



***ANÁLISIS IN SILICO DE INTERACCIONES PROTEÍNA-LIGANDO EN CÁNCER DE
MAMA CON PRINCIPIOS ACTIVOS DE MALACHRA ALCEIFOLIA Y
HELIOTROPIUM INDICUM***

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, 25 ABRIL DE 2025**



***ANÁLISIS DEL POTENCIAL TERAPÉUTICO EN LAS RUTAS DEL CÁNCER DE
SENO: ACOPLAMIENTO DE PROTEÍNAS CON LOS PRINCIPIOS ACTIVOS DE
MALACHRA ALCEIFOLIA Y HELIOTROPIMUM INDICUM***

Astrid Lorena Fandiño Uchima

ASESORA

Ms, Johanna Marcela Moscoso Gama

Docente Facultad de Ciencias de la Salud

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, 25 ABRIL DE 2025**



***ANÁLISIS DEL POTENCIAL TERAPÉUTICO EN LAS RUTAS DEL CÁNCER DE
SENO: ACOPLAMIENTO DE PROTEÍNAS CON LOS PRINCIPIOS ACTIVOS DE
MALACHRA ALCEIFOLIA Y HELIOTROPIMUM INDICUM***

APROBADA _____

JURADOS _____

ASESORA:

Johanna Marcela Moscoso Gama, Msc.

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTÁ, 25 ABRIL DE 2025**

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de grado a cada uno de los integrantes de mi familia, mi madre, quién siempre me ha apoyado en el camino, mis hermanos, que han sido mis mejores amigos y consejeros de vida, quienes con amor y ternura han forjado mi personalidad, han sido luz en mi vida de muchas maneras, a mi pareja quién ha tenido la paciencia y el amor para acompañarme en mis momentos más difíciles, todos han aportado tanto a mi vida de muchas maneras inimaginables, los amo profundamente, pero en especial, quiero dedicar esta tesis a la memoria de mi padre, quien desde muy pequeña me inculcó el amor por la vida y el estudio, quién con mucho esfuerzo sacó adelante a nuestra familia y sentó las bases de quién soy hoy en día. Finalmente, el orgullo y el honor es mío por contar con personas tan excepcionalmente hermosas como lo son ustedes, siempre presentes de maneras inexplicables.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer profundamente a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, institución que me brindó la oportunidad de formarme académicamente y me permitió cumplir mis sueños profesionales. Agradezco también a todos los docentes que, a lo largo de este proceso, me guiaron con su conocimiento, exigencia y compromiso.

De manera especial, extiendo mi gratitud a la profesora Johanna Moscoso y al profesor Andrés González, quienes, con su acompañamiento, dedicación y apoyo constante, fueron piezas fundamentales en la construcción y culminación de este proyecto. Sus enseñanzas, orientaciones y palabras de aliento fueron clave en mi desarrollo académico y personal.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVOS	9
1. ANTECEDENTES	12
2. MARCO REFERENCIAL.....	14
2.1 Cáncer y sus generalidades	14
2.1.2 Cáncer de mama a nivel mundial y nacional.....	15
2.1.3 Etiología Del Cáncer De Seno.....	15
2.2 Genética Del Cáncer	17
2.3 Tratamientos Actuales	18
2.4 Alternativas Etnobotánicas	20
2.4.2 <i>Heliotropium indicum</i>	21
2.4.3 Principios Activos	21
2.4.3.1 Principios activos de <i>Malachra alceifolia</i> y <i>Heliotropium indicum</i>	21
3.1 Universo, Población Y Muestra.....	25
3.2 Hipótesis, Variables, Indicadores.....	26
3.2.1 Hipótesis.....	26
3.2.2 Variables del estudio.....	26
3.3 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS	27
3.3.1 Bases de datos empleadas para la búsqueda de estructuras tridimensionales de macromoléculas proteicas asociadas con el cáncer de mama.....	27
3.3.2 Software empleados para la preparación de las estructuras y análisis moleculares.....	28
3.3.3 Análisis de toxicidad mediante uso de herramientas bioinformáticas.....	28
4. RESULTADOS	29
4.1. Estructuras tridimensionales de las proteínas relacionadas en el cáncer de mama.....	29
4.1.1 Principios activos consultados en PubChem	30
4.1.3. Resultados de los acoplamientos múltiples entre proteínas blanco y principios activos de <i>Heliotropium indicum</i>	33
4.1.4 Resultados de los acoplamientos múltiples entre proteínas blanco y principios activos de <i>Malachra alceifolia</i>	34
4.2 Acoplamientos Dirigidos	35
4.2.1 Interacciones moleculares de proteínas blanco y los principios activos seleccionados	36
4.2.1.1 Interacciones entre P53 y principios activos de <i>H. indicum</i>	37
4.2.1.2 Interacciones entre P53 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	38
4.2.1.3 Interacciones entre Caspasa 3 y principios activos de <i>H. indicum</i>	39
4.2.1.4 Interacciones entre Caspasa 3 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	40
4.2.1.5 Interacciones entre FAS y principios activos de <i>H. indicum</i>	42
4.2.1.6 Interacciones entre FAS y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	43
4.2.1.7 Interacciones entre BID y principios activos de <i>H. indicum</i>	44
4.2.1.8 Interacciones entre BID y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	45
4.2.1.9 Interacciones entre BCL-2 y principios activos de <i>H. indicum</i>	46
4.2.1.10 Interacciones entre BCL-2 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	47
4.2.1.11 Interacciones entre RB1 y principios activos de <i>H. indicum</i>	48
4.2.1.12 Interacciones entre RB1 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	49

4.2.1.13 Interacciones entre BCL-XL y principios activos de <i>H. indicum</i>	50
4.2.1.14 Interacciones entre BCL-XL y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	51
4.2.1.15 Interacciones entre IL-6 y principios activos de <i>H. indicum</i>	53
4.2.1.16 Interacciones entre IL-6 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	54
4.2.1.17 Interacciones entre IL-1B y principios activos de <i>H. indicum</i>	55
4.2.1.18 Interacciones entre IL-1B y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	56
4.2.1.19 Interacciones entre IL10 y principios activos de <i>H. indicum</i>	57
4.2.1.20 Interacciones entre IL10 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	58
4.2.1.21 Interacciones entre y principios activos de <i>H. indicum</i>	59
4.2.1.23 Interacciones entre HSP90 y principios activos de <i>H. indicum</i>	60
4.2.1.24 Interacciones entre HSP90 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	61
4.2.1.25 Interacciones entre PGK1 y principios activos de <i>H. indicum</i>	63
4.2.1.26 Interacciones entre PGK1 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	64
4.2.1.27 Interacciones entre TGF-β1 y principios activos de <i>H. indicum</i>	65
4.2.1.26 Interacciones entre TGF-β1 y principios activos de <i>M. alceifolia</i>	66
4.3 Análisis de interacciones proteína-ligando para cada una de las proteínas.	67
4.4 Evaluación de la toxicidad biológica de los principales compuestos activos mediante ADMET	70
5. DISCUSIÓN	74
6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	82
7. CONCLUSIONES.....	83
8. Referencias	83
9. ANEXOS	89

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Lupeol.....	37
Figura 2. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Stigmasterol.	38
Figura 3. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Quercetina.	39
Figura 4. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Taraxerol.	39
Figura 5. Casp-3 y Lupeol <i>H. indicum</i>	40
Figura 6. Casp-3 y Flavona <i>M. alceifolia</i>	41
Figura 7. Casp3 y Quercetina <i>M. alceifolia</i>	41
Figura 8. Casp-3 y Taraxerol <i>M. alceifolia</i>	42
Figura 9. FAS y Stigmasterol de <i>H. indicum</i>	43
Figura 10. FAS y Lupeol de <i>H. indicum</i>	43
Figura 11. BID y Lupeol de <i>H. indicum</i>	45
Figura 12. BID y Flavona de <i>M. alceifolia</i>	46
Figura 13 BID y Quercetina de <i>M. alceifolia</i>	46
Figura 14. BID y Taraxerol de <i>M. alceifolia</i>	46
Figura 15. BCL-2 y Lupeol <i>H. indicum</i>	47
Figura 16. BCL-2 y Taraxerol <i>M. alceifolia</i>	48
Figura 17. RB1 y Stigmasterol de <i>H. indicum</i>	49
Figura 18. RB1 y Lupeol de <i>H. indicum</i>	49
Figura 19. RB1 y Flavona de <i>M. alceifolia</i>	50
Figura 20. RB1 y Taraxerol de <i>M. alceifolia</i>	50
Figura 21. BCL-XL y Lupeol <i>H. indicum</i>	51
Figura 22. BCL-XL y Quercetina <i>M. alceifolia</i>	52
Figura 23. BCL-XL y Flavona <i>M. alceifolia</i>	52

Figura 24. BCL-XL y Taraxerol <i>M. alceifolia</i>	53
Figura 25. IL-6 y Campesterol de <i>H. indicum</i>	53
Figura 26. IL-6 y Lupeol de <i>H. indicum</i>	54
Figura 27. IL-6 y Quercetina de <i>M. alceifolia</i>	54
Figura 28. IL-6 y Taraxerol de <i>M. alceifolia</i>	55
Figura 29. IL1B y stigmasterol <i>H. indicum</i>	56
Figura 30. IL1B y lupeol <i>H. indicum</i>	56
Figura 31. IL1B y Taraxerol <i>M. alceifolia</i>	57
Figura 32. IL1B y Quercetina <i>M. alceifolia</i>	57
Figura 33. IL10 y Campesterol <i>H. indicum</i>	57
Figura 34. IL10 y Stigmasterol <i>H. indicum</i>	58
Figura 35. IL10 y Lupeol <i>H. indicum</i>	58
Figura 36. IL10 y Quercetina <i>M. alceifolia</i>	58
Figura 37. IFNGR1 y Lupeol <i>H. indicum</i>	63
Figura 38. IFNGR1 y Stigmasterol <i>H. indicum</i>	64
Figura 39. IFNGR1 y Campesterol <i>H. indicum</i>	64
Figura 40. IFNGR1 y Quercetina <i>M. alceifolia</i>	65
Figura 41. HSP90 y Campesterol de <i>H. indicum</i>	59
Figura 42. HSP90 y Lupeol de <i>H. indicum</i>	59
Figura 43. HSP90 y Quercetina de <i>M. alceifolia</i>	60
Figura 44. HSP90 y Quercetina de <i>M. alceifolia</i>	60
Figura 45. PGFK-1 y Lupeol <i>H. indicum</i>	61
Figura 46. PGFK-1 y Stigmasterol <i>H. indicum</i>	62
Figura 47. PGFK-1 y Campesterol <i>H. indicum</i>	62
Figura 48. PGFK-1 y Quercetina <i>M. alceifolia</i>	63
FIGURA 49. TGF- β 1 y lupeol <i>H. indicum</i>	63
Figura 50. TGF- β 1 y Stigmasterol <i>H. indicum</i>	64
Figura 51. TGF- β 1 y Flavona <i>M. alceifolia</i>	64
Figura 52. TGF- β 1 y Taraxerol <i>M. alceifolia</i>	65

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Principales factores de riesgo asociados al desarrollo de cáncer de mama	16
Tabla 2 Signos y síntomas frecuentes del cáncer de mama	16
Tabla 3. Clasificación de Proteínas Seleccionadas	18
Tabla 4 Principales tratamientos aprobados para el cáncer de mama según subtipo molecular	20
Tabla 5. Principios activos identificados en <i>M. alceifolia</i> y sus propiedades biológicas.	23
Tabla 6. Principios activos identificados en <i>H. indicum</i> y sus propiedades biológicas.	24
Tabla 7. Proteínas seleccionadas, asociadas al cáncer de mama	25
Tabla 8. Resultados de la búsqueda de estructuras 3D.	30
Tabla 9. Principios activos relevantes de <i>M. alceifolia</i>	32
Tabla 10. Principios activos relevantes de <i>H. indicum</i>	32
Tabla 11. Resultados Acoplamiento molecular múltiple entre los principios activos de <i>H. indicum</i> y las proteínas asociadas.....	34
Tabla 12. Resultados del multiscreening realizado en PyRx. (45) para los principios activos de <i>M. alceifolia</i>	35
Tabla 13. Interpretación de los resultados obtenidos en Autodock Vina.	69
Tabla 14. Resultados del análisis en ADMET para Lupeol	71
Tabla 15. Resultados del análisis en ADMET para Quercetina	72
Tabla 16. Resultados del análisis en ADMET para Taraxerol	72
Tabla 17. Resultados del análisis en ADMET para Flavona	73
Tabla 18. Resultados del análisis en ADMET para Chalinesterol.	74
Tabla 19. Consulta de principios activos en PubChem para <i>H. indicum</i>	89
Tabla 20. Consulta de principios activos en PubChem para <i>M. alceifolia</i>	90
Tabla 21. Resultados de los acoplamientos dirigidos a las catorce proteínas, cada uno con los cuatro ligandos seleccionados por el multiscreening de PyRx.	92



Análisis del potencial terapéutico en las rutas del cáncer de mama: Acoplamiento de proteínas con los principios activos de *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*.

RESUMEN

El cáncer de mama continúa siendo una de las principales causas de mortalidad femenina a nivel mundial, lo que ha incentivado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas más efectivas y con menores efectos adversos. Este estudio tuvo como objetivo evaluar *in silico* el potencial terapéutico de compuestos fitoquímicos presentes en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*, mediante acoplamiento molecular con proteínas clave implicadas en el cáncer de mama. Se seleccionaron catorce proteínas blanco asociadas a apoptosis, proliferación celular, inflamación y metabolismo, cuyas estructuras tridimensionales fueron obtenidas de bases de datos como UniProt, PDB y AlphaFold. Simultáneamente, se consultaron los principios activos en PubChem y se prepararon usando Avogadro para realizar un análisis de docking múltiple en PyRx. Los resultados mostraron interacciones relevantes entre los compuestos quercetina, flavona y taraxerol de *M. alceifolia* y Stigmasterol, Lupeol y Campesterol de *H. indicum*, con proteínas relacionadas con la evolución en el cáncer de mama tales como: P53, HSP90, IL-6, RB1, IL10, IL1B, IFNGR1, BCL-2, BCL-XL, CASP3, BID, FAS, PGK1, TGFB1. Además, los análisis ADMET revelaron perfiles aceptables de toxicidad para varios compuestos. Estos hallazgos sugieren que los metabolitos secundarios de *M. alceifolia* y *H. indicum* podrían tener actividad antitumoral y justificar estudios posteriores en dinámica molecular, validación *in vitro* e *in vivo*. El uso de herramientas bioinformáticas permitió establecer un enfoque preliminar que aporta a la investigación de nuevas terapias complementarias en cáncer de mama.

Palabras clave: cáncer de mama, docking molecular, plantas medicinales, *Malachra alceifolia*, *Heliotropium indicum*, bioinformática, apoptosis.

Astrid Lorena Fandiño Uchima

Johanna Marcela Moscoso Gama – Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Abril 25 de 2025

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una enfermedad que afecta a millones de mujeres en todo el mundo. A pesar de los avances en su tratamiento, continúa siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad femenina, especialmente en países en desarrollo (1). En este contexto, la búsqueda de nuevos enfoques terapéuticos se ha convertido en una prioridad dentro de la investigación biomédica. En este contexto, la búsqueda de nuevos enfoques terapéuticos se ha convertido en una prioridad de investigación (2). Una de las problemáticas más relevantes dentro del cáncer de mama es la heterogeneidad molecular de sus subtipos. En particular, el cáncer de mama triple negativo (TNBC) representa aproximadamente el 15-20 % de los casos, y se caracteriza por la ausencia de expresión de los receptores de estrógeno (ER), progesterona (PR) y HER2. Esto limita el uso de terapias dirigidas convencionales, lo que se traduce en un pronóstico más desfavorable, mayor agresividad tumoral y mayor probabilidad de recaída. Además, incluso en subtipos tratables, la aparición de resistencia a terapias hormonales, quimioterapéuticas o anti-HER2 representa un reto clínico considerable. Por tanto, se hace urgente la identificación de nuevas dianas terapéuticas que permitan desarrollar tratamientos más efectivos y personalizados.

Una nueva estrategia en la investigación del cáncer de mama abarca el estudio de los genes implicados en la proliferación tumoral. Se ha observado que ciertos genes desempeñan un papel crucial en el desarrollo y la evolución de este tipo de cáncer, lo que sugiere que podrían ser objetivos terapéuticos promisorios (3).

Además, en la búsqueda de agentes terapéuticos alternativos y efectivos, la naturaleza ha demostrado ser una fuente invaluable de compuestos bioactivos. En particular, las plantas han sido utilizadas en la medicina tradicional para tratar una variedad de enfermedades, tales como diabetes, infecciones en la piel, picaduras por animales venenosos, y algunos han demostrado actividad antiparasitaria, vírica y bacteriana (4), así como para ciertos tipos de cáncer. Particularmente, *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum* han sido objeto de creciente interés científico, debido a los múltiples reportes en la literatura que describen su actividad biológica relevante frente a diversas dianas terapéuticas (5) (6).

El presente estudio se centra en la investigación de nuevos enfoques terapéuticos para el cáncer de mama, aplicando el uso de herramientas bioinformáticas. En particular, se propone

identificar los genes clave implicados en el cáncer de mama y analizar sus productos proteicos, con el fin de evaluar la interacción entre estas proteínas y los principios activos presentes en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*. El uso de herramientas *in silico*, como el modelamiento y el acoplamiento molecular, representa una alternativa inicial eficiente y de bajo costo en la investigación de fármacos, permitiendo filtrar compuestos con potencial terapéutico antes de su validación experimental.

Se espera que los resultados de este estudio contribuyan a la identificación de nuevas estrategias terapéuticas para el cáncer de mama, ofreciendo así una esperanza renovada para el tratamiento de esta enfermedad devastadora.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar *in silico* las interacciones proteína-ligando entre metabolitos secundarios de *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*, y proteínas clave asociadas al cáncer de mama, mediante herramientas de acoplamiento molecular, con enfoque en el potencial terapéutico de dichos compuestos.

Objetivos Específicos

- Seleccionar proteínas diana relevantes en cáncer de mama a partir de bases de datos, priorizando aquellas involucradas en apoptosis, inflamación, proliferación y metabolismo tumoral.
- Identificar los principios activos presentes en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum* mediante recopilación de datos en plataformas químicas como PubChem y literatura científica.
- Realizar estudios de acoplamiento molecular entre los principios activos seleccionados y las proteínas diana, mediante herramientas bioinformáticas como PyRx y AutoDock Vina, considerando sus afinidades y modos de unión.
- Analizar las propiedades ADMET de los cuatro compuestos con mejor afinidad obtenida en los estudios de acoplamiento molecular, en función de su posible aplicación antitumoral.

1. ANTECEDENTES

El estudio de compuestos de origen vegetal ha cobrado gran relevancia en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas frente al cáncer y otras patologías, debido a la diversidad en los compuestos químicos y su potencial farmacológico. En este contexto, especies como *Heliotropium indicum* y *Malachra alceifolia* han sido objeto de diversos estudios por su uso tradicional en el tratamiento de múltiples afecciones y por la presencia de metabolitos secundarios con propiedades relevantes. Por medio de ensayos *in vitro*, modelos animales y algunas aproximaciones clínicas, se ha documentado su actividad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria y citotóxica. A continuación, se presenta una recopilación cronológica de investigaciones realizadas sobre estas plantas (1).

En la revisión expuesta por Dash *et al.* (2), se resalta que *Heliotropium indicum* es una planta rica en alcaloides pirrolizidínicos, especialmente helindicina y licopsamina, los cuales han mostrado una actividad antioxidante moderada y efectos anticancerígenos en modelos tumorales experimentales. Además, uno de sus derivados, el óxido de indicina, alcanzó la fase 1 de ensayos clínicos en pacientes con cáncer avanzado; sin embargo, sus efectos hepatotóxicos limitaron su uso terapéutico. Por esta razón, se desaconseja el uso interno prolongado de especies del género *Heliotropium* debido a su toxicidad potencial (2).

Posteriormente, Fayed *et al.* (3), destaca el potencial farmacológico del género *Heliotropium*, resaltando la presencia de diversos metabolitos como alcaloides, flavonoides, terpenoides, naftoquinonas y compuestos fenólicos. El autor enfatiza que *H. indicum* ha sido utilizada tradicionalmente para tratar fiebre, dolor estomacal, enfermedades de la piel, trastornos menstruales y picaduras de insectos. Su extracto etanólico mostró eficacia analgésica en modelos animales, inhibiendo la nocicepción inducida por formalina de forma dependiente de la dosis (3).

Akbar *et al.* (4), realizaron un estudio sobre *Heliotropium indicum* utilizando extractos obtenidos con diferentes solventes, evidenciando efectos antimicrobianos y antidiabéticos. Además, se destacó el extracto acetato de etilo por su alta concentración de alcaloides, saponinas, flavonoides y otros compuestos, mostrando actividad contra bacterias como *Bacillus cereus*, *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, así como un potencial hipoglucemiante (4).

En la revisión de Sarkar *et al.* (5), se reporta que el extracto metanólico de hojas y tallos de *H. indicum* presentó actividad citotóxica significativa contra células HeLa, con porcentajes de inhibición de 64,5 % y 49,7 % respectivamente tras 48 h de tratamiento. Asimismo, se identificó una fuerte actividad citotóxica contra nauplios de Artemia, con un valor de IC50 de $2,57 \pm 0,22$ $\mu\text{g/mL}$, comparable al sulfato de vincristina como control positivo. Además, se destaca que el extracto etanólico mostró efectos antiproliferativos en la línea celular SKBR3 de cáncer de mama (5).

En cuanto a *Malachra alceifolia*, Bossa (6), se enfocó en caracterizar su composición química, resaltando la importancia de los fitoconstituyentes como posibles agentes terapéuticos. El autor sugiere que estos compuestos podrían ser útiles en el desarrollo de fármacos eficaces a bajas dosis con amplio espectro terapéutico (6).

