

Acoplamiento molecular de hidrofobinas de *Pleurotus ostreatus* con el factor nuclear de células T

Molecular coupling of *Pleurotus ostratus hydrophobins* with T cell nuclear factor

Linnet Vega Oliva^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-0796-4553>

Yaixa Beltrán Delgado² <https://orcid.org/0000-0002-7149-5069>

Julio Alberto Rojas Vargas³ <https://orcid.org/0000-0002-8877-1592>

Humberto Joaquín Morris Quevedo⁴ <https://orcid.org/0000-0002-3916-8594>

Isabel Marten Powell⁵ <https://orcid.org/0000-0003-1067-3463>

Marcos Meneses Mayo⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7381-6690>

¹Hospital Provincial Saturnino Lora, Santiago de Cuba, Cuba.

²Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

³Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba.

⁴Universidad de Ciencias Médicas de Santiago de Cuba, Santiago de Cuba, Cuba.

⁵Instituto de Ciencias de la Salud (ICSA), Universidad Anáhuac México Campus Norte, México.

*Autor para la correspondencia: vegalinet92@gmail.com

RESUMEN

Introducción: En la actualidad existen fármacos inmunosupresores que inhiben el complejo Calcineurina/Factor Nuclear de Células T Activadas (CN/NFAT) utilizados para prevenir el rechazo de órganos trasplantados. Sin embargo, no se pueden emplear en enfermedades inflamatorias, pues su uso prolongado produce efectos secundarios graves. Por ello, se investigan nuevos compuestos, entre ellos péptidos fúngicos, capaces de interferir selectivamente con la señalización CN/NFAT y que, a su vez, resulten seguros.

Objetivo: Evaluar el efecto *in silico* de hidrofobinas de *Pleurotus ostreatus* sobre el factor transcripcional NFAT.

Métodos: La estructura de las hidrofobinas se obtuvo de la base de datos MeFSAT y el acoplamiento se realizó con el programa AutoDock 4.2. Se estimaron la energía libre (ΔG), la constante de disociación (K_i) y la eficiencia de ligando (LE). Se modelaron parámetros de similitud a un fármaco y los relacionados con la absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADME/T).

Resultados: El acoplamiento molecular entre las hidrofobinas y la proteína NFAT presentó una fortaleza de unión moderada (valores de ΔG en un intervalo de -4.6 a -5.7 kcal/mol). Las hidrofobinas evaluadas mostraron resultados favorables en cuanto a los eventos de absorción, distribución, metabolismo, excreción/toxicidad (ADME/T).

Conclusiones: Las hidrofobinas investigadas poseen potencialidades para el desarrollo de novedosos fármacos de interés en la terapéutica de afecciones del sistema inmune. Los resultados justifican la realización de ensayos *in vitro/in vivo* que corroboren sus efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios.

Palabras clave: CN/NFAT; respuesta inmune; *in silico*; hidrofobinas; *Pleurotus ostreatus*; acoplamiento molecular.

ABSTRACT

Introduction: Currently there are immunosuppressive drugs that inhibit the Calcineurin/Activated T Cell Nuclear Factor (CN/NFAT) complex used to prevent rejection of transplanted organs. However, they cannot be used in inflammatory diseases, since their prolonged use produces severe side effects. For this reason, new compounds are being investigated, including fungal peptides, capable of selectively interfering with CN/NFAT signaling, and which, in turn, are safe.

Objective: To evaluate the *in silico* effect of hydrophobins from *Pleurotus ostreatus* on the transcriptional factor NFAT.

Methods: The structure of the hydrophobins was obtained from the MeFSAT database and the docking was carried out with the AutoDock 4.2 program. Free energy (ΔG), dissociation constant (K_i) and ligand efficiency (LE) were estimated. Parameters of similarity to a drug and those related to absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicity (ADME/T) were modeled.

Results: The molecular coupling between hydrophobins and the NFAT protein presented moderate binding strength (ΔG values in a range of -4.6 to -5.7 kcal/mol). The evaluated hydrophobins showed favorable results in terms of absorption, distribution, metabolism, excretion/toxicity (ADME/T) events.

Conclusions: The investigated hydrophobins have potential for the development of novel drugs of interest in the therapeutics of immune system disorders. The results justify the performance of *in vitro/in vivo* tests to corroborate its immunomodulatory and anti-inflammatory effects.

