D.; RASTINEJAD, F. “Structural characterization of mammalian bHLH-PAS transcription factors”. *Current Opinion in Structural Biology*. 2017, **43**, 1-9. doi: 10.1016/j.sbi.2016.09.011.
2. WU, D.; POTLURI, N.; KIM, Y., RASTINEJAD, F. “Structure and Dimerization Properties of the Aryl Hydrocarbon Receptor PAS-A Domain”. *Molecular and Cellular Biology*. 2013, **33**(21), 4346–4356. doi: 10.1128/MCB.00698-13

3. AMAKURA, Y.; TSUTSUMI, K.; SASAKI, M.; NAKAMURA, T.; YOSHIDA AND T. MAITANI. "Influence of food polyphenols on aryl hydrocarbon receptor-signaling pathway estimated by *in vitro* bioassay". *Phytochemistry*. 2008, **69**, 3117–3130. doi: 10.1016/j.phytochem.2007.07.022.
4. GARGARO, M.; PIRRO, M.; ROMANI, R.; ZELANTE, T.; FALLARINO, F. "Aryl Hydrocarbon Receptor-Dependent Pathways in Immune Regulation". *American Journal of Transplantation*. 2016, **16**(8), 2270–2276. doi:10.1111/ajt.13716
5. HANKINSON, O. "Role of coactivators in transcriptional activation by the aryl hydrocarbon receptor". *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2005, **433**, 379–386. doi:10.1016/j.abb.2004.09.031
6. RAY, S.K.; MUKHERJEE, S. "Evolving Interplay Between Dietary Polyphenols and Gut Microbiota-An Emerging Importance in Healthcare". *Frontiers in Nutrition*. 2021, **8**, 634944. doi: 10.3389/fnut.2021.634944.
7. BUNGSU, I.; KIFLI, N.; AHMAD, S.R.; GHANI, H.; CUNNINGHAM, A.C. "Herbal Plants: The Role of AhR in Mediating Immunomodulation". *Frontiers in Immunology*. 2021, **12**, 697663. doi: 10.3389/fimmu.2021.697663
8. RAUTER, A.; ENNIS, M.; HELLWICH, K.; HEROLD, B.; HORTON, D.; MOSS, G.; SCHOMBURG, I. "Nomenclature of flavonoids (IUPAC Recommendations 2017)". *Pure and Applied Chemistry*. 2018, 90(9), 1429–1486. <https://doi.org/10.1515/pac-2013-0919>
9. HE, M.; MIN, J.W.; KONG, W.L.; HE, X.H.; LI, J.X.; PENG, B.W. A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin". *Fitoterapia*. 2016, **115**, 74-85.<http://doi.org/10.1016/j.fitote.2016.09.011>.
10. ROIG, J.T. *Plantas Medicinales, Aromáticas o Venenosas de Cuba*. Tomo II. 2da Edición. La Habana: Editorial Científico-Técnica, 2012. ISBN 978-959-05-0809-7.
11. CRUZ, D. *Formulario Nacional de Fitofármacos y Apifármacos*. 2da Edición. La Habana: Editorial de Ciencias Médicas, 2017. ISBN 978-959-212-902-3.
12. CRUZ, G.L. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. 5ta edición. Rio de Janeiro: Ed. Bertrand Brasil, 1995. ISBN 9788528602609.
13. PITMAN, N.; RUELAS-INZUNZA, E.; VRIESENDORP, C.; STOTZ, D.F.; *et al.* eds. "Perú: Ere-Campuya-Algodón". *Rapid Biological and Social Inventories Report* **25**. Chicago: The Field Museum 2013. ISBN 978-0-9828419-3-8.