Por otro lado, Cervantes (7), reportó que comunidades de Bolívar identifican a *M. alceifolia* como planta medicinal para tratar inflamaciones, heridas y parásitos intestinales. Se documentó una fracción activa rica en terpenos (MA-24F) con efecto antiprotozoario *in vitro* frente a *Leishmania mexicana*. Además, se exploraron posibles interacciones con proteínas blanco mediante herramientas *in silico*, lo cual respalda el potencial farmacológico de esta planta (7).

Los antecedentes revisados evidencian que tanto *Heliotropium indicum* como *Malachra alceifolia* poseen un perfil fitoquímico prometedor, con principios activos que han demostrado actividades biológicas destacables, especialmente antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas y citotóxicas. En el caso de *H. indicum*, existen reportes de ensayos preclínicos y clínicos que respaldan su potencial antitumoral, aunque limitados por su toxicidad. Por otro lado, *M. alceifolia* ha mostrado actividad terapéutica en estudios etnofarmacológicos y de laboratorio, lo que justifica su exploración científica como posibles alternativas para evaluación terapéutica. Estas evidencias sustentan lo conveniente que puede ser investigar sus interacciones moleculares con proteínas clave del cáncer de mama mediante enfoques *in silico*.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1 Cáncer y sus generalidades

El cáncer es una enfermedad que aqueja a millones de personas a nivel mundial, el cáncer como tal se produce en el momento en que algunas células del cuerpo pierden el control en el proceso de multiplicación celular y llevan un proceso de génesis celular totalmente diferente al que se produce en el cuerpo o en la zona donde se ubican las células atípicas, las cuales pueden formar tumores, que se pueden clasificar en benignos o malignos, los tumores malignos presentan la características de ser invasivos tanto a tejidos cercanos como lejanos por medio de diseminación proceso denominado metástasis (8).

Diferencias entre células normales y células cancerosas dadas por el instituto nacional de cáncer.

- Las células cancerosas se caracterizan por su capacidad para formarse sin señales externas, ignorar las instrucciones de detener su crecimiento o autodestruirse (apoptosis), invadir tejidos cercanos y diseminarse por el cuerpo.
- A diferencia de las células normales, las cancerosas continúan multiplicándose sin control, incluso en presencia de otras células, y pueden moverse a otras partes del cuerpo.
- Estimulan el crecimiento de vasos sanguíneos hacia los tumores para recibir oxígeno y nutrientes, mientras evaden y engañan al sistema inmunitario para evitar ser destruidas.
- Además, presentan alteraciones cromosómicas significativas y utilizan nutrientes y energía de manera diferente a las células normales, lo que les permite proliferar rápidamente (9).

Existen más de un centenar de variedades de cáncer, comúnmente nombradas según el órgano o tejido de origen. Así, el cáncer que comienza en los pulmones se conoce como cáncer de pulmón, mientras que aquel que se desarrolla en el cerebro se denomina cáncer de encéfalo y al cáncer que se desarrolla en las células del tejido mamario se le conoce como cáncer de mama. En ocasiones, se clasifican según el tipo celular específico involucrado, tal como las células epiteliales o escamosas (9).

2.1.2 Cáncer de mama a nivel mundial y nacional

En 2022, se diagnosticaron aproximadamente 2,3 millones de casos de cáncer de mama en todo el mundo, lo que lo convierte en el tipo de cáncer más común entre las mujeres en 157 de 185 países. Ese mismo año, se registraron alrededor de 670.000 muertes por esta enfermedad (10).

Con relación al cáncer de mama, en Colombia al 31 de agosto de 2023, se han informado, 107.181 casos prevalentes de cáncer de mama en mujeres y siendo este cáncer es el más frecuente entre los 11 tipos cáncer priorizados en el sistema de salud. Durante el periodo comprendido entre el 2 de enero de 2022 y el 1º de enero de 2023, se reportaron 9.716 casos nuevos, de los cuales, el 91,67% correspondieron a casos invasivos. La mayoría se diagnosticaron en estadio II (37,51%). En cuanto a la distribución de los casos nuevos reportados (CNR) en poblaciones especiales, el 15,55% ocurrieron en adultos mayores y el 1,32% en la población de raza negra o indígena (11).

La mayoría de los casos de cáncer de mama son esporádicos; sin embargo, se estima que aproximadamente entre el 5% y el 10% tienen una predisposición genética relacionada, entre otros, con antecedentes familiares de cáncer en parientes de primer grado o con la condición de portador de una mutación genética (12). De estos, el 40% se deben a mutaciones en cualquiera de los dos genes supresores de tumores BRCA (gen BReast CAncer) 1 y 2, que se localizan en los cromosomas 17q21 y 13q12.3, respectivamente, sin embargo, los genes BCRA 1 y BCRA 2 no son los únicos relacionados con el cáncer de seno, algunas sobre expresiones o inhibiciones de otro tipo de genes que participan en la apoptosis celular pueden permitir determinar la agresividad del cáncer y así mismo definir un tratamiento específico (13).

2.1.3 Etiología del cáncer de mama

El cáncer de mama es una enfermedad de origen multifactorial, considerada actualmente la neoplasia más frecuente en mujeres a nivel global. Su aparición no puede atribuirse a una única causa, sino que responde a la interacción compleja entre factores genéticos, hormonales, ambientales y del estilo de vida. Aunque las mutaciones heredadas especialmente en los genes BRCA1 y BRCA2 representan una fracción de los casos (~5–

10%), la mayoría son esporádicos, es decir, no tienen un componente hereditario identificable, y se asocian a factores acumulativos de riesgo.

En la Tabla 1 se resumen los principales factores reconocidos que aumentan la probabilidad de desarrollar cáncer de mama, agrupados por categoría etiológica:

Categoría	Factor de riesgo
Generales	Edad avanzada Ser mujer Exposición a radiación ionizante Residencia en zonas urbanas/industrializadas
Genéticos	Mutaciones germinales en <i>BRCA1</i> , <i>BRCA2</i> , <i>TP53</i> , <i>PTEN</i> , entre otros Antecedentes familiares de cáncer de mama u ovario
Hormonales	Menarquia temprana Menopausia tardía Embarazo tardío o nuliparidad Lactancia ausente o limitada Uso prolongado de anticonceptivos orales Terapias hormonales posmenopáusicas Ooforectomía temprana
Condiciones mamarias	Alta densidad mamaria (mamografía) Enfermedades proliferativas benignas
Estilo de vida	Sedentarismo Obesidad (postmenopáusica) Consumo de alcohol y tabaco Exposición a disruptores endocrinos (ej. bisfenol A, ftalatos)

Tabla 1 Principales factores de riesgo asociados al desarrollo de cáncer de mama

Fuente: Sociedad Americana del Cáncer (ACS), 2023; OMS, 2022.

Además del conocimiento de los factores predisponentes, la detección precoz resulta esencial para mejorar el pronóstico clínico. A continuación, se presentan los signos y síntomas más relevantes que pueden orientar al diagnóstico temprano:

Estadio	Signos y síntomas
Iniciales	Masa o bulto en mama o axila (duro, irregular, generalmente indoloro) Engrosamiento o retracción cutánea Alteraciones en el pezón (inversión, secreción espontánea) Cambios en la forma, tamaño o textura de la mama
Avanzados	Dolor óseo Pérdida de peso inexplicable Úlceras cutáneas o nódulos satélite Edema axilar (linfadenopatía) Fijación tumoral a piel o pared torácica

Tabla 2 Signos y síntomas frecuentes del cáncer de mama

Adaptado de: American Cancer Society, 2023.

2.2 Genética Del Cáncer

El cáncer de mama presenta una etiología multifactorial en la que convergen alteraciones genéticas, hormonales, inmunológicas y metabólicas. Desde el punto de vista molecular, esta neoplasia no solo se clasifica por estadios clínicos, sino también por subtipos moleculares, determinados por la expresión de tres receptores principales: receptores hormonales (ER y PR) y HER2 (receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano).

Con base en estos marcadores, se reconocen los siguientes subtipos clínicos:

- Luminal A (ER+/PR+, HER2-): pronóstico favorable.
- Luminal B (ER+/PR+, HER2+): crecimiento más agresivo.
- HER2-enriquecido (ER-, PR-, HER2+): altamente proliferativo.
- Triple negativo (ER-, PR-, HER2-, TNBC): mal pronóstico, escasas opciones terapéuticas.

Pese a las terapias dirigidas, muchos tumores presentan resistencia farmacológica, recaídas y diseminación metastásica, lo que plantea la necesidad de explorar nuevas estrategias terapéuticas, como las dirigidas a genes que regulan la apoptosis, la inflamación, el metabolismo tumoral y la homeostasis proteica- (14).

El cáncer de mama es una enfermedad caracterizada por una compleja red de alteraciones genéticas que afectan vías regulatorias fundamentales, como la apoptosis, el control del ciclo celular, la respuesta inflamatoria, el metabolismo energético y la homeostasis proteica. Estas disrupciones no solo favorecen la proliferación descontrolada y la evasión de la muerte celular, sino que también contribuyen a la progresión tumoral, la metástasis y la resistencia a tratamientos convencionales. En consecuencia, numerosos genes y proteínas han sido identificados como actores clave en estos procesos, lo que ha permitido su categorización funcional y su estudio como posibles blancos terapéuticos. En la tabla 3 se describen algunos de los principales genes implicados en la biología molecular del cáncer de mama, su función y su rol en el desarrollo y mantenimiento de la enfermedad.

Gen / Proteína	Función principal	Rol en cáncer de mama	Clasificación funcional
TP53	Supresor tumoral, regula ciclo celular y apoptosis	Inactivación favorece progresión tumoral, presente en ~35% de casos (15)	Proapoptótica
CASP3	Caspasa efectora en apoptosis	Baja expresión asociada con resistencia a terapia (16)	Proapoptótica
FAS	Receptor de muerte celular, activa vía extrínseca	Pérdida funcional favorece escape apoptótico (17)	Proapoptótica
BID	Induce vía mitocondrial de apoptosis, activa BAX/BAK	Fosforilación impide anoikis; contribuye a metástasis (18)	Proapoptótica
BCL-2	Inhibe liberación de citocromo c; bloquea apoptosis	Sobreexpresada en tumores ER+; pronóstico variable (19)	Antiapoptótica
BCL-XL	Isoforma antiapoptótica de BCL2	Favorece quimiorresistencia, alta en subtipos agresivos (20)	Antiapoptótica
RB1	Regula punto G1/S, control del ciclo celular	Pérdida o inactivación ligada a agresividad tumoral (21)	Regulador ciclo celular
IL-6	Citocina proinflamatoria, activa JAK/STAT3	Estimula proliferación, EMT, angiogénesis, metástasis (22)	Proinflamatoria
IL-1β	Activa NF- κ B; mediador inflamatorio	Alta en tumores primarios agresivos; induce metástasis ósea (23)	Proinflamatoria
IL-10	Citocina inmunorreguladora; regula T y NK	Dual: antitumoral o inmunosupresora según contexto (24)	Antiinflamatoria / Dual
IFN-γ	Citocina inmunomoduladora; activa IRF1	Dual: puede inducir apoptosis o tolerancia (25)	Inmunorreguladora / Dual
TGF-β	Regula crecimiento y diferenciación celular	Supresor inicial, promotor en estadios avanzados (26)	Dual (contexto-dependiente)
PGK1	Enzima glucolítica, promueve angiogénesis	Asociada con metabolismo tumoral (efecto Warburg) (27)	Metabólica / Pro-tumoral
HSP90	Chaperona; estabiliza oncoproteínas inestables	Sobreexpresada en tumores; blanco terapéutico (28)	Estabilizadora de oncoproteínas

Tabla 3. Clasificación de Proteínas Seleccionadas.

2.3 Tratamientos Actuales

El tratamiento del cáncer de mama ha evolucionado significativamente en las últimas décadas, adoptando un enfoque integral y personalizado que depende del subtipo molecular del tumor, el estadio clínico y características individuales como la edad y la condición hormonal de la paciente. Las estrategias terapéuticas incluyen cirugía, quimioterapia, radioterapia, terapias

endocrinas y biológicas, muchas de las cuales se combinan para maximizar la eficacia y reducir el riesgo de recaída (29).

En este contexto, la quimioterapia citotóxica continúa siendo uno de los pilares terapéuticos, especialmente en estadios localmente avanzados o subtipos agresivos. Dentro de esta categoría, la doxorubicina un antibiótico antraciclínico que interfiere con la topoisomerasa II e intercalación del ADN ha demostrado una alta efectividad en esquemas tanto neoadyuvantes como adyuvantes. Su uso se ha consolidado en combinaciones estándar como AC-T (doxorubicina + ciclofosfamida seguido de taxanos), aunque su toxicidad cardiaca ha impulsado el desarrollo de formulaciones liposomales y combinaciones más específicas (30).

En pacientes con tumores hormonodependientes (ER+/PR+), la terapia endocrina representa la primera línea de tratamiento. Fármacos como tamoxifeno y los inhibidores de la aromatasa (anastrozol, letrozol, exemestano) actúan bloqueando o suprimiendo la estimulación estrogénica del tumor. En mujeres premenopáusicas, se utilizan análogos de LH-RH como goserelina o leuprorelina para suprimir la función ovárica, mientras que, en casos de enfermedad avanzada o resistentes a tamoxifeno, se ha aprobado el uso de fulvestrant, un degradador selectivo del receptor de estrógeno (SERD). En pacientes con sobreexpresión de HER2, el tratamiento con anticuerpos monoclonales como trastuzumab y pertuzumab, así como con conjugados anticuerpo-fármaco como T-DM1 y Enhertu, ha mostrado mejorar significativamente la supervivencia libre de progresión. Por su parte, los subtipos triple negativos (TNBC), que carecen de receptores hormonales y HER2, requieren de esquemas de quimioterapia más agresivos; sin embargo, terapias emergentes como sacituzumab govitecan y anticuerpos inmunomoduladores como pembrolizumab y atezolizumab están aportando nuevas perspectivas terapéuticas (31) (32). Todas las estrategias terapéuticas actuales se refieren en la tabla 4.

A pesar de estos avances, persisten desafíos relevantes como la aparición de resistencia a fármacos, toxicidad acumulada y heterogeneidad tumoral. Esto ha motivado la exploración de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a blancos moleculares más específicos, con el objetivo de aumentar la eficacia y minimizar los efectos adversos, abriendo camino al diseño racional de terapias más personalizadas y tolerables (33).

Medicamento	Mecanismo de acción	Subtipo tratado	Estado
Doxorrubicina	Antibiótico antraciclínico; intercalante del ADN e inhibidor de topoisomerasa II	Todos los subtipos (esquemas neoadyuvantes y adyuvantes)	Aprobado
Tamoxifeno	Modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM)	ER+/PR+	Aprobado
Anastrozol / Letrozol / Exemestano	Inhibidores de la aromatasas (3ra generación)	ER+/PR+ (postmenopáusicas)	Aprobado
Goserelina / Leuprorelina	Agonistas de LH-RH	Cáncer RH-sensible (premenopáusicas)	Aprobado
Fulvestrant	Degradador del receptor de estrógenos (SERD)	ER+/PR+, resistente a tamoxifeno	Aprobado
Ribociclib / Palbociclib / Abemaciclib	Inhibidores de CDK4/6	HR+ avanzado/metastásico	Aprobado
Trastuzumab / Pertuzumab	Anticuerpos monoclonales anti-HER2	HER2+	Aprobado
T-DM1 / Enhertu	Conjugados anticuerpo-fármaco (anti-HER2)	HER2+ metastásico	Aprobado
Sacituzumab govitecan	Conjugado anticuerpo-fármaco	TNBC refractario	Aprobado
Pembrolizumab / Atezolizumab	Inmunoterapia anti-PD-1 / anti-PD-L1	TNBC metastásico	Aprobado

Tabla 4 Principales tratamientos aprobados para el cáncer de mama según subtipo molecular

2.4 Alternativas Etnobotánicas

Los efectos adversos de las terapias convencionales para el cáncer de mama han motivado la búsqueda de alternativas terapéuticas complementarias, especialmente aquellas derivadas de compuestos naturales. En este contexto, la etnobotánica disciplina que integra el conocimiento tradicional sobre plantas medicinales ha contribuido a la identificación de especies con potencial farmacológico que pueden ser aprovechadas en la oncología moderna.

Entre las especies de interés, destacan *Malachra alceifolia* (familia Malvaceae) y *Heliotropium indicum* (familia Boraginaceae), ampliamente utilizadas en la medicina tradicional para tratar diversas afecciones inflamatorias, infecciosas y crónicas. Ambas plantas contienen metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, saponinas, triterpenos y compuestos fenólicos, muchos de los cuales han sido reportados con actividad antioxidante, antiinflamatoria, proapoptótica y antitumoral (34).

Aunque la evidencia preclínica sobre su eficacia contra el cáncer aún es incipiente, diversos estudios *in vitro* han comenzado a caracterizar los principios activos presentes en estas especies, así como su capacidad de interactuar con proteínas clave implicadas en la progresión del cáncer de mama, lo que las posiciona como candidatas relevantes para estudios de acoplamiento molecular y validación terapéutica.

2.4.1 *Malachra alceifolia* Jacq.

Malachra alceifolia es una especie nativa de regiones tropicales de América, incluida Colombia, donde ha sido empleada en la medicina tradicional como emoliente, antiinflamatorio y antiséptico. Su composición fitoquímica incluye flavonoides, leucoantocianidinas, triterpenos y saponinas, compuestos asociados a efectos farmacológicos como actividad antioxidante, hepatoprotectora y posible citotoxicidad en líneas tumorales. Si bien los reportes sobre su actividad antitumoral son aún limitados, los estudios disponibles respaldan su potencial como fuente de principios activos con aplicaciones oncológicas (35).

2.4.2 *Heliotropium indicum*

Heliotropium indicum, conocido como “tornasole indio”, es una planta ampliamente distribuida en regiones tropicales de Asia, África y América. Tradicionalmente se utiliza para tratar infecciones, heridas, enfermedades renales y alteraciones menstruales. Su riqueza fitoquímica se debe a la presencia de alcaloides pirrolizidínicos como heliotrina, indicina y lasiocarpina, así como saponinas, esteroides y taninos. Aunque estos alcaloides han sido descritos con propiedades citotóxicas y antiproliferativas en líneas tumorales, particularmente frente a cáncer de hígado, pulmón y mama, su perfil toxicológico representa un desafío considerable. Estudios toxicológicos han documentado efectos adversos como hepatotoxicidad aguda y crónica, genotoxicidad, mutagenicidad y potencial carcinogénico, asociados principalmente al metabolismo hepático de estos compuestos a intermediarios reactivos (36) (37). Por tanto, el desarrollo de fitoterápicos basados en *H. indicum* debe considerar enfoques de fraccionamiento, purificación y modificación estructural que reduzcan su toxicidad sin comprometer su eficacia biológica.

2.4.3 Principios Activos

2.4.3.1 Principios activos de *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*

En la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos contra el cáncer de mama, los compuestos naturales presentes en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum* representan una alternativa prometedora. Algunos de los metabolitos secundarios aislados de estas especies,

como flavonoides y triterpenos, han mostrado afinidad por proteínas implicadas en procesos clave como la regulación del ciclo celular, la apoptosis y las vías inflamatorias, lo que sustenta su estudio mediante simulaciones de acoplamiento molecular.

Complementariamente, diversos estudios recientes han validado experimentalmente el potencial antitumoral de compuestos naturales presentes en estas plantas, como la quercetina y el lupeol, en líneas celulares de cáncer de mama. La quercetina ha demostrado capacidad para inducir apoptosis y bloquear rutas de señalización críticas como PI3K/Akt/mTOR y JAK2/STAT3, reduciendo la proliferación, migración e invasión en líneas celulares como MCF-7, MDA-MB-231 y 4T1, incluyendo subtipos triples negativo (38). Por su parte, el lupeol ha sido asociado a la inhibición de la transición epitelio-mesénquima (EMT), la inducción de autofagia, la regulación negativa de proteínas como MMP-2/9 y COX-2, así como la activación de vías apoptóticas mediadas por caspasas, en modelos celulares como MDA-MB-231 y MCF-7 (39).

Estos hallazgos respaldan que las afinidades observadas en estudios *in silico*, como el presente, pueden corresponder a una actividad biológica real. Por ello, se justifica su evaluación experimental *in vivo* y su eventual desarrollo como fitofármacos dirigidos a blancos terapéuticos relevantes en el cáncer de mama.

A continuación, se presentan las tablas con los principales compuestos fitoquímicos identificados en *Malachra alceifolia* (Tabla 5) y *Heliotropium indicum* (Tabla 6), junto con su respectiva clasificación y posibles actividades biológicas descritas en la literatura.

Principio activo	Tipo de molécula	Parte vegetal	Actividades farmacológicas reportadas
Alcaloides	Metabolitos secundarios nitrogenados	Hojas y flores	Antiinflamatorios; potencial inmunomodulador
Saponinas	Glucósidos esteroidales / triterpenoides	Toda la planta	Cicatrizantes, hipocolesterolémicas, proapoptóticas, anticancerígenas

Flavona	Flavonoides, polifenoles (estructura C6-C3-C6)	Hojas y tallos	Antioxidantes, moduladores enzimáticos, antiproliferativos
Leucoantocianidinas	Precusores de antocianinas	Hojas	Antioxidantes; interés farmacéutico por su estabilidad estructural
Taraxerol	Triterpenos, terpeno de 30 carbonos	Parte aérea	Citotóxicos; actividad antitumoral potencial al conjugarse con uridina
Antocianinas	Flavonoides glucosilados pigmentarios	Hojas	Antitumorales; actúan sinérgicamente al conjugarse con azúcares

Tabla 5. Principios activos identificados en *M. alceifolia* y sus propiedades biológicas.