Keywords: CN/NFAT; immune response; *in silico*; hydrophobins; *Pleurotus ostreatus*; molecular docking

Recibido: 31/08/2023

Aceptado: 12/10/2023

Introducción

El estudio de las enfermedades del sistema inmune ha cobrado relevancia en las últimas décadas, debido al incremento de los factores que inciden en su fisiopatología, por ejemplo, estilos de vida inadecuados como los hábitos nutricionales, el estrés, los cambios medioambientales, la incidencia de diversos padecimientos, etc.⁽¹⁾ Diferentes enfermedades se asocian al estrés oxidativo resultante del daño originado por las especies reactivas de oxígeno (EROs), entre ellas, las que tienen como base un estado “proinflamatorio” sostenido.⁽²⁾

Por esta razón, en la actualidad se intensifica la búsqueda de compuestos con propiedades preventivas o terapéuticas, capaces de modular la señalización redox y las respuestas inmunitarias.⁽³⁾ Dentro de las “biofábricas naturales” de sustancias bioactivas más promisorias figuran los hongos comestibles, investigados por sus efectos antitumorales, antioxidantes e inmunomoduladores.⁽⁴⁾

Pleurotus ostreatus es una de las especies más consumidos a nivel mundial. Estudios recientes refieren su actividad antitumoral e inmunomoduladora en extractos crudos y compuestos purificados a partir del micelio y cuerpos fructíferos.⁽⁵⁾

Entre los compuestos presentes en los hongos se encuentran las hidrofobinas, péptidos atractivos para la biotecnología por sus aplicaciones industriales, y propiedades antitumorales⁽⁶⁾ y antimicrobianas.⁽⁷⁾ Su acción se ha relacionado con la modulación de la respuesta inmune.⁽⁶⁾ En *P. ostreatus* se han identificado 40

genes de hidrofobinas con funciones en el crecimiento y desarrollo del hongo;⁽⁸⁾ sin embargo, no se han reportado aún sus posibles efectos farmacológicos.

Las proteínas NFAT (factor nuclear de células T activadas), constituyen dianas importantes para el abordaje de procesos inflamatorios relacionados con la inmunidad, crecimiento y diferenciación celular, tumorigénesis y apoptosis. Esta familia de factores transcripcionales realiza sus funciones unidos a la fosfatasa calcineurina (CN), pero en presencia de estímulos sostenidos, como ocurre en la inflamación crónica, su señalización ocasiona daños al organismo.⁽⁹⁾ En la actualidad existen inhibidores exógenos que disminuyen la actividad del complejo CN/NFAT pero solo se emplean para evitar el rechazo a trasplantes, debido a la gran variedad de reacciones adversas que presentan.⁽¹⁰⁾

La modelación molecular del acoplamiento de hidrofobinas de *Pleurotus ostreatus* con las proteínas NFAT podría aportar nuevas evidencias científicas para el desarrollo de fármacos capaces de interferir selectivamente con la ruta de señalización CN/NFAT. El acoplamiento molecular desempeña hoy día un rol importante en el diseño de fármacos como herramienta complementaria a los estudios *in vitro/in vivo* y la dilucidación de los mecanismos de acción.⁽¹¹⁾

El presente trabajo tuvo como objetivo realizar una evaluación *in silico* del posible efecto de hidrofobinas de *P. ostreatus* sobre proteínas NFAT, mediante la utilización del acoplamiento molecular y la estimación de parámetros de similitud a un fármaco y de absorción, distribución, metabolismo, excreción/ toxicidad (ADME/T).

Métodos

Contexto y clasificación de la investigación

Se realizó una investigación experimental *in silico* utilizando los recursos computacionales de la estación de Cálculos Complejos de la Universidad de Oriente (Santiago de Cuba, Cuba).

Ligandos y estructura de las proteínas

Se seleccionaron tres hidrofobinas de *P. ostreatus* depositadas en la base de datos MeFSAT (*Medicinal Fungi Secondary metabolites and Therapeutics*): POH1 (C₄₁H₆₇N₁₃O₁₇S), POH2 (C₄₄H₇₉N₁₃O₁₅) y POH3 (C₄₁H₆₈N₁₂O₁₅S) (<http://cb.imsc.res.in/mefsat>, consultada: diciembre 2, 2022).⁽¹²⁾ Se empleó el programa ChemBioDraw Professional 15.0 (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA)⁽¹³⁾ para generar las estructuras de las hidrofobinas, cuya geometría se optimizó con el programa ChemBio3D Ultra 12.0⁽¹³⁾ utilizando los métodos de mecánica molecular MM2 y MMFF94. Se modelaron las proteínas NFAT 5SVE y NFAT 2P6B, cuyas estructuras 3D están depositadas en el Banco de Datos de Proteínas (PDB, del inglés *Protein Data Bank*) (<http://www ww pdb.org>, consultada: diciembre 2, 2022) (tabla 1). La identificación de los residuos no pertenecientes a las proteínas y que podrían interferir con su centro activo se realizó a través del programa UCSF Chimera versión 1.10.227 (RBVI, San Francisco, CA, EUA).⁽¹⁴⁾

Tabla 1- Estructura 3D de las proteínas NFAT y parámetros de la caja Grid

Proteínas NFAT	Estructura de la NFAT	PBD ID (Resolución)	Coordenadas			Tamaño (puntos)
			X	Y	Z	
5SVE		2,60 Å	9,569	-17,736	29,233	80x80x98,7
2P6B		2,30 Å	-19,765	21,336	-10,956	76x42x64