14. TAHER, M.; AMRI, M.S.; SUSANTI, D.; KUDOS, M.B.A.; NOR, N.F.A.; SYUKRI, Y. “Medicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacological Properties of *Piper aduncum* L”. *Sains Malaysiana*. 2020, **49**(8), 1829-1851. doi:10.17576/jsm-2020-4908-07.
15. MAYANGA-HERRERA, A.; TAPIA-ROJAS, S.; FUKUSAKI-YOSHIZAWA, A.; MARCELO-RODRÍGUEZ, A.; AMIEL-PÉREZ J. “Actividad citotóxica de la fracción clorofórmica de *Piper aduncum* y su efecto en el ciclo celular en líneas celulares de cáncer gástrico”. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2020, **37**(3), 471-477. doi:10.17843/rpmesp.2020.373.5157.
16. CORRADA, D.; DENISON, M.S.; BONATI, L. “Structural modeling of the AhR:ARNT complex in the bHLH-PASA-PASB region elucidates the key determinants of dimerization”. *Molecular BioSystem*. 2017, **13**(5), 981-990. doi:10.1039/c7mb00005g
17. FUKUNAGA, B.N.; PROBST, M.R.; REISZ-PORSZASZ, S.; HANKINSON O. “Identification of Functional Domains of the Aryl Hydrocarbon Receptor”. *The Journal of Biological Chemistry*. 1995, **270**(49), 29270–29278. doi: 10.1074/jbc.270.49.29270.
18. DENISON, M.S.; SOSHILOV, A.A.; HE, G.; DEGROOT, D.E.; ZHAO, B. “Exactly the Same but Different: Promiscuity and Diversity in the Molecular Mechanisms of Action of the Aryl Hydrocarbon (Dioxin) Receptor”. *Toxicological Sciences*. 2011, **124**(1), 1–22. doi: 10.1093/toxsci/kfr218
19. SALZANO, M.; MARABOTTI, A.; MILANESI, L.; FACCHIANO, A. “Human aryl-hydrocarbon receptor and its interaction with dioxin and physiological ligands investigated by molecular modelling and docking simulations”. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011, **413**(2), 176–181. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.039
20. ZHANG, S; QIN, C.; SAFE, S.H. “Flavonoids as Aryl Hydrocarbon Receptor Agonists/Antagonists: Effects of Structure and Cell Context”. *Environmental Health Perspectives*. 2003, **111**(16), 1877–1882. doi: 10.1289/ehp.6322.
21. LU, Y.F.; SANTOSTEFANO, M.; CUNNINGHAM, B.D.M.; THREADGILL, M.D.; SAFE, S. “Substituted Flavones as Aryl Hydrocarbon (Ah) Receptor Agonists and Antagonists”. *Biochemical Pharmacology*. 1996, **51**(8), 1077-1087. doi:10.1016/0006-2952(96)00063-9

22. LV, H.; YU, Z.; ZHENG, Y.; WANG, L.; QIN, X.; CHENG, G.; CI, X. “Isovitexin Exerts Anti-Inflammatory and Anti-Oxidant Activities on Lipopolysaccharide-Induced Acute Lung Injury by Inhibiting MAPK and NF- κ B and Activating HO-1/Nrf2 Pathways”. *International Journal of Biological Sciences*. 2016, **12**(1),72-86. doi: 10.7150/ijbs.13188.
23. GOYA-JORGE, E.; JORGE-RODRÍGUEZ, M.E.; VEITÍA, M.S.-I.; GINER, R.M. “Plant Occurring Flavonoids as Modulators of the Aryl Hydrocarbon Receptor”. *Molecules*.2021, **26**(8), 2315. doi:10.3390/molecules26082315.
24. ROGERS, S.; DE SOUZA, A.; ZAGO, M.; IU, M.; GUERRINA, N.; GOMEZ, A.; MATTHEWS, J.; BAGLOLE, C.J. “Aryl hydrocarbon receptor (AhR)-dependent regulation of pulmonary miRNA by chronic cigarette smoke exposure”. *Scientific Reports*.2017, **7**, 40539. doi:10.1038/srep40539
25. LI, Y.; QIN, H.Z.; SONG, Q.; WU, X.D.; ZHU, J.H. “Lack of association between the aryl hydrocarbon receptor rs2066853 polymorphism and breast cancer: A meta-analysis on Ahr polymorphism and breast cancer”. *Genetics and Molecular Research*. 2015, **14**(4), 16162-16168. doi:10.4238/2015.December.8.5

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Oscar Guillermo Collado-García: Conceptualización, metodología, validación, análisis formal, investigación, curación de datos, redacción, preparación del borrador original, revisión y edición, visualización.

Orlando Alejandro Abreu-Guirado: redacción, preparación del borrador original, revisión y edición, visualización.

Paul Cos: Conceptualización, investigación, recursos, adquisición de financiación curación de datos, revisión y edición, supervisión, administración de proyectos.

Hans De Winter: Conceptualización, software, validación, investigación, recursos, curación de datos, revisión y edición, supervisión.

Enrique Molina-Pérez: Conceptualización, metodología, investigación, recursos, revisión y edición, supervisión, administración de proyectos, adquisición de

financiación. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.