Principio activo	Tipo de molécula	Parte vegetal	Actividades farmacológicas reportadas
Heliotrina	Alcaloide de pirrolizidina	Hojas y tallo	Citotóxica; potencial antitumoral (restringido por toxicidad hepática)
Indicidina	Alcaloide de pirrolizidina	Hojas y tallo	Citotóxica; promueve apoptosis en células tumorales
Lasiocarpina	Alcaloide de pirrolizidina	Hojas y tallo	Actividad antiproliferativa documentada in vitro
Heleurina	Alcaloide de pirrolizidina	Hojas y tallo	Similar actividad que heliotrina; potencial citotóxico
N-óxido de heliotridina	Derivado oxidado de alcaloide	Semillas	Efecto genotóxico y citotóxico; se estudia su dosificación segura
Espermidina	Amina poliamínica	Hojas	Antioxidante; modula proliferación y diferenciación celular
Chalinasterol	Fitosterol	Toda la planta	Antiinflamatorio; regula permeabilidad de membrana y diferenciación celular
Campesterol	Fitosterol	Toda la planta	Antiinflamatorio, hipocolesterolémico; implicado en estabilidad de membranas

Estigmasterol	Fitosterol	Toda la planta	Modulador hormonal; inhibidor tumoral indirecto
Lupeol	Triterpeno	Toda la planta	Anticancerígeno, antioxidante, antiinflamatorio, hipolipemiante
Raponona	Triterpeno	Toda la planta	Antihiper glucémico, hipolipemiante; potencial preventivo en comorbilidades

Tabla 6. Principios activos identificados en *H. indicum* y sus propiedades biológicas.

3. DISEÑO METODOLOGICO

Este estudio es de tipo descriptivo, transversal y exploratorio, basado en herramientas bioinformáticas para el análisis de interacciones proteína-ligando mediante acoplamiento molecular (molecular docking). Este estudio se desarrolló mediante el siguiente flujo de trabajo:

- Selección de proteínas blanco asociadas al cáncer de mama por medio de bases de datos bibliográficas y bases de datos bioinformáticos.
- Obtención de estructuras 3D de proteínas: se priorizaron modelos cristalográficos de Uniprot (39). En ausencia de estos, se utilizaron predicciones de AlphaFold extraídas desde UniProt (40).
- Selección y preparación de principios activos de *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum* (vía PubChem y optimización con Avogadro).
- Análisis preliminar múltiple de interacciones proteína-ligando (docking con PyRx/Autodock Vina).
- Selección de los compuestos con mayor afinidad energética por proteína, considerando criterios de unión en el sitio activo.
- Análisis mediante el software COACH para predicción de sitios de activos de las proteínas.
- Análisis de interacciones proteína-ligando dirigidas con los principios activos seleccionados.

- Predicción del perfil farmacocinético y toxicidad de los compuestos seleccionados mediante ADMETLab 2.0, como complemento a la evaluación de afinidad de unión.

3.1 Universo, Población Y Muestra

El universo del estudio está constituido por las catorce proteínas seleccionadas, referenciadas a continuación en la tabla 7.

CASP3	IL-6
FAS	IL-1 β
BID	IFN γ
TP53	IL-10
BCL-XL- BCL2	TGF β
MCL-1	PGK1
RB1	HSP90

Tabla 7. Proteínas seleccionadas, asociadas al cáncer de mama

Estas proteínas fueron identificadas y seleccionadas a partir de los genes implicados en el desarrollo del cáncer de mama y su especial relevancia funcional en la progresión tumoral y caracterización estructural, conforme a los resultados obtenidos durante la búsqueda bibliográfica.

Adicionalmente, se priorizaron aquellas con evidencia experimental sólida y anotación confiable, como IL-6, TP53 y HSP90, por su papel clave en procesos como inflamación, regulación del ciclo celular y estabilidad de oncoproteínas, respectivamente. Esta selección permitió abarcar rutas moleculares complementarias y evaluar el potencial de los principios activos seleccionados.

La población está representada por los principios activos con potencial actividad antitumoral presentes en las plantas medicinales *Heliotropium indicum* y *Malachra alceifolia*, seleccionados a partir de la base de datos PubChem y sustentados en literatura científica.

Finalmente, la muestra corresponde a los principios activos de las plantas *Heliotropium indicum* y *Malachra alceifolia* que, según la evidencia fitoquímica disponible.

3.2 Hipótesis, Variables, Indicadores

3.2.1 Hipótesis

Los principios activos presentes en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum* podrían interactuar con residuos clave de proteínas asociadas al cáncer de mama, implicadas en procesos de apoptosis, proliferación celular y respuesta inflamatoria. Estas interacciones pueden ser predichas mediante herramientas bioinformáticas y estudios de acoplamiento molecular.

3.2.2 Variables del estudio

Para el presente estudio, la variable independiente corresponde a los principios activos identificados en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*, ya que estos son los elementos experimentales que se introducen deliberadamente para evaluar su efecto sobre un sistema biológico definido. Estos compuestos se seleccionaron por su potencial farmacológico reportado en estudios previos y su posible actividad antitumoral.

Las variables dependientes incluyen parámetros bioinformáticos que permiten evaluar el efecto de los compuestos, tales como:

- Afinidad de unión (valores de energía libre de acoplamiento obtenidos por docking molecular),
- Interacciones moleculares (tipo y número de enlaces con residuos activos),
- Perfiles de expresión génica (cuando se analiza la relación con genes diana en bases de datos transcriptómicas),
- Predicciones ADMET (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad), que indican el posible comportamiento farmacocinético y de seguridad de los compuestos.

3.3 TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

3.3.1 Bases de datos empleadas para la búsqueda de estructuras tridimensionales de macromoléculas proteicas asociadas con el cáncer de mama.

La selección de los genes de interés se realizó mediante una revisión bibliográfica sistemática en bases de datos científicas como **PubMed**, **Scopus** y **ScienceDirect**. Se identificaron aquellos genes cuya expresión ha sido consistentemente asociada con el desarrollo y progresión del cáncer de mama, de acuerdo con lo reportado en estudios previos. El criterio principal de inclusión fue la implicación funcional del gen en procesos clave como apoptosis, proliferación celular, señalización intracelular y respuesta inflamatoria. No se realizó un análisis genético propio, sino que se basó en información previamente validada en la literatura científica. A partir de los genes seleccionados, se identificaron las proteínas codificadas correspondientes con las que se trabajaron los acoplamientos moleculares.

3.3.1.2 Bases de datos bioinformáticas empleadas

Para cada una de las catorce proteínas, se consultó la base de datos **UniProtKB** (39), se priorizaron aquellas con un alto annotation score 5/5 y evidencia experimental que respaldara su participación en el cáncer de mama.

Posteriormente, se accedió a la sección "Structure" dentro de cada ficha de UniProt, donde se recopilaron las estructuras tridimensionales disponibles. Se priorizaron modelos estructurales obtenidos mediante la base de datos AlphaFold Protein Structure Database (40), dado que muchas de estas proteínas no cuentan con estructuras cristalográficas completas en PDB. Las estructuras seleccionadas se descargaron en formato "pdb", y se evaluaron sus parámetros de calidad estructural como el pLDDT (predicted Local Distance Difference Test) score, priorizando aquellas con valores promedio a 70.

Posterior a la obtención de las estructuras, se llevó a cabo la búsqueda de las estructuras químicas de los principios activos de *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*.

La búsqueda se efectuó en **PubChem** (51). Los principios activos de interés fueron identificados mediante su nombre común, nombre sistemático o número CAS, y sus estructuras moleculares se descargaron en formato SDF (Structure Data File), el cual

contiene coordenadas moleculares en dos o tres dimensiones, junto con la conectividad atómica.

3.3.2 Software empleados para la preparación de las estructuras y análisis moleculares.

Para la preparación de los ligandos, se utilizó el programa **Avogadro** (41), el cual permite realizar ajustes estructurales y preparar compuestos para estudios de acoplamiento molecular. A partir de los archivos descargados de PubChem, en formato “sdf”, se procedió a la optimización de la geometría molecular de cada compuesto.

Para el análisis de acoplamiento molecular múltiple se empleó el programa **PyRx**, el cual es un software de diseño de fármacos asistido que permite un estudio múltiple (versión 0.8) (42). Este análisis permitió llevar a cabo un proceso de cribado virtual (virtual screening) que facilitó la identificación preliminar de las combinaciones ligando-proteína con mayor afinidad energética, medida a través de los valores de energía libre de acoplamiento (ΔG , en kcal/mol) y valores de RMSD (Root Mean Square Deviation)

Adicionalmente, PyRx mostró valores de RMSD (Root Mean Square Deviation) correspondientes a la comparación entre las diferentes conformaciones o poses generadas para cada ligando durante el acoplamiento. Una baja diferencia de RMSD entre la mejor pose y las siguientes puede sugerir estabilidad conformacional del ligando en el sitio de unión. Sin embargo, es importante aclarar que estos valores no corresponden a una validación con estructuras co-cristalizadas, por lo que no deben interpretarse como una medida de exactitud estructural frente a datos experimentales.

Para la identificación de los sitios activos en las proteínas seleccionadas, se utilizó la herramienta bioinformática **COACH** (43), la cual predice posibles sitios de unión a ligandos a partir de estructuras tridimensionales.

Con base en los resultados obtenidos en las etapas previas, se llevaron a cabo estudios de acoplamiento molecular dirigido. El proceso de acoplamiento se realizó utilizando **AutoDock Vina** (44).

3.3.3 Análisis de toxicidad mediante uso de herramientas bioinformáticas

Como paso final y complementario se llevó a cabo la evaluación de hepatotoxicidad y neurotoxicidad de los principios activos seleccionados para los acoplamiento dirigidos mediante la herramienta de ADMETLab 2.0 (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) (45).

4. RESULTADOS

Con el objetivo de mejorar la calidad estructural de los principios activos, se empleó el campo de fuerza **MMFF94 (Merck Molecular Force Field 94)**, disponible en el software Avogadro. Este campo de fuerza es ampliamente reconocido por su precisión en la predicción de propiedades conformacionales e interacciones de compuestos orgánicos. Su aplicación permitió eliminar tensiones estéricas asociadas a conformaciones no naturales, como enlaces distorsionados o ángulos inadecuados, facilitando así la relajación geométrica del ligando, (para el presente estudio correspondieron a los principios activos de las plantas seleccionadas) y obteniendo una conformación inicial más estable. Este proceso de optimización resulta crucial para minimizar errores estructurales que puedan comprometer la precisión de los estudios de acoplamiento molecular.

La optimización estructural representa un paso fundamental en los estudios *in silico*, ya que incrementa la fiabilidad en la predicción de interacciones proteína-ligando. Una vez optimizados, los principios activos fueron exportados en formato “. mol2”, el cual conserva información como los tipos de enlace, coordenadas atómicas y cargas parciales.

4.1. Estructuras tridimensionales de las proteínas relacionadas en el cáncer de mama

Una vez seleccionadas las proteínas, se procedió a consultar sus estructuras en formato 3D. En la Tabla 8 se resumen los datos más relevantes para cada proteína, incluyendo su nombre, gen asociado, código UniProt, anotación score y el identificador del modelo estructural de AlphaFold. Esta información fue crucial para continuar con el diseño de los experimentos *in silico* de acoplamiento molecular entre proteínas y ligandos derivados de extractos vegetales. En este estudio se priorizaron aquellas proteínas que presentaban un annotation score igual o superior a 4, con el fin de asegurar que las secuencias seleccionadas estuvieran bien caracterizadas funcionalmente y contaran con evidencia experimental disponible, lo cual respalda la validez de su uso como dianas terapéuticas en análisis de acoplamiento molecular.

	PROTEÍNA	GEN	CÓDIGO UNIPROT	ANOTATION SCORE	COD ACCESO ALPHAFOLD
1	Apoptosis regulator Bcl-2	BCL-2	P10415	5/5	AF-P10415-F1-v4
2	Caspase - 3	CASP-3	P42574	5/5	AF-P42574-F1-v4
3	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 6	FAS	P25445	5/5	AF-P25445-F1-v4
4	BH3-interacting domain death agonist	BID	P55957	5/5	AF-P55957-F1-v4
5	Retinoblastoma-associated protein	RB1	P06400	5/5	AF-P06400-F1-v4
6	Interleukin-6	IL6	P05231	5/5	AF-P05231-F1-v4
7	Interferon gamma receptor 1	IFNGR1	P15260	5/5	AF-Q30DS9-F1-v4
8	Interleukin-1 beta	IL1B	P01584	5/5	AF-P01584-F1-v4
9	Interleukin-10	IL10	P22301	5/5	AF-P22301-F1-v4
10	Phosphoglycerate kinase 1	PGK1	P00558	5/5	AF-P00558-F1-v4
11	Heat shock 90 kDa protein 1-like	HSPA1L	P34931	5/5	AF-P34931-F1-v4
12	Cellular tumor antigen p53	P53	P04637	5/5	AF-P04637-F1-v4
13	Bcl-2-like protein 1	BCL2L1; BCLXL	Q07817	5/5	AF-Q07817-F1-v4
14	Transforming growth factor beta-1 proprotein	TGFB1	P01137	5/5	AF-P01137-F1-v4

Tabla 8. Resultados de la búsqueda de estructuras 3D.

4.1.1 Principios activos consultados en PubChem

Los principios activos de interés fueron identificados y consultados en la base de datos PubChem, se seleccionó este servidor porque es una de las bases de datos químicas más completas, fiables y accesibles. La selección de los compuestos se fundamentó en reportes etnofarmacológicas y estudios previos que documentan la presencia de metabolitos secundarios con potencial citotóxico o antitumoral en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*.

De cada compuesto se extrajeron datos relevantes para su caracterización y posterior análisis *in silico*, incluyendo el nombre químico, fórmula molecular, y sus estructuras moleculares en dos dimensiones. Estos datos son fundamentales para garantizar la precisión en los procesos de optimización geométrica y acoplamiento molecular.

Los compuestos fueron descargados en formato “sdf” (Structure Data File), el cual preserva la información sobre la conectividad atómica y coordenadas espaciales necesarias para su posterior procesamiento en herramientas de edición y simulación molecular. Dos tablas resumen con los principios activos seleccionados para cada compuesto y sus propiedades se presentan a continuación en las tablas 9 y 10, mientras que las representaciones estructurales completas se anexan al final del documento.

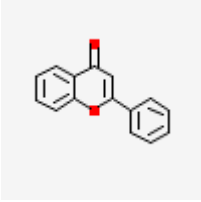
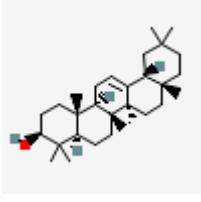
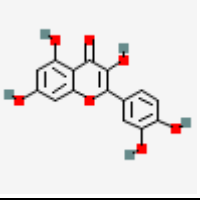
Consulta de principios activos en PubChem para <i>M. alceifolia</i>		
PRINCIPIO ACTIVO	ESTRUCTURA 2D	FORMULAR MOLECULAR
Flavona	 The image shows the chemical structure of a flavone, which consists of a chromone core (a benzene ring fused to a pyrone ring) with a phenyl group attached to the 2-position of the pyrone ring.	C ₁₅ H ₁₀ O ₂
Taraxerol	 The image shows the chemical structure of Taraxerol, a triterpene with a complex pentacyclic ring system and several methyl groups.	C ₃₀ H ₅₀ O
Quercetina	 The image shows the chemical structure of Quercetin, a flavonol with a chromone core and two hydroxyl groups on the A-ring, and a 3,4,5-trihydroxyphenyl group at the 3-position.	C ₁₅ H ₁₀ O ₇

Tabla 8. Principios activos relevantes de *M. alceifolia*.

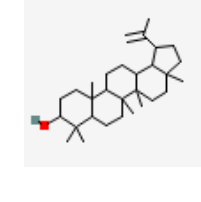
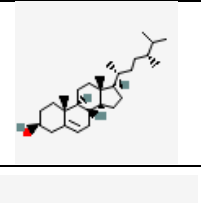
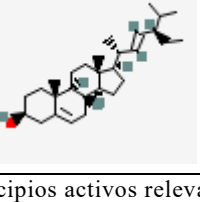
Consulta de principios activos en PubChem para <i>H. indicum</i>		
PRINCIPIO ACTIVO	ESTRUCTURA 2D	FORMULAR MOLECULAR
Lupeol	 The image shows the chemical structure of Lupeol, a triterpene with a complex pentacyclic ring system and several methyl groups.	C ₃₀ H ₅₀ O
Campesterol	 The image shows the chemical structure of Campesterol, a sterol with a four-ring steroid nucleus and a hydroxyl group at the 3-position.	C ₂₈ H ₄₈ O
Stigmasterol	 The image shows the chemical structure of Stigmasterol, a sterol with a four-ring steroid nucleus and a hydroxyl group at the 3-position, and a side chain with a double bond at the 22-position.	C ₂₉ H ₄₈ O

Tabla 9. Principios activos relevantes de *H. indicum*.

4.1.2 Acoplamiento Molecular Múltiple Mediado Por PyRx

Se realizó un estudio de acoplamiento molecular múltiple entre los principios activos de *Heliotropium indicum* y *Malachra alceifolia* y las catorce proteínas seleccionadas, utilizando la herramienta PyRx. Este análisis permitió identificar, mediante la comparación de energías de afinidad, los ligandos con mejor desempeño para cada proteína.

4.1.3. Resultados de los acoplamientos múltiples entre proteínas blanco y principios activos de *Heliotropium indicum*.

En la Tabla 11 se presentan los resultados obtenidos de los acoplamientos moleculares. En todos los casos, el valor de RMSD reportado por AutoDock Vina para la primera pose fue de 0.000. Este comportamiento es esperado, ya que dicho valor representa la desviación cuadrática media con respecto a la pose de referencia generada por el propio software, es decir, la considerada óptima. Es importante señalar que no se realizó una comparación con estructuras co-cristalizadas, por lo que el RMSD reportado no debe interpretarse como una medida de precisión estructural frente a datos experimentales, sino únicamente como una referencia interna del algoritmo de Vina.

Para la selección de interacciones relevantes, se estableció un umbral de afinidad de -6.0 kcal/mol, valor considerado comúnmente como indicativo de una interacción potencialmente estable entre ligando y receptor, según lo reportado en estudios previos de acoplamiento molecular (46). Valores más negativos reflejan una mayor energía de unión y, por tanto, una mayor probabilidad de interacción efectiva.

Los principios activos de *H. indicum* preseleccionados para los acoplamientos dirigidos fueron: Stigmasterol, Lupeol y Campesterol, debido a la energía de afinidad, tabla 11.

Acoplamiento Molecular Múltiple con principios activos de <i>Heliotropium indicum</i>															
Ligando	Heliotrina	Indicina	N-óxido de indicina	Lasiocarpina	Cinoglosina	Heletrina	N-óxido de heliotrina	Epermidina	Putrescina	Chalinasterol/Stigmasterol	Fitol	β -linalol	Lupeol	Raponona	Campesterol
Proteína															
Bcl-2	1.0 Kcal/mol	1.5 Kcal/mol	-2.2 Kcal/mol	1.2 Kcal/mol	0.5 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	-4.7 Kcal/mol	5.4 Kcal/mol	-5.1 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	1.8 Kcal/mol	-7.2 kcal/mol	6.0 Kcal/mol	-4.2 Kcal/mol
Caspasa 3	-1.3 Kcal/mol	-2.8 Kcal/mol	-2.1 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol	0.9 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-2.5 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	2.3 Kcal/mol	-3.3 Kcal/mol	1.4 Kcal/mol	-2.2 Kcal/mol	-9.5 kcal/mol	4.3 Kcal/mol	-3.8 Kcal/mol
FAS	-1.5 Kcal/mol	1.8 Kcal/mol	1.2 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol	0.9 Kcal/mol	-3.6 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol	-3.0 Kcal/mol	2.2 Kcal/mol	-5.1 Kcal/mol	1.1 Kcal/mol	1.0 Kcal/mol	-7.8 kcal/mol	5.8 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol
BID	-2.3 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol	3.9 Kcal/mol	-5.5 Kcal/mol	1.5 Kcal/mol	-3.5 Kcal/mol	-1.2 Kcal/mol	-2.5 Kcal/mol	3.4 Kcal/mol	-5.2 Kcal/mol	-2.0 Kcal/mol	-1.3 Kcal/mol	-8.3 kcal/mol	1.5 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol
RB1	-1.0 Kcal/mol	-2.8 Kcal/mol	-1.4 Kcal/mol	-4.2 Kcal/mol	-0.5 Kcal/mol	-4.5 Kcal/mol	-1.9 Kcal/mol	-1.3 Kcal/mol	2.9 Kcal/mol	-4.4 Kcal/mol	-1.3 Kcal/mol	-1.1 Kcal/mol	-9.6 kcal/mol	3.3 Kcal/mol	-5.5 Kcal/mol
IL-6	-2.9 Kcal/mol	-4.1 Kcal/mol	0.9 Kcal/mol	1.0 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-2.9 Kcal/mol	-1.5 Kcal/mol	-1.1 Kcal/mol	1.5 Kcal/mol	-7.0 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-7.0 Kcal/mol	4.5 Kcal/mol	-6.3 Kcal/mol
IFN- γ	-2.6 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	-2.6 Kcal/mol	-1.3 Kcal/mol	1.7 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-0.9 Kcal/mol	-4.9 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-1.0 Kcal/mol	-7.5 kcal/mol	6.0 Kcal/mol	3.4 Kcal/mol
IL-1 β	0.8 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	-2.2 Kcal/mol	-1.1 Kcal/mol	-1.9 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	-1.0 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-7.5 Kcal/mol	-3.1 Kcal/mol	-2.9 Kcal/mol	-7.2 kcal/mol	5.4 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol
IL-10	-2.3 Kcal/mol	-1.7 Kcal/mol	-0.8 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-2.1 Kcal/mol	-1.3 Kcal/mol	-1.7 Kcal/mol	1.7 Kcal/mol	-9.0 Kcal/mol	0.8 Kcal/mol	-2.1 Kcal/mol	-7.5 Kcal/mol	2.2 Kcal/mol	-8.5 Kcal/mol
PGK1	-2.5 Kcal/mol	-1.5 Kcal/mol	-3.3 Kcal/mol	-2.0 Kcal/mol	-0.8 Kcal/mol	-3.7 Kcal/mol	-2.8 Kcal/mol	-1.5 Kcal/mol	-1.4 Kcal/mol	-7.9 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-3.7 Kcal/mol	-4.5 Kcal/mol	1.5 Kcal/mol	-8.3 Kcal/mol
HSP90	-3.5 Kcal/mol	-3.3 Kcal/mol	-2.1 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	2.1 Kcal/mol	-2.7 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-4.2 Kcal/mol	0.9 Kcal/mol	-8.5 Kcal/mol	-2.4 Kcal/mol	-2.2 Kcal/mol	-6.5 Kcal/mol	2.2 Kcal/mol	-5.0 Kcal/mol
P53	-1.7 Kcal/mol	1.4 Kcal/mol	-0.9 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol	-1.0 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-2.8 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol	2.1 Kcal/mol	-5.5 Kcal/mol	-2.0 Kcal/mol	-0.8 Kcal/mol	-6.9 kcal/mol	3.4 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol
protein Bcl2-like	-1.2 Kcal/mol	-0.2 Kcal/mol	1.0 Kcal/mol	-5.0 Kcal/mol	2.1 Kcal/mol	-1.9 Kcal/mol	-3.1 Kcal/mol	-2.8 Kcal/mol	1.2 Kcal/mol	-2.9 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-2.2 Kcal/mol	-8.0 Kcal/mol	2.9 Kcal/mol	-2.9 Kcal/mol
TGFBR1	-1.9 Kcal/mol	-4.3 Kcal/mol	3.5 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol	1.5 Kcal/mol	-1.4 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol	-4.1 Kcal/mol	3.9 Kcal/mol	-8.0 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol	-0.8 Kcal/mol	-7.8 kcal/mol	3.0 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol

Tabla 10. Resultados Acoplamiento molecular múltiple entre los principios activos de *H. indicum* y las proteínas asociadas.