Protocolo de acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular se llevó a cabo con los programas AutoDock 4.2, Autodock Vina y AutoDockTools 1.5.6 (<http://autodock.scripps.edu>; Scripps Research, Center for Computational Structural Biology, CCSB, San Diego, CA, USA).⁽¹⁵⁾ La visualización 3D de las interacciones hidrofóbicas y por puentes de hidrógeno de los complejos, se efectuó con el programa UCSF Chimera versión 1.10.227.⁽¹⁴⁾ El programa AutoDock requiere de la realización de un pre-cálculo de los mapas *grid* ubicando el ligando alrededor de la región de interés (sitio activo). Se utilizó el algoritmo genético Lamarkiano para explorar la mejor conformación espacial de los ligandos, con 50 poses por cada ligando.

Los parámetros físico-químicos estimados en la investigación fueron ΔG y K_i (ecuaciones 1 y 2).

$$\Delta G = -RT \ln K_A \quad \text{Ecuación 1}$$

$$K_A = K_i^{-1} = \frac{[EI]}{[E][I]} \quad \text{Ecuación 2}$$

donde ΔG es la energía libre, K_i , la constante de disociación, $[E]$, $[I]$ y $[EI]$ son las concentraciones de proteína, inhibidor y el complejo proteína-inhibidor,

respectivamente; en tanto, $R = 8,314 \text{ J mol/K}$ es la constante universal de los gases, $T = 298 \text{ K}$ es la temperatura y K_A , la constante de afinidad.

Se estimó, además, la eficiencia del ligando (LE), al dividir ΔG entre el número de átomos (n) no hidrógenos presentes en la estructura (ecuación 3):

$$LE = \frac{\Delta G}{n} \quad \text{Ecuación 3}$$

Propiedad de similitud a un fármaco y estudios ADME/T

El estudio de las propiedades de similitud a un fármaco se realizó a través del cumplimiento de la regla de Lipinski, que define rangos de parámetros fisicoquímicos: peso molecular ≤ 500 , número de enlaces donores de hidrogeno ≤ 5 , número de enlaces aceptores de hidrogeno ≤ 10 y lipofilidad (Log P) ≤ 5 . Estos parámetros se verificaron a través de la metodología SwissADME (<http://www.swissadme.ch>).⁽¹⁶⁾ En la predicción de los parámetros farmacodinámicos (absorción, distribución, metabolismo, eliminación y toxicidad) se empleó el programa ADMETlab 2.0.⁽¹⁷⁾

Resultados

Parámetros físico-químicos del acoplamiento molecular

Los parámetros del acoplamiento molecular de las tres hidrofobinas de *Pleurotus ostreatus* y las proteínas NFATc1 y NFATc3 se muestran en la tabla 2. Los resultados revelaron que los ligandos presentaron una afinidad moderada teniendo en cuenta lo establecido en la literatura.⁽¹⁸⁾

Los intervalos de los valores de energía de unión estuvieron entre $-5,7$ y $-4,6$ kcal/mol y los de la constante de inhibición entre $0,42$ y $0,066$ mM. Por su parte, los valores de eficiencia de ligando de todas las hidrofobinas se encontraron en el rango de $-0,06$ y $-0,08$ kcal/mol/átomo. Se usó la posición de un péptido propio de

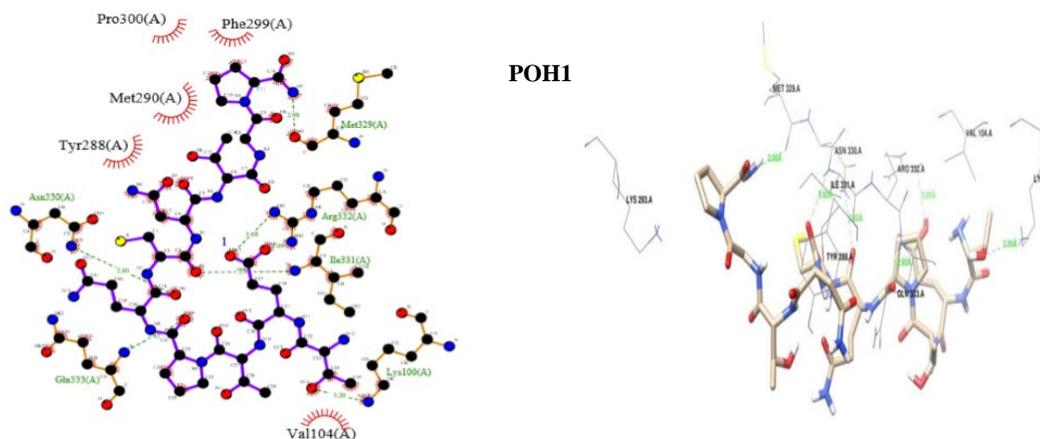
la proteína investigada para la localización de los péptidos estudiados, y evitar así la unión de la CN a la NFAT. Los mejores valores de acoplamiento se obtuvieron para la hidrofobina POH1 frente a 5SVE-NFATc3 y para POH3 con 2P6B-NFATc1.