4.1.4 Resultados de los acoplamientos múltiples entre proteínas blanco y principios activos de *Malachra alceifolia*.

En la tabla 12 se presentan los resultados correspondientes a *M. alceifolia*, en donde, de igual manera, se evaluaron todos los principios activos frente a las catorce proteínas de interés. Los principios activos seleccionados fueron: Flavona, Quercetina y Taraxerol, bajo los mismos parámetros de selección aplicados previamente. Es importante resaltar el comportamiento del principio activo Taraxerol, puesto que se observa que en todas las proteínas evaluadas mostraron valores de energía de afinidad inferiores a -6 kcal/mol, lo que sugiere un alto potencial de interacción (57).

Al igual que en los acoplamientos realizados con *H. indicum*, el valor de RMSD reportado para la primera pose generada por AutoDock Vina fue de 0.000 en todos los casos, lo cual es esperado dado que esta pose se toma como referencia en el cálculo interno del programa.

Acoplamiento Molecular Múltiple con principios activos de <i>Malachra alceifolia</i>						
Ligando	Saponina	Flavona	Taraxerol	Antocianinas	Quercetina	Galotaninos
Bcl-2	-0.8 Kcal/mol	-6.8 Kcal/mol	-7.2 Kcal/mol	2.1 Kcal/mol	-7.2 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol
Caspasa 3.	-1.3 Kcal/mol	-7.4 Kcal/mol	-8.8 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol	-7.5 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol
FAS.	-1.5 Kcal/mol	-3.8 Kcal/mol	-8.5 Kcal/mol	-3.3 Kcal/mol	-8.0 Kcal/mol	-3.6 Kcal/mol
BID.	-2.3 Kcal/mol	-8.5 Kcal/mol	-8.2 Kcal/mol	-5.5 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-3.5 Kcal/mol
RB1	-1.0 Kcal/mol	-7.7 Kcal/mol	-8.2 Kcal/mol	-4.2 Kcal/mol	-4.5 Kcal/mol	-4.5 Kcal/mol
IL-6	-2.9 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-6.5 Kcal/mol	1.0 Kcal/mol	-6.0 Kcal/mol	-2.9 Kcal/mol
IFN- α	-2.6 Kcal/mol	-1.9 Kcal/mol	-6.0 Kcal/mol	-1.3 Kcal/mol	-8.5 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol
IL-1 β	0.8 Kcal/mol	-6.3 Kcal/mol	-7.5 Kcal/mol	-1.1 Kcal/mol	-7.1 Kcal/mol	-3.9 Kcal/mol
IL-10	-2.3 Kcal/mol	-5.0 Kcal/mol	-7.2 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-0.5 Kcal/mol	-2.1 Kcal/mol
PGK1	-2.5 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-6.0 Kcal/mol	-2.0 Kcal/mol	-0.8 Kcal/mol	-3.7 Kcal/mol
HSP90	-3.5 Kcal/mol	-4.5 Kcal/mol	-6.0 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol	-9.0 Kcal/mol	-2.7 Kcal/mol
P53	-1.7 Kcal/mol	-1.4 Kcal/mol	-7.0 Kcal/mol	-3.4 Kcal/mol	-6.0 Kcal/mol	-1.8 Kcal/mol
Bcl2-like protein	-1.2 Kcal/mol	-7.8 Kcal/mol	-6.8 Kcal/mol	-5.0 Kcal/mol	-7.5 Kcal/mol	-1.9 Kcal/mol
TGFBR1.	-1.9 Kcal/mol	-6.3 Kcal/mol	-7.8 Kcal/mol	-4.0 Kcal/mol	-2.3 Kcal/mol	-1.4 Kcal/mol

Tabla 11. Resultados del multiscreening realizado en PyRx. (41) para los principios activos de *M. alceifolia*.

De acuerdo con los resultados presentados en las Tablas 11 y 12, se identificaron seis principios activos pertenecientes a *H. indicum* y *M. alceifolia*, por presentar los valores de afinidad energética más favorables en los estudios de acoplamiento molecular.

4.2 Acoplamientos Dirigidos

La energía de Gibbs, conocida en los programas de docking como energía de afinidad, representa la energía libre asociada a la formación del complejo ligando-proteína. Un valor más negativo de esta energía indica una mayor estabilidad del complejo y una interacción más favorable desde el punto de vista termodinámico. Por esta razón, se empleó como criterio de selección que los ligandos presentaran energías de unión menores a 0 kcal/mol, considerándose más prometedores en posibles terapias.

Teniendo en cuenta esta energía se determinó que Stigmasterol, Lupeol y Campesterol de *H. indicum* y Flavona, Quercetina y Taraxerol de *M. alceifolia* se acoplan mejor a las catorce proteínas seleccionadas para el estudio.

En esta fase del análisis, de los seis principios activos preseleccionados, se seleccionaron los cuatro con mejores características energéticas para ser evaluados como ligandos finales, esto dependiendo de los resultados en los valores de afinidad, teniendo en cuenta que varían de acuerdo con cada proteína.

A continuación, se describen los principales tipos de interacciones evaluadas:

- Puentes de hidrógeno: Interacciones direccionales entre un átomo de hidrógeno unido a un elemento electronegativo (como N o O) y otro átomo electronegativo cercano. Son esenciales para la orientación precisa del ligando dentro del sitio activo. (47)
- Fuerzas de Van der Waals: Interacciones débiles que se producen entre átomos muy próximos. Aunque individuales son poco energéticas, en conjunto contribuyen significativamente a la estabilidad del complejo (48).
- Interacciones hidrofóbicas y aromáticas: Se presentan entre grupos no polares o anillos aromáticos del ligando y residuos hidrofóbicos de la proteína. Estas interacciones son claves para la fijación del ligando en cavidades hidrofóbicas del receptor (49).
- Interacciones electrostáticas: Se basan en la atracción entre cargas opuestas o dipolos, lo que da lugar a interacciones iónicas o dipolo-dipolo dentro del sitio activo. Estas fuerzas también contribuyen a la afinidad y especificidad del acoplamiento (49).

El análisis conjunto de la energía de afinidad y de las interacciones moleculares permitió seleccionar los ligandos con mayor potencial para establecer uniones estables y específicas, proporcionando información relevante para futuras etapas de validación experimental.

4.2.1 Interacciones moleculares de proteínas blanco y los principios activos seleccionados

En esta sección se presentan los resultados del análisis de acoplamiento molecular entre las proteínas seleccionadas y los cuatro principios activos seleccionados.

Estas representaciones son fundamentales para comprender la calidad del acoplamiento, ya que evidencian la formación de interacciones no covalentes clave como puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals e incluso interacciones

aromáticas o electrostáticas que en conjunto sustentan la afinidad observada y contribuyen a la estabilidad del complejo.

La presentación se realizó por su clasificación funcional: Proapoptóticos (P53, Casp3, Fas y Bid) Antiapoptóticos (Bcl-2, RB1, Bcl-xL) Citocinas proinflamatorias (IL-6 y IL-1 β) Citocinas antiinflamatorias/ inmunorreguladores (IL10 y IFNGR1) Factores metabólicos y de estrés celular (PGK1, HSP90 y TGF- β 1).

4.2.1.1 Interacciones entre P53 y principios activos de *H. indicum*

A continuación, se presentan los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre las proteínas P53 y los dos principios activos (Stigmasterol y lupeol) de *H. indicum*, seleccionados en la etapa de multiscreening realizada con PyRx. Las visualizaciones generadas permiten examinar los complejos proteína-ligando formados, resaltando de los sitios de unión, así como la orientación espacial de cada compuesto dentro del sitio activo de la proteína, las interacciones se encuentran relacionadas a continuación en las figuras 1 y 2. Para lupeol la energía de afinidad es de -7.5kcal/mol y para stigmasterol de -6.4 kcal/mol.

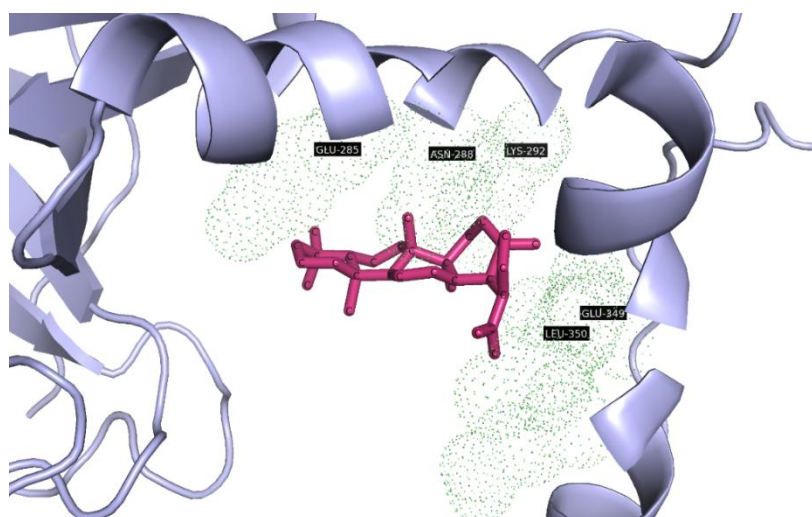


Figura 1. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Lupeol de *H. indicum* (color rojo) y la proteína P53. Los puntos verdes indican los aminoácidos involucrados en contactos hidrofóbicos con el ligando.

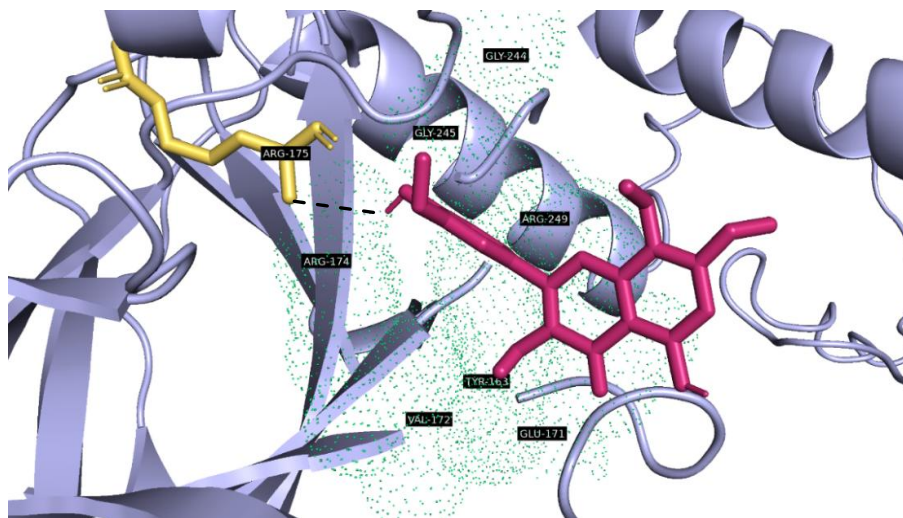


Figura 2. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Stigmasterol de *H. indicum* (color rojo) y la proteína P53. Los aminoácidos en amarillo generan interacciones polares de tipo puentes de hidrógeno representadas con las líneas punteadas en color negro. Los puntos verdes indican los aminoácidos involucrados en contactos hidrofóbicos con el ligando.

4.2.1.2 Interacciones entre P53 y principios activos de *M. alceifolia*

A continuación, se presentan los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína P53 y los dos principios activos (quercetina y taraxerol) de *M. alceifolia*, seleccionados en la etapa de multiscreening realizada con PyRx. Las visualizaciones generadas permiten examinar los complejos proteína-ligando formados, resaltando de los sitios de unión, así como la orientación espacial de cada compuesto dentro del sitio activo de la proteína, las interacciones para cada uno de los ligandos mencionados se observan en las figuras 3 y 4.

La energía de afinidad para quercetina es de -6.4 kcal/mol y para taraxerol de - 6.8 kcal/mol.

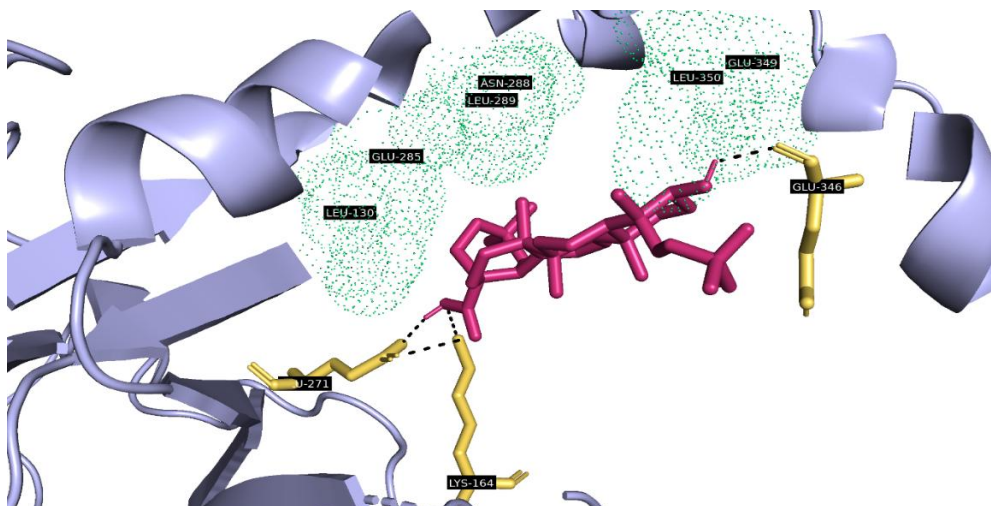


Figura 3. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Quercetina de *Malachra alceifolia* (color rojo) y la proteína P53. Los aminoácidos en amarillo generan interacciones polares de tipo π - puentes de hidrógeno representadas con las líneas punteadas en color negro. Los puntos verdes indican los aminoácidos involucrados en contactos hidrofóbicos con el ligando.

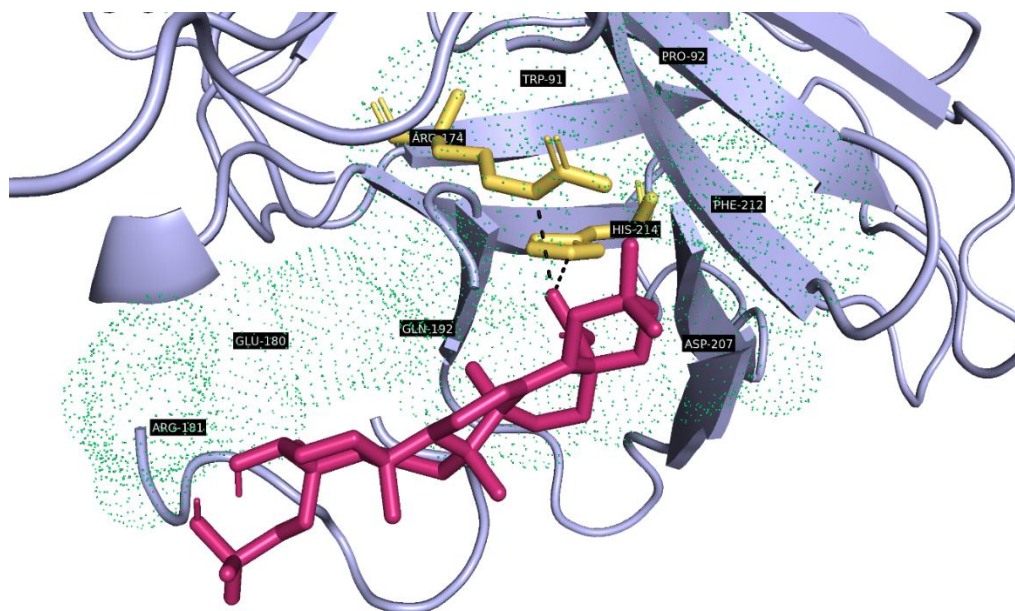


Figura 4. Acoplamiento molecular entre el compuesto vegetal Taraxerol de *M. alceifolia* (color rojo) y la proteína P53. Los aminoácidos en amarillo generan interacciones polares de tipo π , puentes de hidrogeno representadas con las líneas punteadas en color negro. Los puntos verdes indican los aminoácidos involucrados en interacciones hidrofóbicas con el ligando.

4.2.1.3 Interacciones entre Caspasa 3 y principios activos de *H. indicum*

A continuación, se presentan los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína Caspasa 3 y el principio

activo seleccionado (lupeol) de *H. indicum* escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx. Este acoplamiento presenta una energía de unión de -6.5kcal/mol, se observan interacciones de tipo electroestáticas de tipo aromático, en este acoplamiento no se obtuvieron interacciones de tipo puentes de hidrógeno. Las interacciones se visualizan en la figura 5.

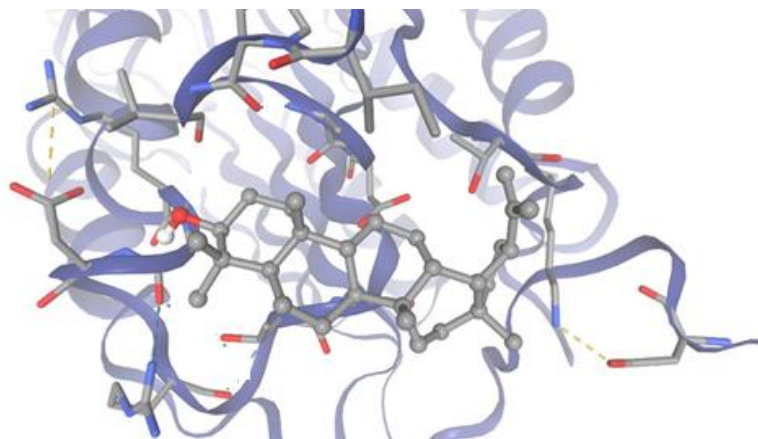


Figura 5. Casp-3 y Lupeol *H. indicum*, las líneas amarillas representan las interacciones de tipo electroestáticas los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.4 Interacciones entre Caspasa 3 y principios activos de *M. alceifolia*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína Caspasa 3 y los principios activos seleccionados (flavona, quercetina y taraxerol) de *M. alceifolia*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx.

Las interacciones observadas se ilustran en las figuras 6,7 y 8.

El acoplamiento de la figura 6, presenta una energía de unión -7.0 kcal/mol, se observan puentes de hidrogeno entre el ligando y la proteína, pero en su mayoría se observan uniones de tipo electroestáticas

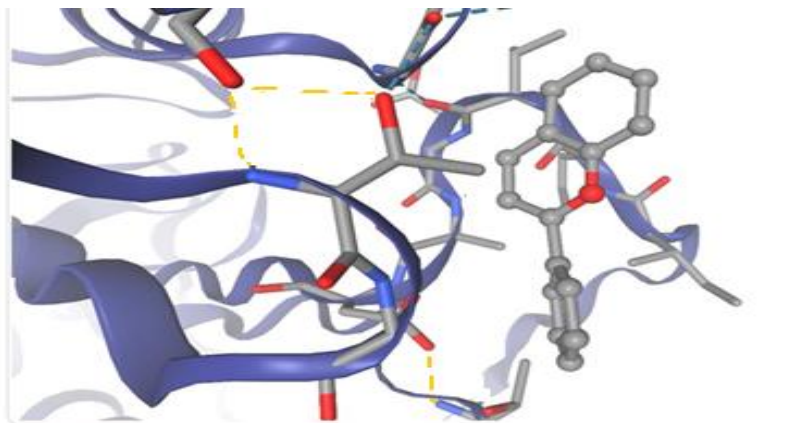


Figura 6. Casp-3 y Flavona *M. alceifolia*, las líneas azules, representan las interacciones de tipo puentes de hidrogeno, las líneas amarillas representan las interacciones de tipo electrostáticas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

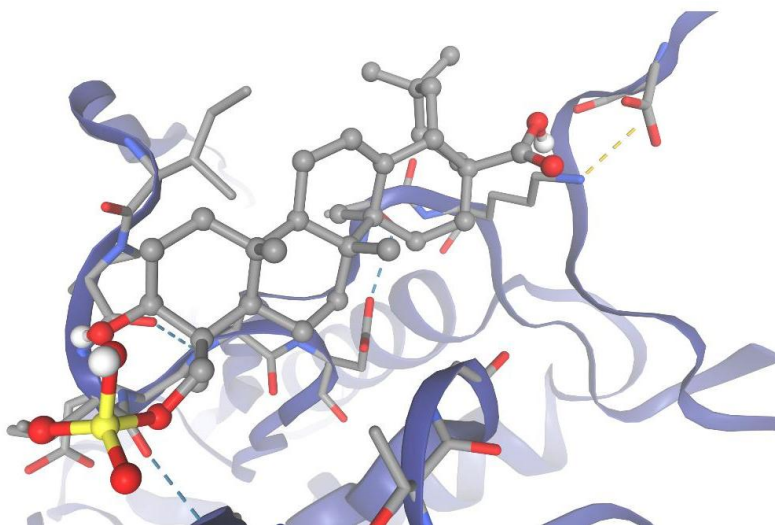


Figura 7. Casp3 y Quercetina *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

En la figura 7, se observa la interacción entre el ligando Quercetina de *M. alceifolia* y la proteína, este acoplamiento presenta una energía de unión de -6.7 kcal/mol, se observa una interacción de puente de hidrógeno entre grupos hidroxilo de la quercetina y residuos polares del sitio catalítico de Casp3, además también se observan interacciones de tipo electrostáticas.