Tabla 2- Predicción de la energía libre de unión, la constante de inhibición y la eficiencia de ligando en el acoplamiento de las hidrofobinas con las proteínas NFAT

Hidrofobinas	5SVE-NFATc3			2P6B-NFATc1		
	ΔG (kcal/mol)	Ki (mM)	LE (kcal/mol/átomo)	ΔG (kcal/mol)	Ki (mM)	LE (kcal/mol/átomo)
POH1	-5,7	0,066	-0,08	-4,6	0,42	-0,06
POH2	-4,7	0,36	-0,07	-5,4	0,11	-0,08
POH3	-5,2	0,15	-0,08	-5,6	0,078	-0,08

ΔG : energía libre, Ki: constante de disociación y LE: eficiencia de ligando

En las figuras 1 y 2 se presentan las interacciones 2D y 3D de los modelos de acoplamiento. Las hidrofobinas, presentaron 13 interacciones con la 5SVE por puentes de hidrógeno, mientras que con la 2P6B mostraron 18 interacciones, lo que evidencia la fortaleza de unión de las hidrofobinas con estas proteínas.



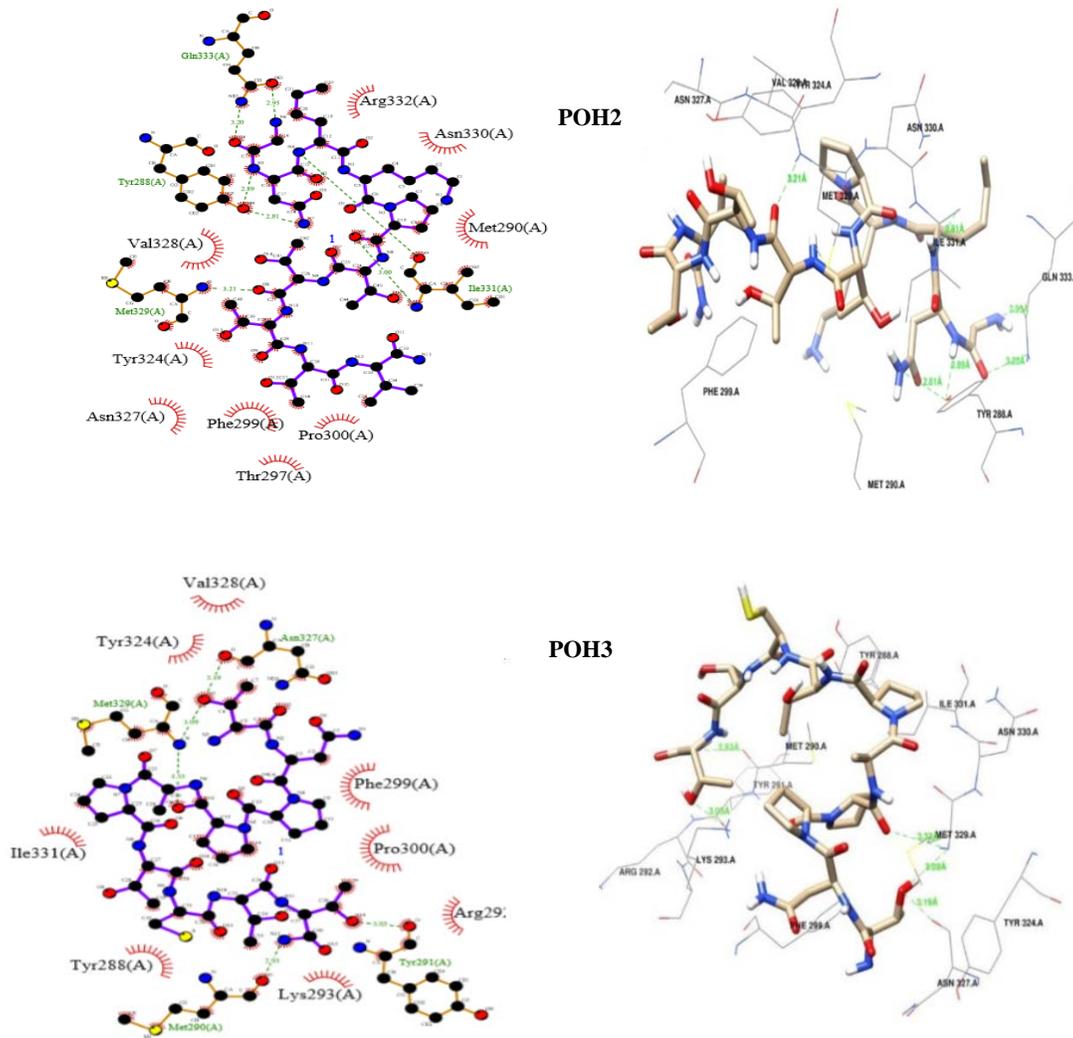


Fig. 1- Interacciones 2D (panel izquierdo) y 3D (panel derecho) de las hidrofobinas con la proteína 2P6B.