En cuanto a la interacción entre el ligando Taraxerol de *M. alceifolia* y la proteína, (interacción referenciada en la figura 8). Este acoplamiento presenta una energía de unión de

-7.3 kcal/mol, aquí se observan interacciones de tipo aromático en sitios activos de la proteína, uniones por medio de interacciones de puentes de hidrogeno.

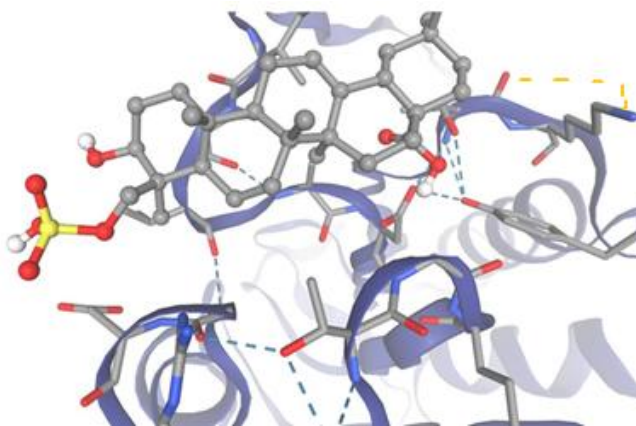


Figura 8. Casp-3 y Taraxerol *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.5 Interacciones entre FAS y principios activos de *H. indicum*

Los complejos generados entre la proteína Fas y los compuestos stigmasterol y lupeol derivados de *H. indicum*, fueron evaluados mediante docking dirigido. Las interacciones analizadas pueden ser visualizadas en las figuras 9 y 10, lo cual permite interpretar la orientación del ligando y su posible estabilidad en el sitio activo.

En la figura 9, se observa la interacción de la proteína con stigmasterol, esta unión tiene una energía de unión de -7.0 kcal/mol, con presencia de interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electrostáticas, a diferencia de las interacciones observadas entre lupeol y la proteína (figura 10), la cual se observan interacciones electrostáticas y tiene una energía de unión de -6.5 kcal/mol, aunque la energía es mayor en el principio activo lupeol, este tuvo uniones en residuos clave en sitios de unión de la proteína.

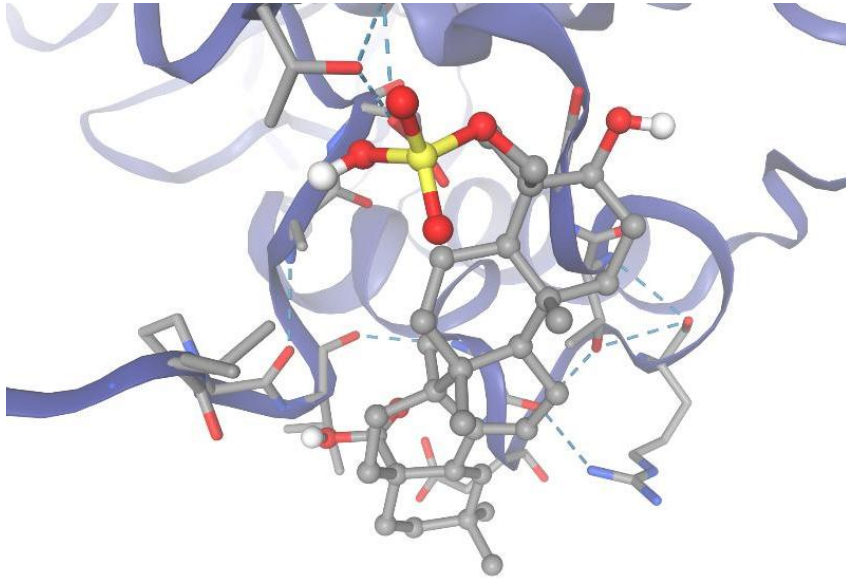


Figura 9. FAS y Stigmasterol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

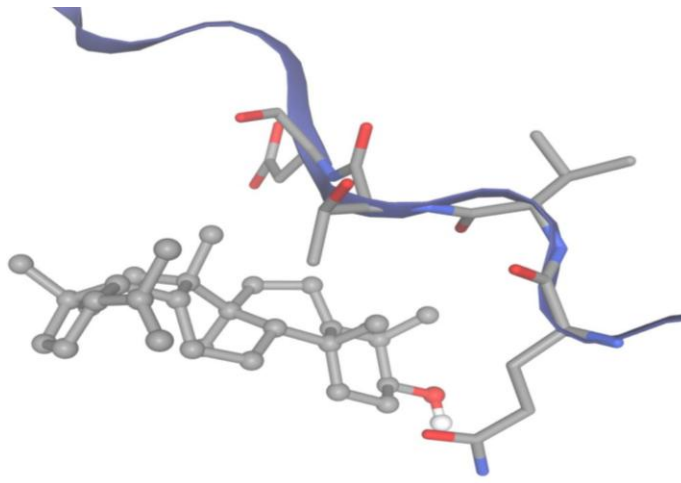


Figura 10. FAS y Lupeol de *H. indicum*, las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.6 Interacciones entre FAS y principios activos de *M. alceifolia*

Los complejos generados entre la proteína Fas y los compuestos quercetina y taraxerol derivados de *M. alceifolia*, fueron evaluados mediante docking dirigido. Las interacciones estudiadas pueden ser visualizadas en las figuras 11 y 12, lo cual permite interpretar la orientación del ligando y su posible estabilidad en el sitio activo.

Para las interacciones de la figura 11, que corresponden a quercetina con la proteína, se observan interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electroestáticas, la energía de unión para este acoplamiento es de -8.0 kcal/mol. En cuanto a las interacciones entre taraxerol y la proteína referenciada en la figura 12, se observan interacciones de tipo electroestáticas y puentes de hidrogeno, la energía de unión es de -6.8 kcal/mol para este complejo.

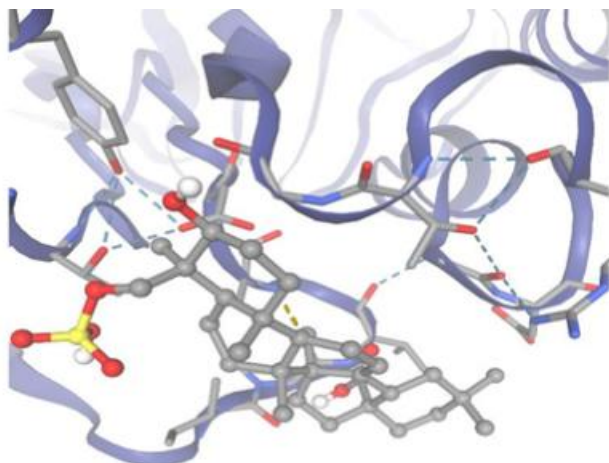


Figura 11. FAS y Quercetina de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

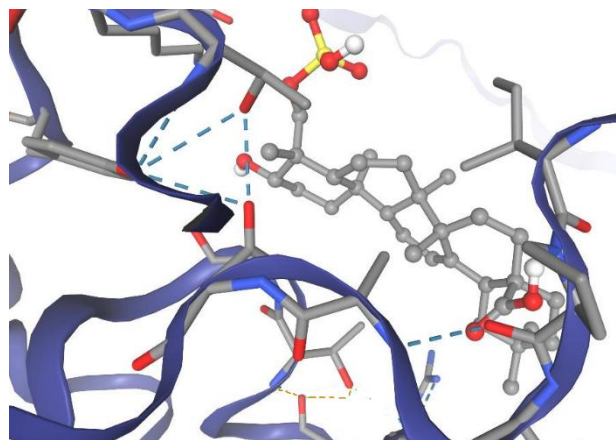


Figura 12. FAS y Taraxerol de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo

4.2.1.7 Interacciones entre BID y principios activos de *H. indicum*

Los complejos generados entre la proteína BID y el compuesto lupeol derivado de *H. indicum* fueron evaluados mediante docking dirigido. Las interacciones estudiadas pueden ser visualizadas en la figura 13, la energía de este acoplamiento es de -7.1 kcal/mol, con

presencia de puentes de hidrogeno en todas sus interacciones y ubicación del ligando lupeol en residuos ubicados cerca al sitio activo de la proteína.

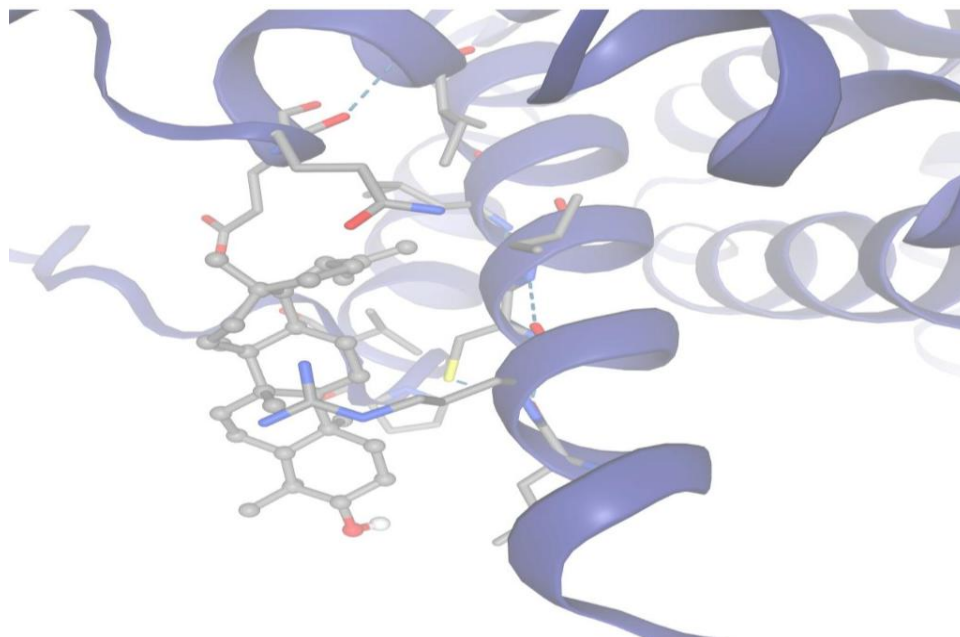


Figura 13. BID y Lupeol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.8 Interacciones entre BID y principios activos de *M. alceifolia*

Para *M. alceifolia* se realizaron los acoplamientos con los siguientes principios activos: flavona, quercetina y taraxerol, frente a la proteína BID, las interacciones evaluadas se refieren en las figuras 14, 15 y 16 respectivamente. Para las interacciones obtenidas entre flavona y BID (figura 14), la energía de unión es de -6.6 kcal/mol con presencia de interacciones electrostáticas e hidrofóbicas. Para los principios activos de quercetina y taraxerol (figura 15 y 16) las interacciones observadas son de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electrostáticas con una energía de unión de -6.4 kcal/mol para quercetina y -6.3 kcal/mol para taraxerol.

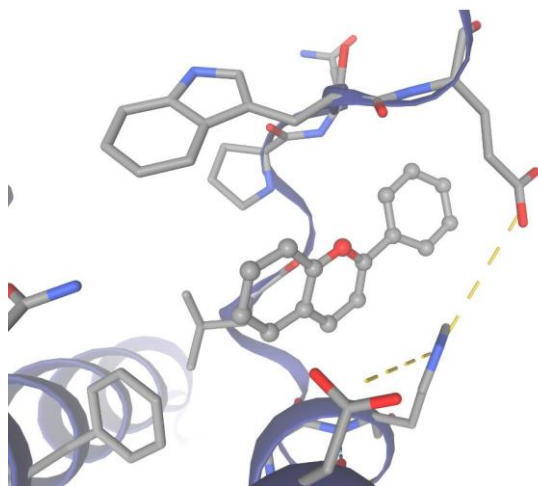


Figura 14. BID y Flavona de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

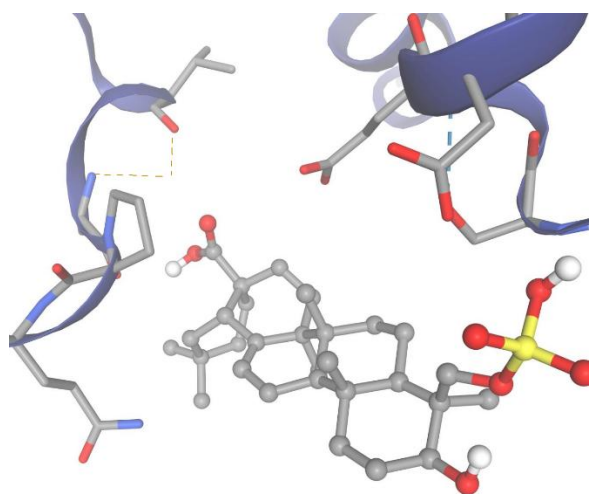


Figura 15 Bid y Quercetina de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

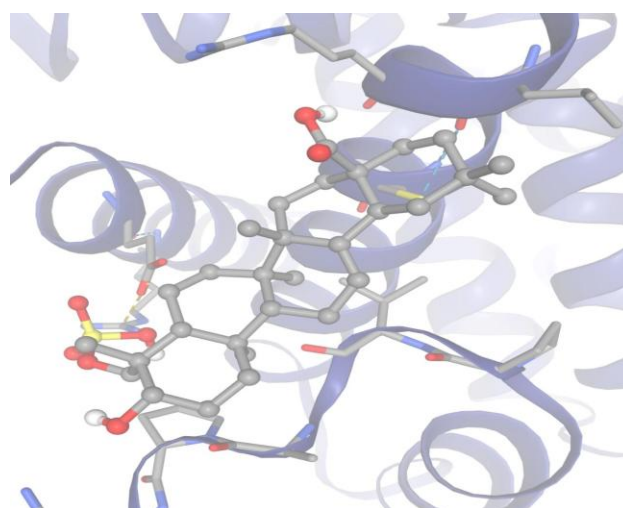


Figura 16. BID y Taraxerol de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.9 Interacciones entre BCL-2 y principios activos de *H. indicum*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína BCL-2 y el principio activo seleccionado: Lupeol de *H. indicum*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx, se presenta en la Figura 17. Esta unión se da en una cavidad hidrofóbica de la proteína, mediante interacciones de Van Der Waals y puentes de hidrógeno, con una energía de unión de -6.9 kcal/mol.

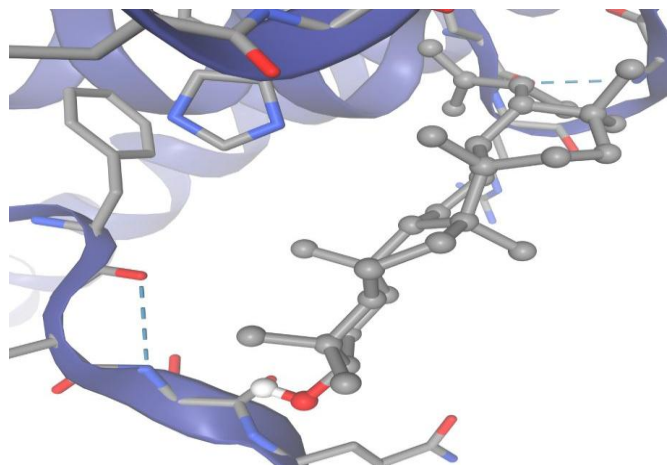


Figura 17. BCL-2 y Lupeol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.10 Interacciones entre BCL-2 y principios activos de *M. alceifolia*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína BCL-2 y los principios activos seleccionados (flavona, quercetina y taraxerol) de *M. alceifolia*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx se presenta a continuación. Las interacciones observadas se ilustran en la figura 18, 19, 20.

En las figuras 18 y 19, se observan los acoplamientos ente los ligandos flavona y quercetina, respectivamente y la proteína. El ligando flavona se encuentra en una zona mayormente hidrofóbica de BCL-2 y por su parte la quercetina en una cavidad superficial de la proteína. En ambas uniones se evidencian interacciones por puentes de hidrógeno, presentando una energía de unión de -6.8 kcal/mol entre los ligandos y la proteína.

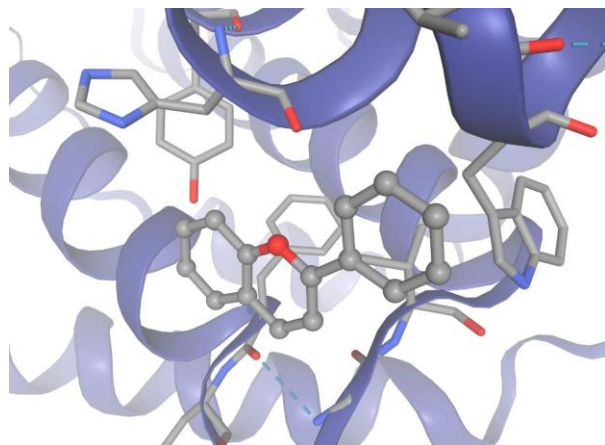


Figura 18. BCL-2 y Flavona *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

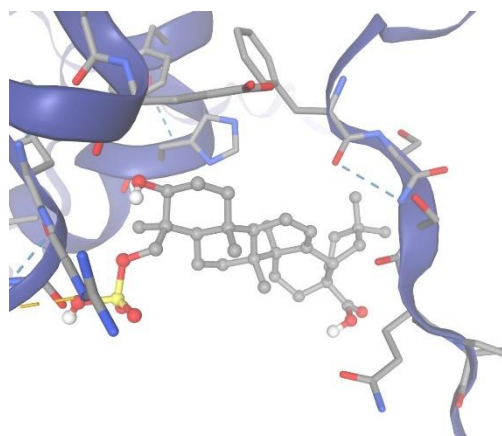


Figura 19. BCL-2 y Quercetina *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

En la figura 20, se observa la unión entre BCL-2 y el principio activo Taraxerol, el cual está ubicado en una cavidad hidrofóbica interna de la proteína, presentando interacciones hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y electrostáticas. La energía de unión de este acoplamiento es de -7.0 kcal/mol.

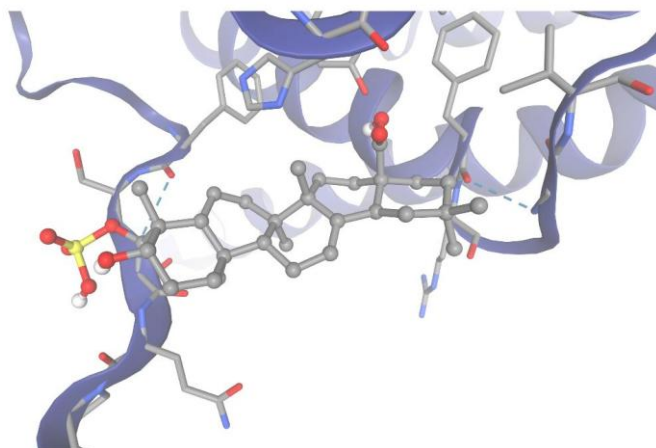


Figura 20. BCL-2 y Taraxerol *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.11 Interacciones entre RB1 y principios activos de *H. indicum*

El docking dirigido entre RB1 y los principios activos stigmasterol y lupeol de *H. indicum*, mostró interacciones relevantes en zonas funcionales del receptor. Las figuras 21 y 22 ilustran los complejos formados, evidenciando diferencias en el modo de unión de cada compuesto y su ajuste dentro del sitio activo.

En la figura 21 se observa la unión entre stigmasterol y la proteína, se observan interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electroestáticas, adicionalmente el complejo presenta una afinidad de unión de -7.5 kcal/mol.

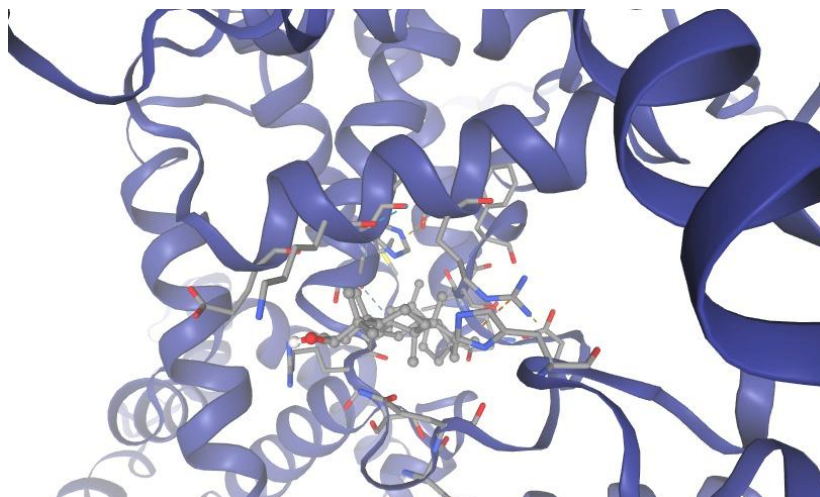
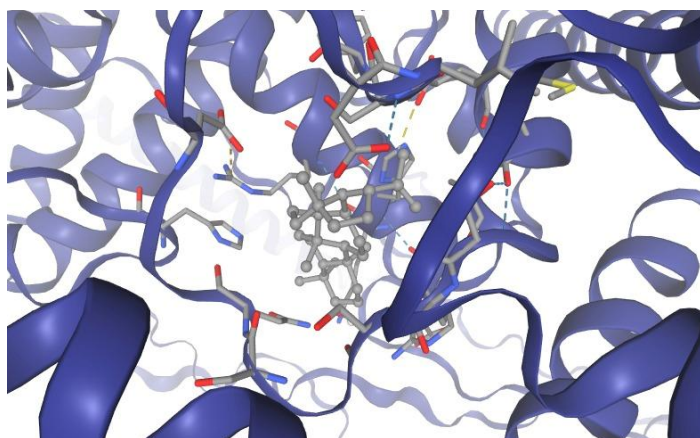


Figura 21. RB1 y Stigmasterol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.



La figura 22 se relaciona el resultado de las interacciones para el principio activo lupeol con la proteína, se observaron interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electrostáticas, la energía de unión para este acoplamiento es de -7.4 kcal/mol.

Figura 22. RB1 y Lupeol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.12 Interacciones entre RB1 y principios activos de *M. alceifolia*

Los complejos generados entre la proteína RB1 y los compuestos flavona y taraxerol derivados de *M. alceifolia* fueron evaluados mediante docking dirigido. Se destacan interacciones específicas en regiones funcionales de la proteína, visualizadas en las figuras 23 y 24, lo cual permite interpretar la orientación del ligando y su posible estabilidad en el sitio activo.

El análisis llevado a cabo para RB1 con flavona, se observaron la presencia de interacciones electrostáticas únicamente (figura 23), a diferencia de taraxerol (figura 24), el cual presentó interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electrostáticas con la proteína,

las energías de unión para los complejos son de -7.6 kcal/mol y -7.5 kcal/mol respectivamente.

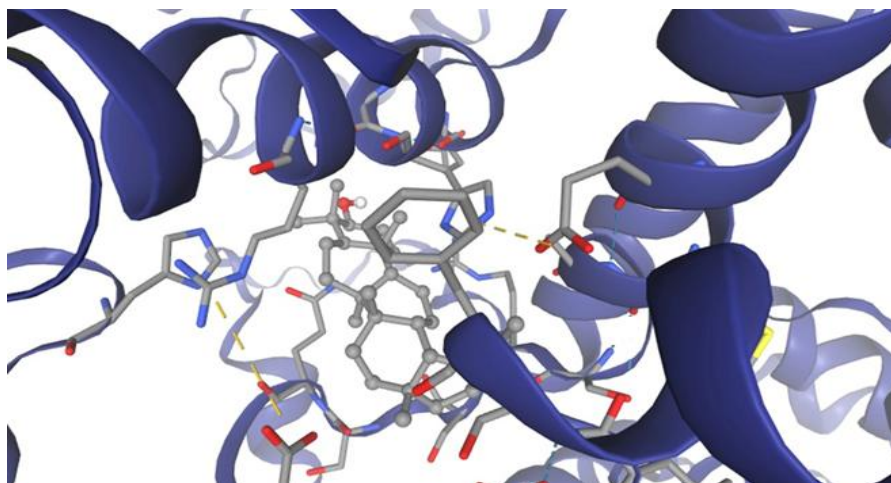


Figura 23. RB1 y Flavona de *M. alceifolia*, las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

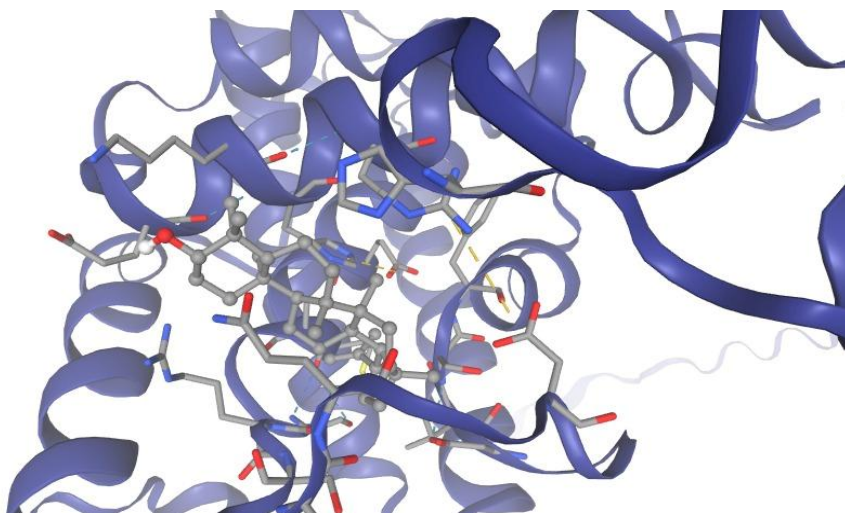


Figura 24. RB1 y Taraxerol de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.13 Interacciones entre BCL-XL y principios activos de *H. indicum*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína BCL-XL y el principio activo seleccionado: lupeol de *H. indicum*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx, se presenta en la Figura 25. Esta unión presenta interacciones electrostáticas, con una energía de unión de -8.3 kcal/mol.

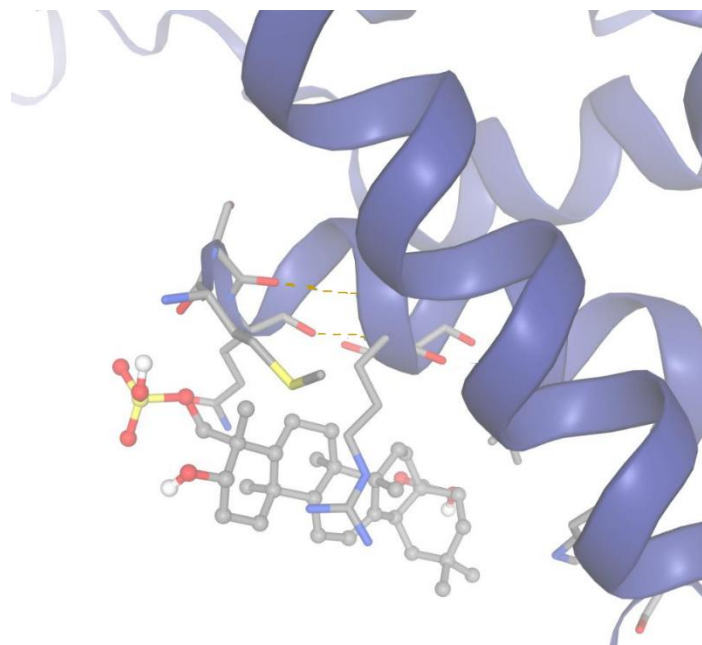


Figura 25. BCL-XL y Lupeol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.14 Interacciones entre BCL-XL y principios activos de *M. alceifolia*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína BCL-XL y los principios activos seleccionados (flavona, quercetina y taraxerol) de *M. alceifolia*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx se presenta a continuación. Las interacciones observadas se ilustran en la figura 26, 27 y 28.

En la figura 26, se observa el acoplamiento entre la BCL-XL y el ligando Quercetina, ubicándose esta en una hendidura superficial de la proteína, presentando interacciones de tipo electrostáticas y puentes de hidrógeno. La energía de unión tiene un valor de -7.7 kcal/mol.

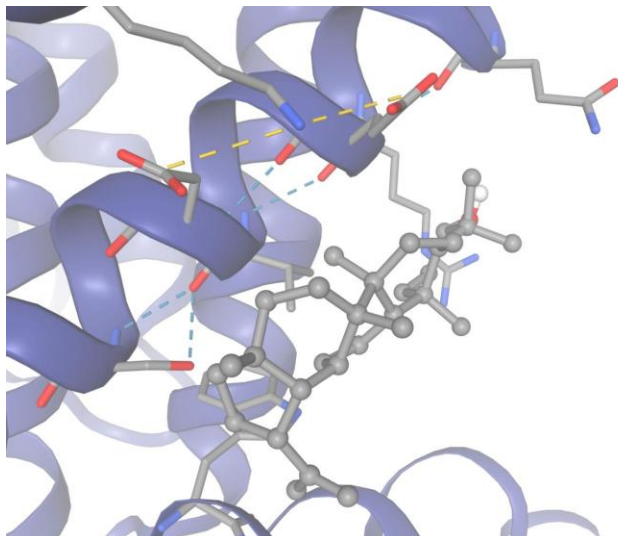
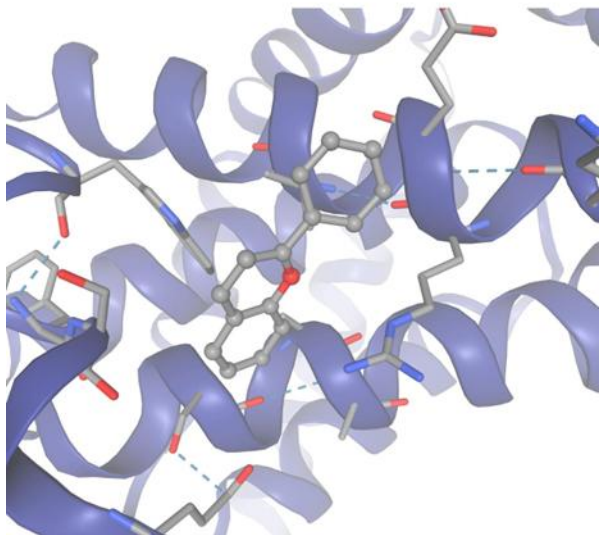


Figura 26. BCL-XL y Quercetina *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.



En la figura 27 se observa la unión del ligando Flavonoide con una energía de unión de -8.3 kcal/mol, ubicada en un sitio profundo en la proteína. Esta presenta interacciones en su mayoría de puentes de hidrógeno, con una energía de unión de -8.3 kcal/mol.

Figura 27. BCL-XL y Flavona *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

Adicionalmente, en la Figura 28 se observa el acoplamiento de la proteína BCL-XL y el ligando taraxerol, se da en una zona superficial de la proteína, mediante interacciones electrostáticas polares, puente de hidrógenos e hidrofóbicas. Con una energía de unión de -7.2 kcal/mol.

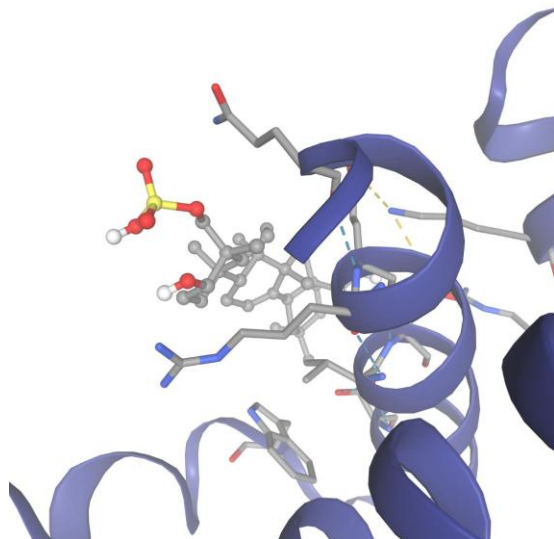


Figura 28. BCL-XL y Taraxerol *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.15 Interacciones entre IL-6 y principios activos de *H. indicum*

El docking dirigido entre IL-6 y los principios activos campesterol y lupeol de *H. indicum* mostró interacciones relevantes en zonas funcionales del receptor. La figura 29 ilustra los complejos formados, evidenciando diferencias en el modo de unión de cada compuesto.

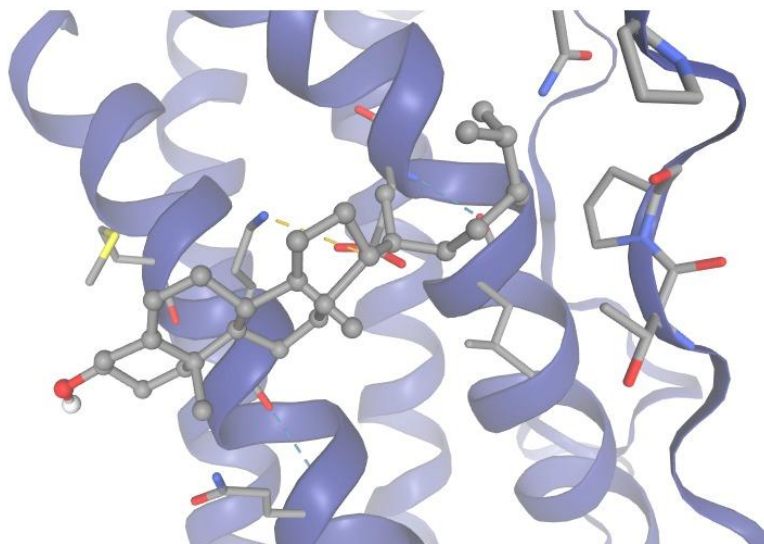
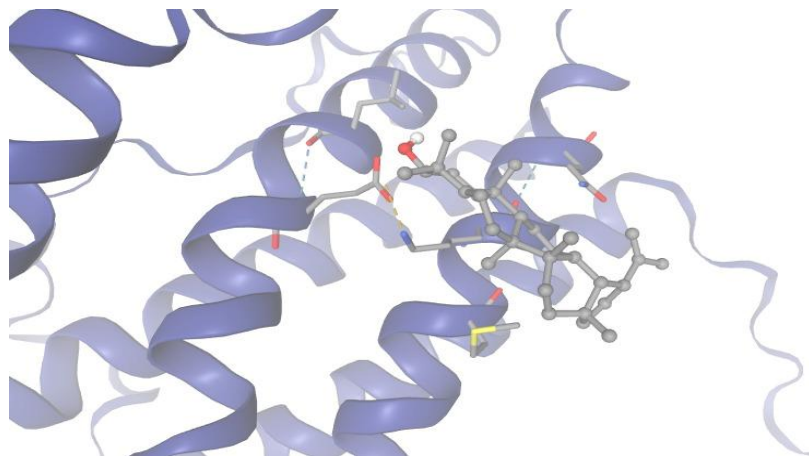


Figura 29. IL-6 y Campesterol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

La interacción de campesterol con la proteína IL-6 presenta una afinidad de -6.3 kcal/mol, teniendo interacciones químicas de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electroestáticas, se observan algunas interacciones de tipo Van der Waals, dada la proximidad entre las cadenas laterales de la proteína y la estructura central del ligando.



En la figura 30 se observan las interacciones entre lupeol y la proteína, con una energía de afinidad de -6.8 kcal/mol, interacciones mediadas por puentes de hidrogeno e interacciones electroestáticas.

Figura 30. IL-6 y Lupeol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.16 Interacciones entre IL-6 y principios activos de *M. alceifolia*

Se realizó el análisis de interacción entre IL-6 y los compuestos quercetina, taraxerol de *M. alceifolia*, seleccionados por su afinidad energética en el docking múltiple. Las imágenes figuras 31 y 32 evidencian los tipos de enlace establecidos y la inserción del ligando en el sitio catalítico o funcional de la proteína.

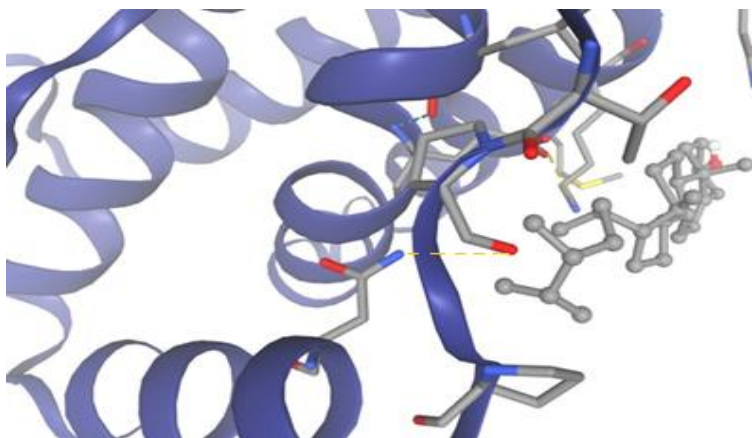


Figura 31. IL-6 y Quercetina de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

En cuanto al acoplamiento entre taraxerol y la proteína, se observa que el compuesto se acomoda de manera óptima en el sitio de unión, se ven múltiples interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones de tipo electroestáticas, la ubicación y energía de unión de -7.5 kcal/mol, sugieren un acoplamiento óptimo.

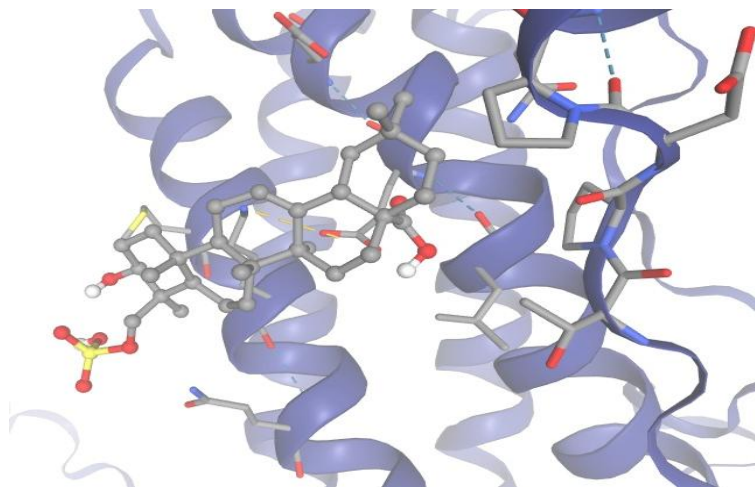


Figura 32. IL-6 y Taraxerol de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.17 Interacciones entre IL-1B y principios activos de *H. indicum*

Para la proteína IL-1B se presentan los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico con los principios activos stigmasterol y lupeol de la planta *H. indicum*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx. En la figura 33, se observa la interacción entre stigmasterol y la proteína, en donde se presentan interacciones de tipo puentes de hidrogeno e interacciones electroestáticas, de igual manera sucede para lupeol, referenciados en la figura 34. Para las uniones la energía es de -7.5 kcal/mol para el complejo formado por stigmasterol y -8.2 kcal/mol para el complejo formado por lupeol.

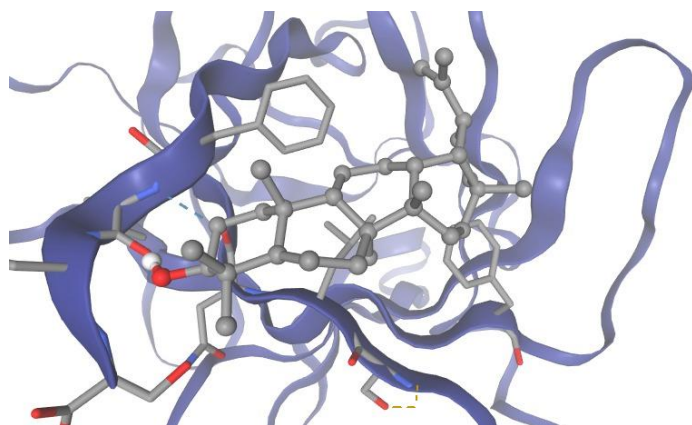


Figura 33. IL1B y stigmasterol *H. indicum* los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

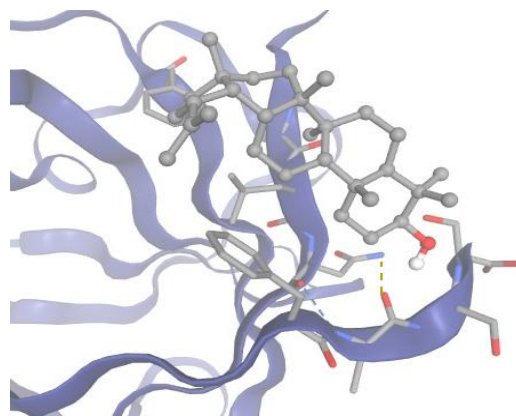


Figura 34. IL1B y lupeol *H. indicum* los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.18 Interacciones entre IL-1B y principios activos de *M. alceifolia*

Los complejos generados entre la proteína IL1B y los compuestos quercetina y taraxerol derivados de *M. alceifolia* fueron evaluados mediante docking dirigido. En las figuras 35 y 36, se observan las interacciones que presentan puentes de hidrógenos y uniones electroestáticas. Las energías de unión para el complejo formado por quercetina son de -8.3 kcal/mol y para el complejo formado taraxerol es de -7.7 kcal/mol.

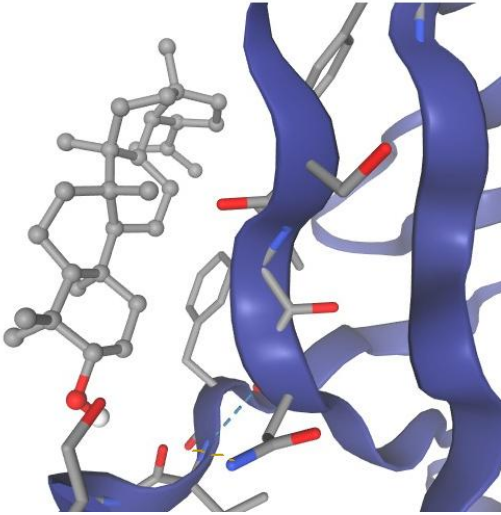


Figura 35. IL1B y Quercetina *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

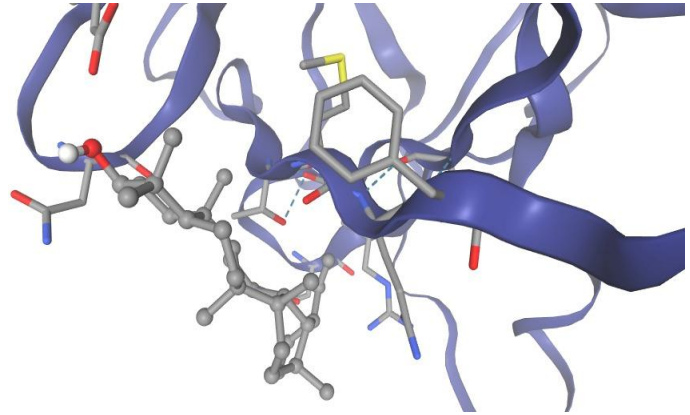


Figura 36. IL1B y Taraxerol *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.19 Interacciones entre IL10 y principios activos de *H. indicum*

Se realizó el análisis de interacción entre IL10 y los compuestos campesterol, stigmasterol, y lupeol de *H. indicum*, seleccionados por su afinidad energética en el docking múltiple. Las imágenes (figuras 37, 38 y 39) evidencian los tipos de enlace establecidos y la inserción del ligando en el sitio catalítico o funcional de la proteína. En los tres acoplamientos se observaron interacciones de tipo electroestáticas, el ligando lupeol presenta uniones en aminoácidos que tienen una gran importancia en la estabilidad e interacción con el receptor de acuerdo con el tipo de interacciones que presentan y la zona donde se encuentran. La energía de unión para el complejo de campesterol -8.5 kcal/mol, stigmasterol -8.5 kcal/mol y para lupeol -9.0 kcal/mol.