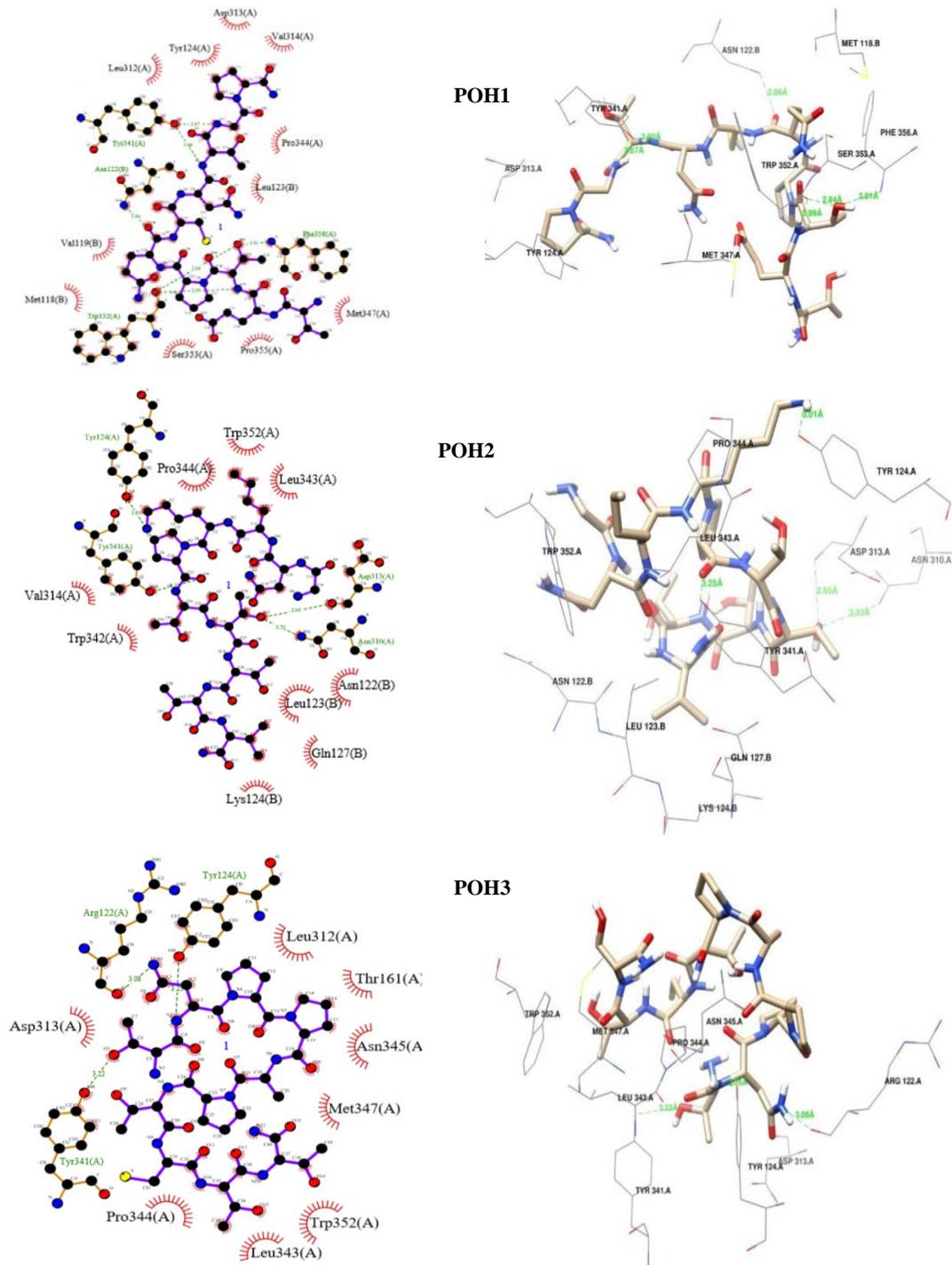


Fig. 2. Interacciones 2D (panel izquierdo) y 3D (panel derecho) de las hidrofobinas con la proteína 5SVE.

Propiedades de similitud a un fármaco y estudios ADME/T

En la evaluación de la regla de Lipinski para las hidrofobinas, los tres ligandos mostraron un peso molecular por encima de 500 g/mol. En cuanto al número de enlaces donores de hidrógenos, éste fue mayor de lo requerido para el parámetro (≤ 5), al igual que los valores de la superficie topológica polar (TPSA, \AA^2) entre 472.24 y 497.6 \AA^2 que resultaron superiores al recomendado de 140 \AA^2 .

Los resultados derivados del análisis de ADME/T de la presente investigación se muestran en la tabla 3. La evaluación permitió determinar las propiedades farmacodinámicas de las hidrofobinas seleccionadas al interactuar con las proteínas de estudio, las que evidenciaron en general, un comportamiento favorable.

Tabla 3- Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas (ADME/T) de las hidrofobinas de *Pleurotus ostreatus*

Parámetro	Propiedades	POH1	POH2	POH3
Absorción	Permeabilidad Caco-2	-6,922	-6,375	-6,569
	Inhibidor Pgp	Inhibidor	Inhibidor	Inhibidor
	Sustrato Pgp	Sustrato	Sustrato	No Sustrato
	Absorción intestinal humana (HIA)	Negativo	Negativo	Negativo
Distribución	Unión proteínas plasmáticas	42,28 %	41,45 %	43,36 %
	Barrera hematoencefálica (BBB)	Negativo	Negativo	Negativo
Metabolismo	Inhibidor CYP450 1A2	No inhibidor	No inhibidor	No inhibidor
	Sustrato CYP450 1A2	No sustrato	No sustrato	No sustrato
	Inhibidor CYP450 3A4	Inhibidor	Inhibidor	Inhibidor
	Sustrato CYP4503 A4	No sustrato	No sustrato	No sustrato
	Inhibidor CYP450 2C9	No inhibidor	No inhibidor	No inhibidor
	Sustrato CYP450 2C9	No sustrato	No sustrato	No sustrato
	Inhibidor CYP450 2C19	No inhibidor	No inhibidor	No inhibidor

	Sustrato CYP450 2C19	No sustrato	No sustrato	No sustrato
	Inhibidor CYP450 D6	No inhibidor	No inhibidor	No inhibidor
	Sustrato CYP450 D6	Sustrato	Sustrato	Sustrato
Excreción	T1/2 (h)	1,831	2,015	1,891
Toxicidad	Bloqueadores hERG	No bloqueadores	No bloqueadores	No bloqueadores
	Hepatotoxicidad humana	Negativo	Negativo	Negativo
	Mutagenicidad (AMES)	Negativo	Negativo	Negativo
	Sensibilización cutánea	No sensible	No sensible	No sensible
	Lesión hepática inducida por fármacos (DILI)	Negativo	Negativo	Negativo

Discusión

En la actualidad, la estrategia más importante de la industria farmacéutica se enfoca al diseño de fármacos basado en sus propiedades moleculares, que se sustentan en parámetros estructurales y de ADME/T, los cuales influyen en la biodisponibilidad de los fármacos.⁽¹⁹⁾

En investigaciones precedentes, se refirió la utilización del péptido CNI103 diseñado con estrategias de química computacional, y que inhibe la interacción CN/NFATc3. CNI103 resultó altamente efectivo en su acción inhibitoria, permeable a la célula y metabólicamente estable. Por ello, representa un promisorio tratamiento para el síndrome del distrés respiratorio y otras enfermedades inflamatorias.⁽²⁰⁾

En nuestro trabajo, las hidrofobinas de *P. ostreatus* presentaron una afinidad moderada por sus dianas NFAT y de manera general, no cumplieron con la regla de Lipinski. Ello sugiere su optimización y la utilización de grupos funcionales de dichas moléculas que pudieran tener acoplamientos más fuertes con las proteínas NFAT para el posterior diseño de fármacos. Los mejores valores de acoplamiento se obtuvieron para la hidrofobina POH1 frente a 5SVE-NFATc3 y para POH3 con

2P6B-NFATc1, lo cual podría estar relacionado con la naturaleza de las interacciones por puentes de H e hidrofóbicas que presentan.

Existen numerosos factores que influyen en la biodisponibilidad de los fármacos. Dentro de los fisicoquímicos figuran las propiedades intrínsecas del fármaco, como pKa, tamaño molecular, lipofilicidad y solubilidad; por su parte, los biológicos incluyen la permeabilidad de la membrana gástrica e intestinal, tiempo de tránsito, pH de la luz y tasa de flujo sanguíneo de la mucosa.⁽²¹⁾

Las tres hidrofobinas presentaron buenos valores de permeabilidad en células Caco 2 (>5,15). Esta línea es muy utilizada para estimar la absorción *in vitro* de fármacos, dada su similitud morfofuncional con los enterocitos humanos.⁽²²⁾ Sin embargo, los resultados de la absorción intestinal humana (HIA) fueron negativos. En este sentido, la información acerca de la absorción intestinal de péptidos es muy limitada, y algunos investigadores han desarrollado modelos para predecir la permeabilidad intestinal de péptidos basados en su secuencia aminoacídica.⁽²²⁾