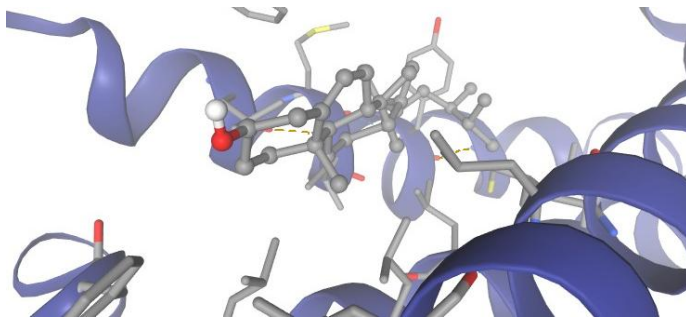


Figura 37. IL10 y Campesterol *H. indicum*, las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

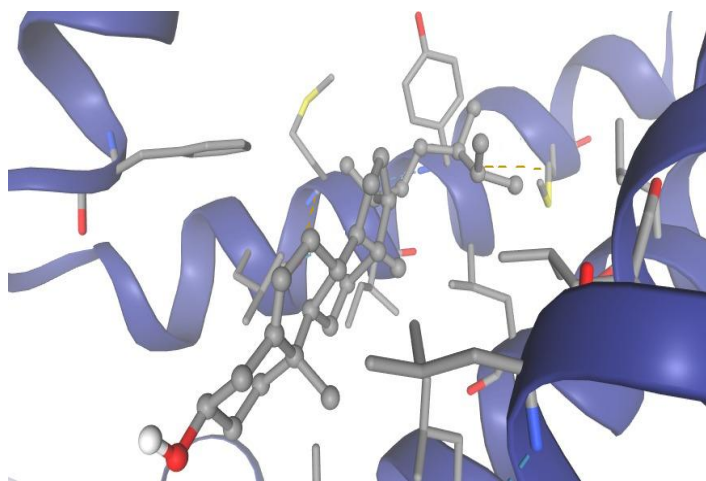


Figura 38. IL10 y Stigmasterol *H. indicum*, las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

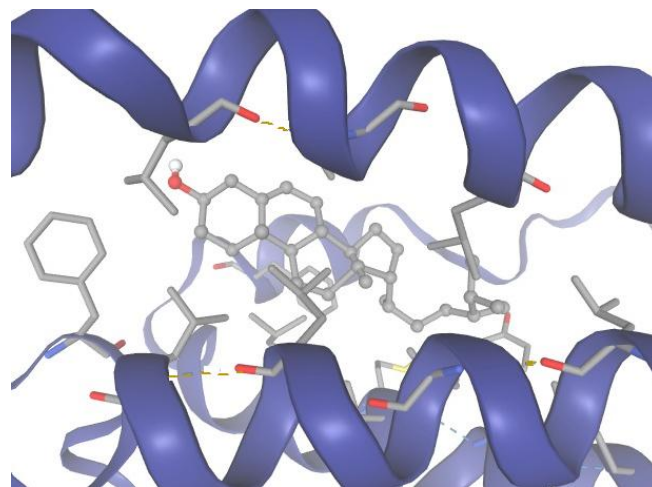


Figura 39. IL10 y Lupeol *H. indicum*, las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.20 Interacciones entre IL10 y principios activos de *M. alceifolia*

En el acoplamiento obtenido para *M. alceifolia* y la proteína fue el principio activo quercetina que presentó la mejor energía de unión de -7.9 kcal/mol en el acoplamiento molecular múltiple. Para el acoplamiento dirigido, se analizaron las interacciones relacionadas en la figura 40, donde se observan interacciones tipo puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas.

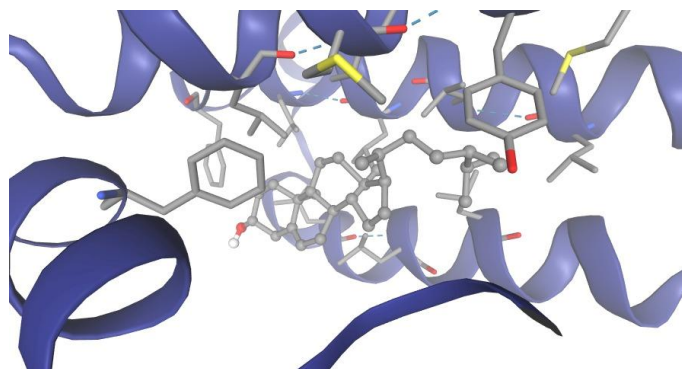


Figura 40. IL10 y Quercetina *M. alceifolia*, las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.21 Interacciones entre y principios activos de *H. indicum*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína IFNGR1 y los principios activos seleccionados lupeol y stigmasterol de *H. indicum*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx se presenta a continuación. Las interacciones observadas se ilustran en las figuras 37 y 38.

En las figuras 41 y 42, se observan los acoplamiento entre los ligandos lupeol y stigmasterol, respectivamente y la proteína. El ligando Lupeol se encuentra en una cavidad lateral interna de la IFNGR1 y por su parte el Stigmasterol en la superficie de la proteína. En ambas uniones se evidencian interacciones predominantemente hidrofóbicas, presentando una energía de unión entre ligando-proteína de -8.9 kcal/mol para el Lupeol y de -8.4 kcal/mol para el Stigmasterol.

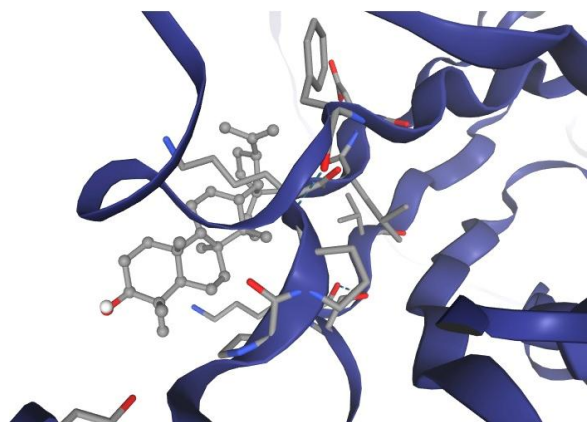


Figura 41. IFNGR1 y Lupeol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

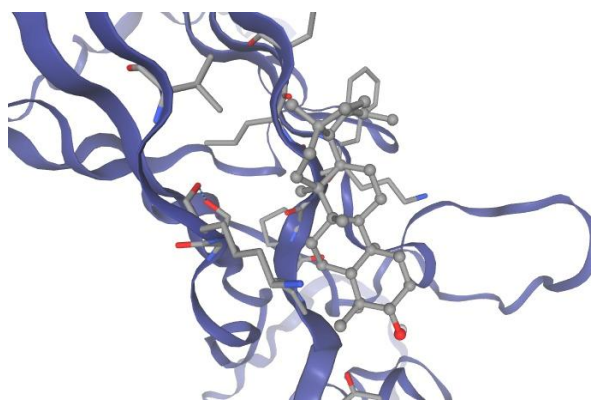


Figura 42. IFNGR1 y Stigmasterol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.22 Interacciones entre IFNGR1 y principios activos de *M. alceifolia*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína IFNGR1 y los principios activos seleccionados quercetina y taraxerol de *M. alceifolia*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx se presenta a continuación. Las interacciones observadas se ilustran en la figura 43 y 44.

En las figuras, se observan los acoplamiento entre los ligandos quercetina y taraxerol, respectivamente y la proteína. El ligando Quercetina se encuentra en una cavidad superficial

de la IFNGR1 y por su parte el Taraxerol en una cavidad interna profunda de la proteína. En ambas uniones se evidencian interacciones de tipo puentes de hidrógeno y para el caso del Taraxerol de tipo electrostático, presentando una energía de unión entre ligando-proteína de -9.1 kcal/mol para la Quercetina y de -9.0 kcal/mol para el Taraxerol.

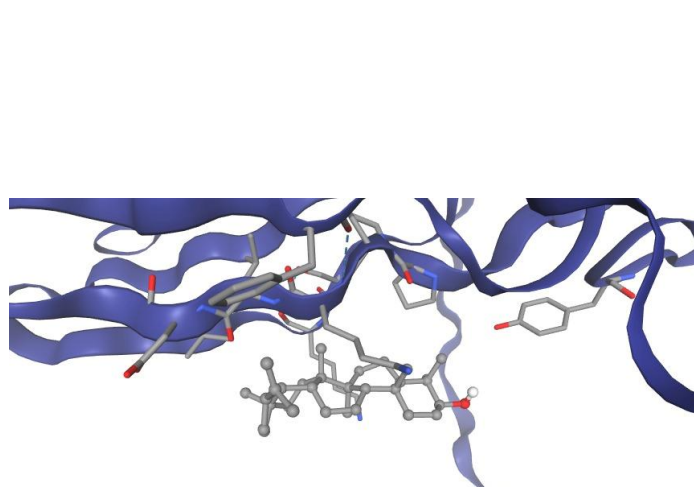


Figura 43. IFNGR1 y Quercetina *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

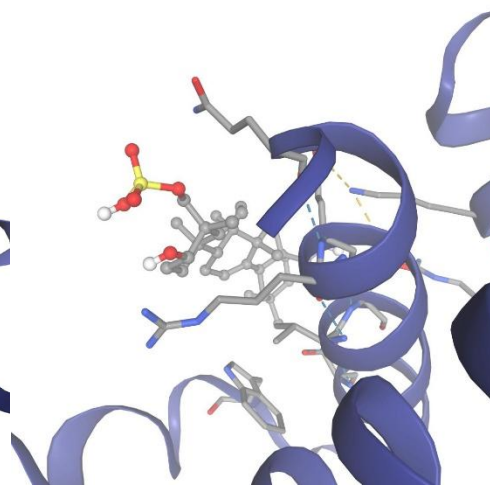


Figura 44. IFNGR1 y Taraxerol *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.23 Interacciones entre HSP90 y principios activos de *H. indicum*

A continuación, se presentan los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína HSP90 y los principios activos seleccionados (lupeol y campesterol) de *H. indicum*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx.

Las interacciones observadas se ilustran en las figuras 45 y 46.

En la figura 45, se observa la interacción entre el ligando campesterol y la proteína. El ligando se encuentra ubicado dentro del sitio activo de HSP90. Aunque lupeol tiene baja polaridad, se observa una interacción por puente de hidrógeno e interacciones de tipo electroestáticas, la energía de unión entre el ligando y la proteína es de -7.3 kcal/mol.

Así mismo en la figura 46, donde se representaron las interacciones dadas entre lupeol y HSP90, se observan interacciones similares a las observadas con campesterol.

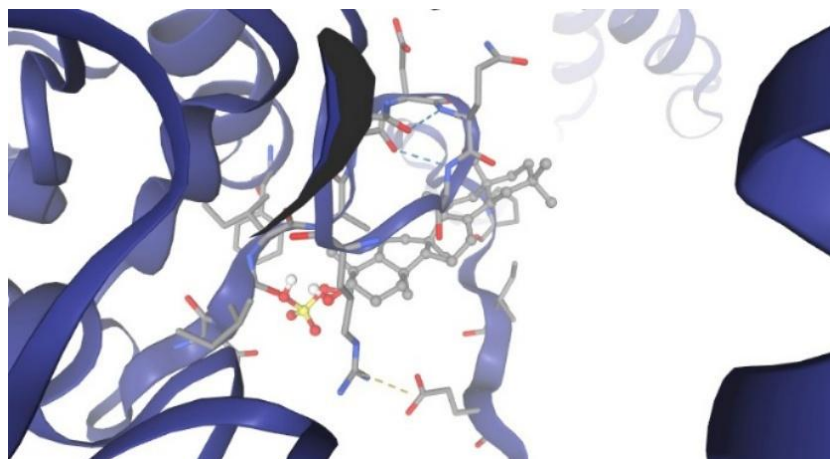


Figura 45. HSP90 y Campesterol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

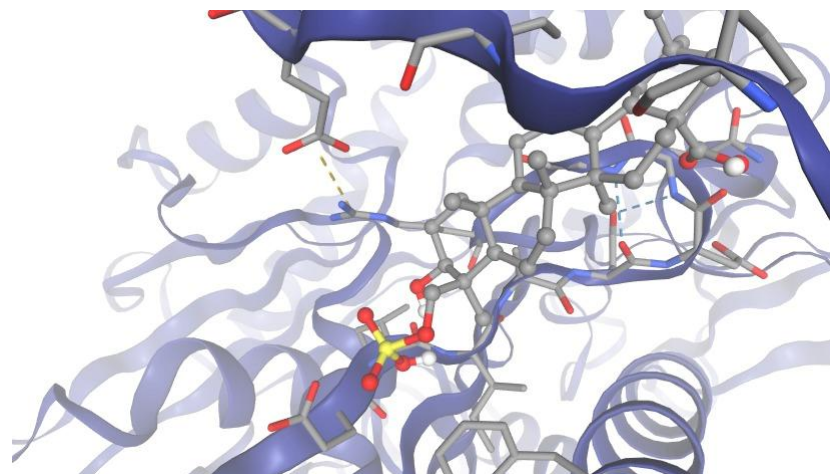


Figura 46. HSP90 y Lupeol de *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.24 Interacciones entre HSP90 y principios activos de *M. alceifolia*

Los complejos generados entre la proteína HSP90 y los compuestos quercetina y taraxerol derivados de *M. alceifolia*, fueron evaluados mediante docking dirigido. Se destacan interacciones específicas en regiones funcionales de la proteína, visualizadas en las figuras 47 y 48, lo cual permite interpretar la orientación del ligando y su posible estabilidad en el sitio activo.

En la figura 47 se observa la interacción entre quercetina y la proteína, esta unión presenta una energía de unión de -8.0 kcal/mol. Las interacciones se dieron de tipo de puentes de hidrogeno e interacciones electrostáticas en sitios activos de la proteína.

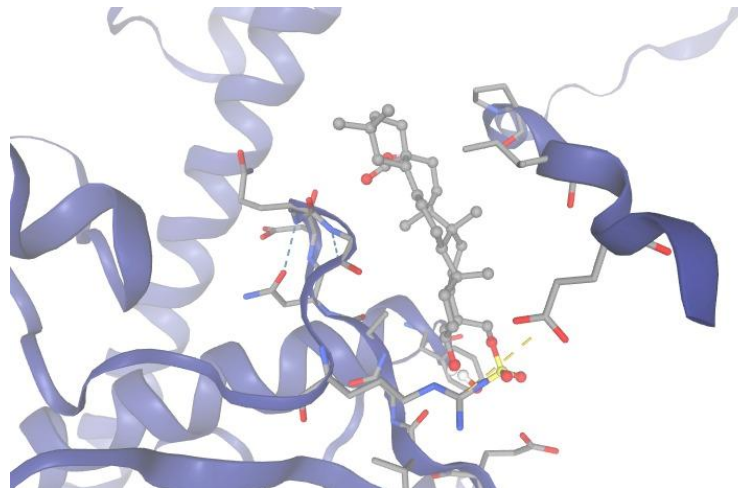


Figura 47. HSP90 y Quercetina de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

En cuanto a la interacción entre Taraxerol y la proteína, se observa en la figura 48, que al igual que quercetina, presenta los dos tipos de interacciones, sin embargo, en esta interacción hay una mayor afinidad con residuos presentes en sitios activos. La energía de unión de esta interacción es de -8.5 kcal/mol.

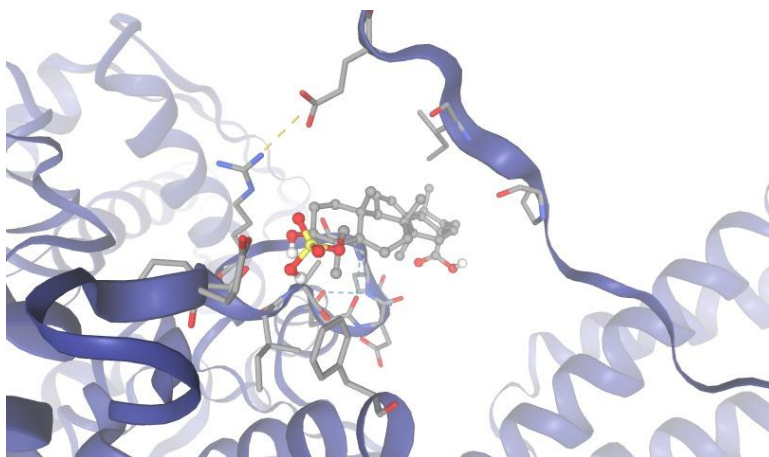


Figura 48. HSP90 y Quercetina de *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.25 Interacciones entre PGK1 y principios activos de *H. indicum*

Para la proteína PGK1 se presentan los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico con los principios activos seleccionados stigmasterol, lupeol y campesterol de *H. indicum*, escogidos en la etapa de multiscreening realizada con PyRx.

Las interacciones observadas se ilustran en las figuras 49 y 50.

En la figura 49, se observa la interacción entre el ligando lupeol y la proteína. El ligando se encuentra ubicado dentro del sitio activo de PGK1. Aunque lupeol tiene baja polaridad, se observa una interacción por puente de hidrógeno con residuos polares cercanos (líneas punteadas azules), la energía de unión entre el ligando y la proteína es de -7.1 kcal/mol.

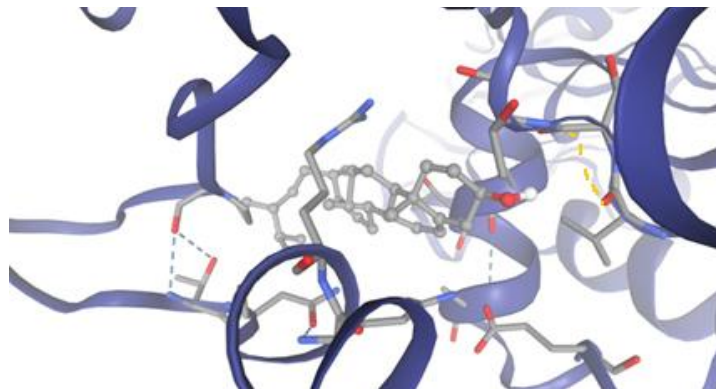


Figura 49. PGFK-1 y Lupeol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electroestáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

En la figura 50, se observa la unión entre el ligando stigmasterol y la proteína, con una energía de unión de -7.9 kcal/mol, Stigmasterol se ubica en una cavidad hidrofóbica de PGK1. En la interacción se evidencian puentes de hidrógeno con residuos polares, lo que refuerza su interacción

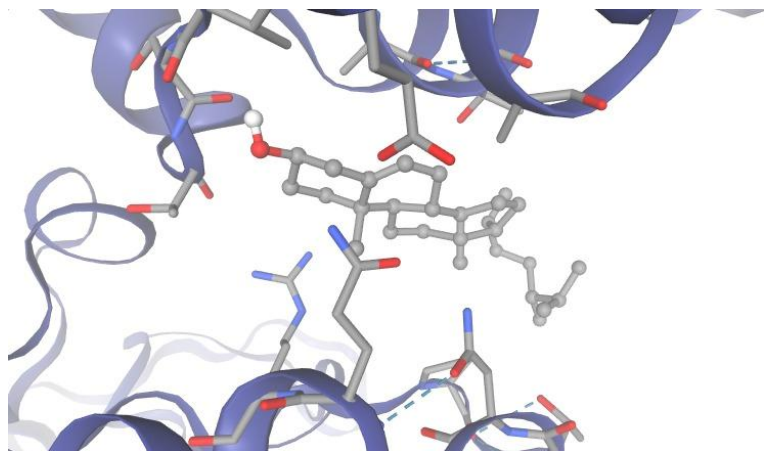


Figura 50. PGFK-1 y Stigmasterol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, para este acoplamiento no se obtuvieron otros tipos de interacciones.

En la figura 51, se observa la unión del ligando campesterol con una energía de unión de - 8.3 kcal/mol, la unión se destaca en el sitio, con interacción predominante a través de fuerzas de Van der Waals, hidrofóbicas e interacciones por puentes de hidrógeno.

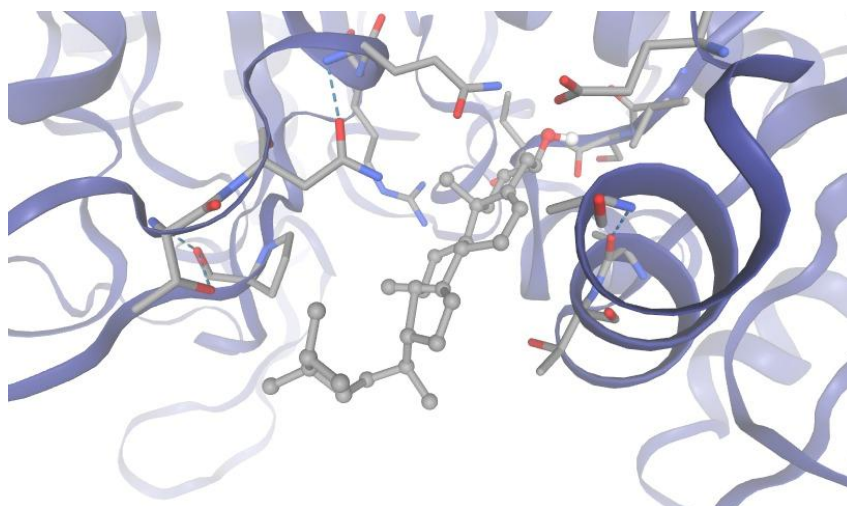


Figura 51. PGFK-1 y Campesterol *H. indicum*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.26 Interacciones entre PGK1 y principios activos de *M. alceifolia*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína PGK1 y el principio activo seleccionado quercetina de *M. alceifolia*, escogido en la etapa de multiscreening realizada con PyRx se presenta a continuación. Las interacciones observadas se ilustran en la figura 52.

En la interacción observa la interacción entre quercetina y la proteína, la energía de unión es de -7.7 kcal/mol, se observan interacciones por puentes de hidrógeno e interacciones de tipo electrostáticas.