Con respecto a la distribución, los porcentajes de unión a proteínas plasmáticas estuvieron por debajo del 90% en los tres ligandos. Es conocido que cuanto menos enlazado esté un fármaco a las proteínas plasmáticas, más fácilmente podrá atravesar las membranas celulares, lo que puede condicionar su distribución y eliminación.⁽²¹⁾

Todos los compuestos resultaron negativos para el transporte a través de la barrera hematoencefálica, atribuible al peso molecular de los péptidos (>400-600 Da).⁽²³⁾

Acerca del metabolismo, la mayoría de los compuestos evaluados resultaron no inhibidores y no sustratos de las isoformas de la citocromo CYP450; mientras que todos fueron inhibidores del citocromo CYP450 3A4 y sustratos de la enzima CYP450 D6. La CYP450 3A4 es una enzima involucrada en la oxidación de muchos fármacos, y su inhibición en muchos casos conduce a una acumulación no

deseada del agente terapéutico.⁽²⁴⁾ La CYP450 D6 es una enzima implicada en la biotransformación de los fármacos, y el ser sustratos de dicha enzima, les podría conferir la hidrosolubilidad suficiente para ser eliminados más fácilmente del organismo.⁽²⁴⁾ El tiempo de vida media estuvo por debajo de las tres horas, conforme con los parámetros establecidos en la literatura.⁽²¹⁾

Ninguno de los compuestos resultó bloqueador de canales hERG, y de igual manera, fueron negativos para la hepatotoxicidad, mutagenicidad y sensibilización cutánea. Se han descrito inhibidores de la calcineurina como la ciclosporina A (CsA) y FK506, efectivos para la prevención del rechazo al trasplante, pero no se han utilizado en otras enfermedades inflamatorias, al causar efectos adversos severos, particularmente nefrotoxicidad.⁽²⁰⁾

En estudios previos, la hidrofobina SC3 de *Schizophyllum commune* mostró efecto antitumoral en modelos murinos de sarcoma y melanoma, asociado a su actividad inmunomoduladora, sin presentar manifestaciones de toxicidad.⁽⁶⁾

Muchos agentes terapéuticos pueden no tener éxito en los ensayos clínicos debido a que sus parámetros estructurales y de ADME/T no son favorables. Los estudios *in silico* constituyen herramientas útiles para futuros ensayos *in vitro/in vivo*, así como para la realización de ensayos clínicos.

Las hidrofobinas de *Pleurotus ostreatus* presentaron afinidad y fortaleza de unión moderadas a sus dianas NFAT, así como resultados favorables en cuanto a los eventos ADME/T, lo que además de su potencial efecto terapéutico, evidencia su seguridad con vistas al desarrollo de formulaciones de origen natural para el tratamiento de afecciones inflamatorias del sistema inmune.

ALACI22 - 13th Latin American and Caribbean Immunology and 7th Cuban Immunology Society Congresses

Referencias bibliográficas

1. Ortega MA, García-Montero C, Fraile-Martínez O, Alvarez-Mon MA, Gómez-Lahoz AM, Lahera G. *et al.* Immune-mediated diseases from the point of view of psychoneuroimmunoendocrinology. *Biology (Basel)*. 2022;11(7):973. <https://10.3390/biology11070973>.
2. Leyane TS, Jere SW, Houreld NN. Oxidative stress in ageing and chronic degenerative pathologies: molecular mechanisms involved in counteracting oxidative stress and chronic inflammation. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13):7273. <https://10.3390/ijms23137273>.
3. Andey AK, Kumar S, Pandey AK, Reis F. Combating redox imbalance-associated complications with natural products. *Front Pharmacol*. 2021;12:802750. <https://10.3389/fphar.2021.802750>.
4. Morris HJ, Llauradó G, Beltrán Y, Lebeque Y, Bermúdez RC, García N, *et al.* The use of mushrooms in the development of functional foods, drugs and nutraceuticals. In: Ferreira I, Barros L, Morales P. Editors. *Wild Plants, Mushrooms and Nuts: Functional Food Properties and Applications*. Chichester: John Wiley & Sons; 2017. p 123-57.
5. Morris HJ, Llauradó G, Beltrán Y, Lebeque Y, Batista PL, Moukha S, *et al.* Immunomodulating and antitumor properties of *Pleurotus* sp. in Cuba. In: Sánchez JE, Mata G, Royse DJ. Editors. *Updates on Tropical Mushrooms. Basic and Applied Research*. San Cristóbal de Las Casas: El Colegio de la Frontera Sur; 2018. p. 159-80.
6. Akanbi MH, Post E, van Putten SM, de Vries L, Smisterova J, Meter-Arkerna AH, *et al.* The antitumor activity of hydrophobin SC3, a fungal protein. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;97(10):4385-92. <https://10.1007/s00253-012-4311-x>.
7. Kuvarina AE, Rogozhin EA, Skykonnikov MA, Timofeeva AV, Fedorova NV, Kokaeva LY, *et al.* Isolation and characterization of a novel hydrophobin, Sa-HFB1,

- with antifungal activity from an alkaliphic fungus, *Sodiomyces alkalinus*. J Fungi (Basel). 2022;8(7):659. <https://10.3390/jof8070659>.
8. Xu D, Wang Y, Keerio AA, Ma A. Identification of hydrophobin genes and their physiological functions related to growth and development in *Pleurotus ostreatus*. Microbiol Res. 2021 Jun;247:126723. <https://10.1016/j.micres.2021.126723>.
9. Gao R, Zhang Y, Zeng C, Li Y. The role of NFAT in the pathogenesis and targeted therapy of hematological malignances. Eur J Pharmacol. 2022;921:174889. <https://10.1016/j.ejphar.2022.174889>.
10. Kitamura N, Kaminuma O. Isoform-selective NFAT inhibitor: potential usefulness and development. Int J Mol Sci. 2021;22(5):2725. <https://10.3390/ijms22052725>.
11. Jakhar R, Dangi M, Khichi A, Chhillar AK. Relevance of molecular docking studies in drug designing. Curr Bioinformatics. 2020;15(4):270-8. Doi: <https://dx.doi.org/10.2174/1574893615666191219094216>
12. Vivek-Ananth RP, Ajaya KS, Kavyaa K, Karthikeyan M, Areejit S. MeFSAT: a curated natural product database specific to secondary metabolites of medicinal fungi. RSC Adv. 2021;11(5):2596-607. <https://10.1039/d0ra10322e>.
13. Evans DA. History of the Harvard ChemDraw project. Angew. Chem. Int. Ed. 2014; 53(42):11140-5. <https://10.1002/anie.201405820>.
14. Goddard TD, Huang CC, Meng EC, Pettersen EF, Couch GS, Morris JH, *et al*. UCSF ChimeraX: Meeting modern challenges in visualization and analysis. Protein Sci. 2018;27(1):14-25. <https://10.1002/pro.3235>.
15. Nguyen TH, Pham NH, Huy NT, Van Bay M. Autodock Vina adopts more accurate binding poses but Autodock4 forms better binding affinity. J Chem Inf Model. 2020;60(1):204-11. <https://10.1021/acs.jcim.9b00778>.

16. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* 2017;7:42717. <https://10.1038/srep42717>.
17. Dong J, Wang N, Yao Z, Zhang L, Cheng Y, Ouyang D, Lu A, Cao D. ADMETlab: a platform for systematic ADMET evaluation based on a comprehensively collected ADMET database. *J Cheminformatics* 2018;10(1):29. <https://10.1186/s13321-018-0283-x>.
18. Meneses L, Cuesta S. Determinación computacional de la afinidad y eficiencia de enlace de antiinflamatorios no esteroideos inhibidores de la ciclooxigenasa 2. *Rev Ecuat Med Cienc Biol.* 2015;36(1-2):17-25.
19. Beltrán Y, Rojas JA, Morales I, Morris HJ. Acoplamiento molecular de compuestos fenólicos de *Pleurotus ostreatus* con proteínas del balance redox. *Rev Cubana Quím.* 2019[citado 13/12/22];31(3):336-53. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-54212019000300336&lng=es&tlng=es.
20. Dougherty PG, Karapwapa M, Koly A, Lukowski JK, Qian Z, A peptidyl inhibitor that blocks calcineurin–NFAT interaction and prevents acute lung injury. *J Med Chem.* 2020;63(21):12853-72. <https://10.1021/acs.jmedchem.0c01236>.
21. Keutzer L, You H, Farnoud A, Nyberg J, Wicha SG, Maher-Edwards G, *et al.* Machine learning and pharmacometrics for prediction of pharmacokinetic data: differences, similarities and challenges illustrated with rifampicin. *Pharmaceutics.* 2022;14(8):1530. <https://10.3390/pharmaceutics14081530>.
22. Przybylla R, Mullins CS, Krohn M, Oswald S, Linnebacher M. Establishment and characterization of novel human intestinal *in vitro* models for absorption and first-pass metabolism studies. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17):9861. <https://10.3390/ijms23179861>.

23. Levin VA. Relationship of Octanol/Water Partition Coefficient and Molecular Weight to Rat Brain Capillary Permeability. J Med Chem.1980; 23(6): 682-4.
24. Rudik A, Dmitriev A, Lagunin A, Filimonov D, Poroikov V. Computational prediction of inhibitors and inducers of the major isoforms of cytochrome P450. Molecules 2022;27 (18):5875. <https://10.3390/molecules27185875>.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses

Contribución de autoría

Conceptualización: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Curación de datos: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Análisis formal: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Investigación: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Metodología: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Software: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Supervisión: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Redacción – borrador original: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses Mayo

Redacción – revisión y edición: Linet Vega Oliva, Yaixa Beltrán Delgado, Julio Alberto

Rojas Vargas, Humberto Morris Quevedo, Isabel Marten Powell, Marcos Meneses
Mayo