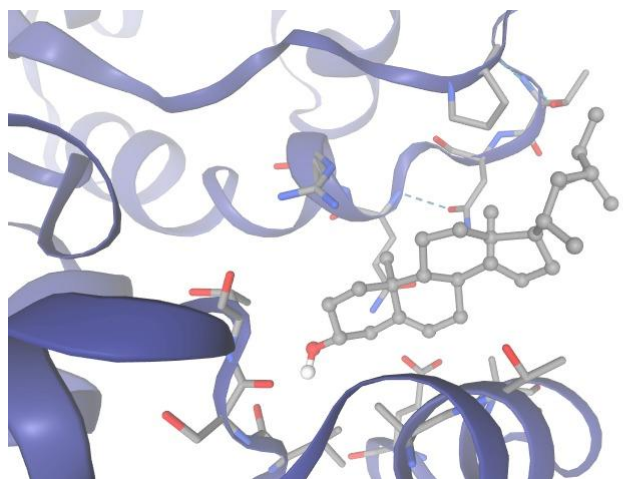


Figura 52. PGFK-1 y Quercetina *M. alceifolia*, los puentes de hidrogeno se observan en líneas punteadas azul, y las interacciones electrostáticas se ven en línea punteadas amarillas, los colores rojos, azules, blancos y grises representan los átomos en el modelo.

4.2.1.27 Interacciones entre TGF- β 1 y principios activos de *H. indicum*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína TGF- β 1 y los principios activos seleccionados lupeol y stigmasterol de *H. indicum*, escogido en la etapa de multiscreening realizada con PyRx se presenta a continuación. Las interacciones observadas se ilustran en las figuras 53 y 54, donde se analizan interacciones electrostáticas, como fuerzas de Van der Waals y reacciones hidrofóbicas.

La energía de unión para lupeol es de -6.2 kcal/mol y para stigmasterol -8.7 kcal/mol.

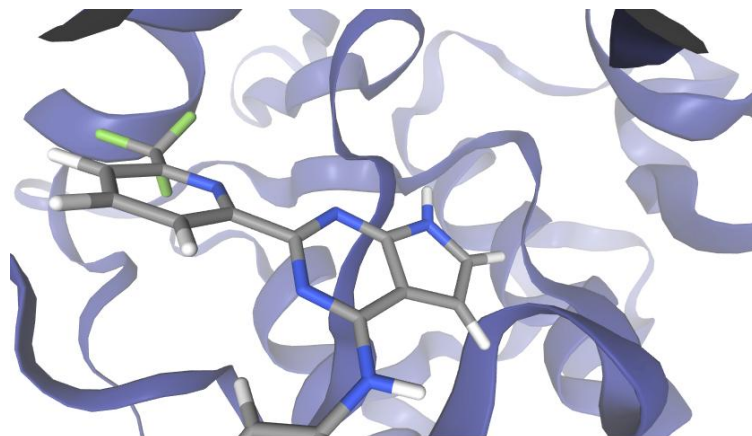


Figura 53. TGF- β 1 y Lupeol *H. indicum*, interacciones electrostáticas sin representación.

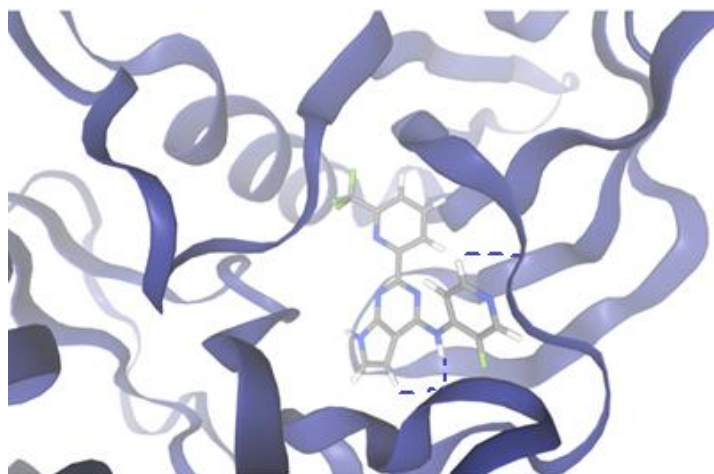


Figura 54. TGF- β 1 y Stigmasterol *H. indicum*, las líneas punteadas representan las interacciones de tipo puentes de hidrogeno.

4.2.1.26 Interacciones entre TGF- β 1 y principios activos de *M. alceifolia*

Los resultados del análisis de interacciones moleculares obtenidas mediante estudios de docking específico entre la proteína TGF- β 1 y los principios activos seleccionados flavona y taraxerol de *M. alceifolia*. Las interacciones observadas se ilustran en la figura 55 y 56 respectivamente.

En la interacción observa la interacción entre quercetina y la proteína, la energía de unión es de -6.8 kcal/mol, se observan interacciones de tipo electroestáticas y par taraxerol interacciones por puentes de hidrógeno y electroestáticas por cercanía con la proteína, con una energía de afinidad de -9.0 kcal/mol.

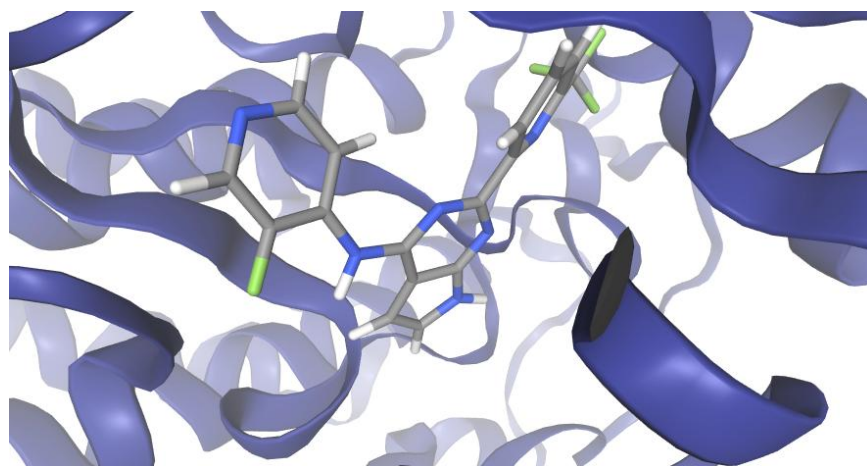


Figura 55. TGF- β 1 y Flavona *M. alceifolia*, interacciones electroestáticas.

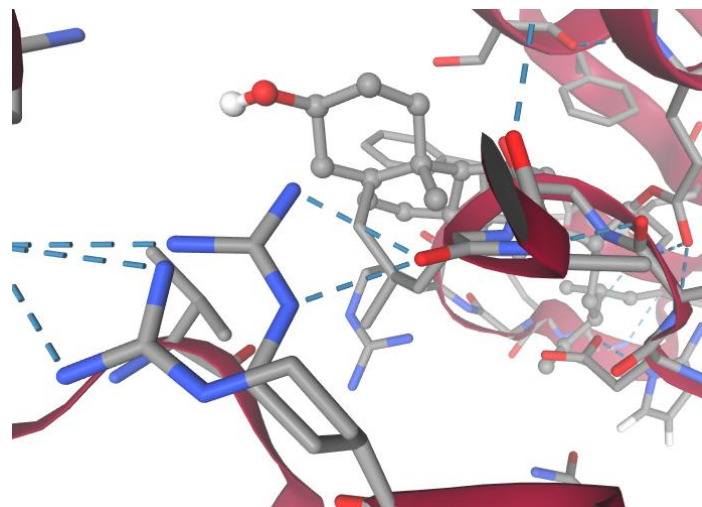


Figura 56. TGF- β 1 y Taraxerol *M. alceifolia*, interacciones tipo puentes de hidrogeno líneas punteadas azules, interacciones electroestáticas.

4.3 Análisis de interacciones proteína-ligando para cada una de las proteínas.

Con base en los valores de energía de acoplamiento, los residuos aminoacídicos involucrados y los tipos de interacciones identificadas, se llevó a cabo un análisis detallado para cada una de las catorce proteínas evaluadas. Este análisis permitió destacar los aminoácidos clave implicados en la unión con los ligandos, así como interpretar la relevancia de dichas interacciones en términos de afinidad y especificidad molecular. A continuación, se presentan los resultados correspondientes a cada complejo proteína-ligando.

PROTEÍNA	MEJOR LIGANDO	PLANTA	AMINOACIDOS CON LAS MEJORES INTERACCIONES	INTERPRETACIÓN DE LOS ACOPLES
1. Bcl-2. PDB 1G5M	Afinidad máxima: Taraxerol (-7,0 kcal/mol)	<i>M.alceifolia</i>	Asn143, Phe212.	Taraxerol presenta actividad con la región/zona donde se encuentra el dímero de Bcl-2, cerca al dominio BH3 el cual es vital para la unión de proteínas proapoptóticas, lo cual sugiere que la unión de los ligandos a este sitio podría inhibir su función antiapoptótica.
2. Caspasa 3. PDB 2J30	Afinidad máxima: Taraxerol (-7,3 kcal/mol)	<i>M.alceifolia</i>	Trp206, Arg207, Tyr204.	La unión en el sitio activo de la proteína con la presencia de aminoácidos que favorecen reacciones catalíticas apunta a un posible efecto estabilizador sobre la forma activa de caspasa 3, permitiendo así que la estructura 3D de la proteína se conserve y cumpla con sus funciones proapoptóticas.

<p>3. Factor de necrosis tumoral FAS. PDB 3TJE</p>	<p>Afinidad máxima: Lupeol (-6,5 kcal/mol)</p>	<p><i>H. indicum</i></p>	<p>Trp176.</p>	<p>El lupeol se une a regiones clave para la oligomerización del receptor, lo cual podría permitir mejorar la formación del trímero, pudiendo potenciar la señal apoptótica extrínseca o inhibirla,</p>
<p>4. Proteína BID. PDB 2BID</p>	<p>Afinidad máxima: Lupeol (-7,1 kcal/mol)</p>	<p><i>H. indicum</i></p>	<p>Gln26, Arg34, Asp38, Trp51.</p>	<p>Al igual que en FAS, el lupeol podría estabilizar la conformación de tBID, interfiriendo con la translocación mitocondrial y la activación de BAX, pudiendo igualmente potenciar o inhibir el paso de BID a tBID.</p>
<p>5. Proteína asociada a retinoblastoma. PDB 6O9G</p>	<p>Afinidad máxima: Taraxerol (-7,8 kcal/mol)</p>	<p><i>M.alceifolia</i></p>	<p>Arg500, Asp507, Glu545, His733.</p>	<p>El ligando presentó una unión a los aminoácidos relacionados, los cuales tienen importancia ya que se encuentran cerca al dominio que tiene actividad supresora de tumores. Lo cual podría tener dos posibles efectos favorecer o inhibir la unión a E2F. (50)</p>
<p>6. Interleucina 6. PDB 1ALU</p>	<p>Afinidad máxima: Taraxerol (-7,5 kcal/mol)</p>	<p><i>M.alceifolia</i></p>	<p>Leu92, Thr117, Asn91, Lys94.</p>	<p>Se observó actividad en los aminoácidos mencionados en donde Lys94 y Asn91 según estudios hacen parte del sitio de unión al receptor gp130, dada esta ubicación podría estar involucrada en la actividad para la activación de STAT3. (51)</p>
<p>7. Receptor de interferón gamma. PDB 1FG9</p>	<p>Afinidad máxima: Quercetina (-9,1 kcal/mol)</p>	<p><i>M.alceifolia</i></p>	<p>Asn153, Ile169, Thr189, Phe151, Tyr168.</p>	<p>En general los aminoácidos en mención presentan interacciones que participan en la afinidad de la unión del complejo ligando-receptor lo cual permite la especificidad y estabilidad de esta, la unión del ligando a estos aminoácidos podría sugerir una modificación en la unión de IFN-γ y por ende no desarrollar la cascada de señalización JAK-STAT, afectando la respuesta inmune antitumoral. (52)</p>
<p>8. Interleucina 1 beta. IL-1β PDB 9ILB</p>	<p>Afinidad máxima: Quercetina (-8,3 kcal/mol)</p>	<p><i>M.alceifolia</i></p>	<p>Trp108, Tyr113, Asn205, Lys210, Glu111.</p>	<p>El ligando presenta una unión en los aminoácidos relacionados, los cuales tienen una participación de estabilización, reconocimiento de receptores, conformación específica o torsiones en la cadena que le confieren su actividad y de conservación, respectivamente, en la proteína, teniendo en cuenta que quercetina presenta unión a estos residuos, es probable que se obtenga una actividad antiinflamatoria como resultado.</p>
<p>9. Interleucina 10. PDB 2ILK</p>	<p>Afinidad máxima: Lupeol (-9,0 kcal/mol)</p>	<p><i>H. indicum</i></p>	<p>Leu44, Phe48, Arg45, Tyr90, Leu116.</p>	<p>Teniendo en cuenta que esta proteína en el desarrollo de cáncer de mama presenta actividad dual es necesario corroborar su actividad <i>in vitro</i> y determinar en qué fases del desarrollo del cáncer sería más beneficioso modular su respuesta y respectivas uniones. El ligando presenta uniones en aminoácidos que tienen una gran importancia en la estabilidad e interacción con el receptor de acuerdo con el tipo de</p>

				interacciones que presentan y la zona donde se encuentran, por ello es muy probable que la unión y estabilidad de la unión del complejo interfiera con la cascada de señalización. (53)
10. Fosfoquinasa 1. PDB 6GNG	Afinidad máxima: Campesterol (-8,3 kcal/mol)	<i>H. indicum</i>	Asp52, Ala42, Phe188, Lys191, Lys192.	La actividad del ligando sobre este receptor teniendo en cuenta los aminoácidos en mención indica un posible efecto sobre su actividad catalítica, interferencia en uniones a sustrato y por ende llevando a una alteración del metabolismo glucolítico tumoral (efecto Warburg). (54)
11. HSP90. PDB 5J20	Afinidad máxima: Taraxerol (-8,5 kcal/mol)	<i>M. alceifolia</i>	Arg78, Asn153, Thr228, Asp227, Tyr151.	Taraxerol presentó uniones en los aminoácidos o residuos que se encuentran en el dominio N-terminal de la proteína, donde se encuentra el sitio de unión al ATP. Lo que sugiere una inhibición de la actividad de la chaperona. (55)
12. P53. PDB 2OCJ	Afinidad máxima: Lupeol (-7,5 kcal/mol)	<i>H. indicum</i>	Glu285, Asn288, Lys292, Glu346.	Los residuos mencionados en donde el ligando tuvo su mejor afinidad son residuos que se encuentran en el dominio central de la proteína, esta unión indica una posible estabilización o activación de P53 en su forma activa o en casos donde se presenten mutaciones presentar una restauración de su función. (56)
13. Bcl2-like protein. PDB 1YSG	Afinidad máxima: Flavona (-8,6 kcal/mol)	<i>M. alceifolia</i>	Ala93, Phe97, Tyr101, Tyr195, Ser203.	El principio activo Flavona presenta actividad con la región/zona donde se encuentra el dímero de Bcl-2, cerca al dominio BH3 el cual es vital para la unión de proteínas proapoptóticas, lo cual sugiere que la unión de los ligandos a este sitio podría bloquear la dimerización de Bax/Bak.
14. TGFBR1. PDB 6B8Y	Afinidad máxima: Taraxerol (-9,0 kcal/mol)	<i>M. alceifolia</i>	Thr282, Cys293, Asp333, Arg277, Trp330.	El ligando presentó una afinidad de unión en residuos que se encuentran cercanos al dominio quinasa de la proteína lo que sugiere una posible inhibición de la fosforilación y por ende impidiendo la activación del complejo SMAD el cual permite el desarrollo de la transición epitelio-mesénquima EMT y así mismo la proliferación y angiogénesis. (57)

Tabla 12. Interpretación de los resultados obtenidos en Autodock Vina.

De acuerdo con los datos relacionados en la tabla 13, los dos principios activos que presentan mejor afinidad en su unión a diferentes proteínas son Quercetina y Taraxerol.

4.4 Evaluación de la toxicidad biológica de los principales compuestos activos mediante ADMET

Como parte del análisis integral del potencial terapéutico de los principios activos seleccionados de *Malachra alceifolia*: quercetina, flavona y taraxerol y *Heliotropium indicum*: lupeol, se realizó una predicción *in silico* de propiedades toxicológicas utilizando la plataforma ADMETLab 2.0. Esta herramienta, basada en modelos de aprendizaje automático validados experimentalmente, permite estimar parámetros farmacocinéticos y toxicológicos esenciales que ayudan a evaluar la seguridad de los compuestos antes de avanzar hacia estudios experimentales.

El análisis ADMET se centró en la predicción de toxicidades clave como hepatotoxicidad, neurotoxicidad, mutagenicidad (prueba de Ames), cardiotoxicidad (prolongación del intervalo QT) y toxicidad general aguda. Estas características son determinantes para la selección y priorización de candidatos bioactivos con perfiles de seguridad adecuados, esto enfocado a los cuatro principios activos que se seleccionaron posterior a los estudios acoplamiento molecular múltiple y que a los acoplamientos dirigidos presentaron los mejores valores en energía de afinidad.

Los resultados permiten discriminar entre compuestos con alto riesgo toxicológico y aquellos con mejor perfil de seguridad, contribuyendo así a una selección más racional y fundamentada de posibles agentes terapéuticos frente al cáncer de mama.

A continuación, se resumen los resultados individuales para cada compuesto evaluado.

Lupeol	
Tipo de toxicidad	Probabilidad
Neurotoxicidad	-3.33% a 7.43% de probabilidad
Toxicidad hepática DILI	0.00% de probabilidad de causar daño hepático
Toxicidad cardíaca hERG	1uM: 0% de probabilidad
	10 uM: 76.9% de probabilidad
	30 uM: 86.5% de probabilidad
	1-10 uM: 45.4% de probabilidad
	10-30uM: 81.69 % de probabilidad
Toxicidad respiratoria	Valor de 1. 57.9% de probabilidad
Nefrotoxicidad	Valor de 0. 40.89% de probabilidad
Toxicidad ocular	Corrosión ocular: Valor de 1, 61 - 3% de probabilidad
	Irritación ocular: Valor de 1 - 79.3% de probabilidad
Toxicidad dérmica/cutánea	Corrosión dérmica: Valor de 0,31 - 7% de probabilidad
	Irritación dérmica: Valor de 1 - 66% de probabilidad
	Toxicidad dérmica aguda: Valor de 1 - 57.6% de probabilidad

	Sensibilización dérmica: Valor de 1 - 73 % de probabilidad
--	--

Tabla 13. Resultados del análisis en ADMET para Lupeol.

Los resultados obtenidos para el compuesto Lupeol, según el análisis realizado en ADMETlab 2.0, indican un bajo riesgo de neurotoxicidad y hepatotoxicidad, lo cual resulta favorable en términos de seguridad para estos órganos blanco. Sin embargo, se evidenció un riesgo moderado a alto en otros sistemas, particularmente en:

- Toxicidad cardíaca, con una probabilidad estimada de hasta 86.5% a concentraciones elevadas.
- Toxicidad respiratoria (57.9%).
- Nefrotoxicidad (40.89%).
- Corrosión e irritación ocular, con probabilidades de 61.3% y 79.3%, respectivamente.
- Toxicidad dérmica, con una probabilidad de hasta 73% para sensibilización cutánea.

Estos hallazgos sugieren que, si bien Lupeol muestra un perfil prometedor en términos de seguridad neurológica y hepática, requiere una evaluación más detallada frente a su posible impacto sobre el sistema cardiovascular, renal, respiratorio, y la piel, especialmente en contextos clínicos donde la concentración del compuesto pueda variar significativamente.

La tabla 15 presenta el análisis para el principio activo de quercetina, el cual exhibe un perfil toxicológico mixto con implicaciones relevantes para su viabilidad farmacológica. La predicción indica un riesgo moderado de neurotoxicidad (36.8%) y un riesgo bajo de hepatotoxicidad inducida por fármacos (30%). En relación con la toxicidad cardíaca mediada por hERG, se evidenció una probabilidad variable que va del 1.9% al 86.9%, dependiendo de la concentración, lo que sugiere un riesgo creciente a dosis elevadas. Asimismo, se reporta un alto riesgo de toxicidad respiratoria (81.2%) y un riesgo moderado de nefrotoxicidad (21.2%).

Quercetina	
Tipo de toxicidad	Probabilidad
Neurotoxicidad	36.8% de probabilidad de presentar neurotoxicidad
Toxicidad hepática DILI	30% de probabilidad de causar daño hepático inducido por fármacos
Toxicidad cardíaca hERG	1.9% a 86.9% de probabilidad de presentar toxicidad cardíaca, dependiendo de la concentración
Toxicidad respiratoria	81.2% de probabilidad de causar toxicidad respiratoria
Nefrotoxicidad	21.2% de probabilidad de causar nefrotoxicidad
Toxicidad ocular	0.70% de probabilidad de causar corrosión ocular

	6.7% de probabilidad de causar irritación ocular
Toxicidad dérmica/cutánea	5.9% de probabilidad de causar corrosión cutánea
	8.4% de probabilidad de causar sensibilización cutánea
	35.3% de probabilidad de causar irritación cutánea
	67.4% de probabilidad de causar toxicidad dérmica aguda

Tabla 14. Resultados del análisis en ADMET para Quercetina.

A nivel ocular, la probabilidad de corrosión es baja (0.7%), mientras que la irritación ocular presenta un riesgo ligeramente superior (6.7%). En cuanto a la toxicidad dérmica, se identifican niveles moderados de riesgo: corrosión cutánea (5.9%), irritación dérmica (35.3%) y toxicidad dérmica aguda (67.4%). Adicionalmente, la sensibilización cutánea muestra un riesgo bajo (8.4%).

Estos hallazgos sugieren la necesidad de una evaluación experimental detallada para validar los riesgos tóxicos anticipados, especialmente en lo referente a la toxicidad respiratoria y cardíaca, que podrían comprometer el desarrollo clínico de este compuesto, a pesar de su afinidad observada en los estudios de acoplamiento molecular.

Taraxerol	
Tipo de toxicidad	Probabilidad
Neurotoxicidad	36.8% - Riesgo moderado
Toxicidad hepática DILI	30% - Riesgo bajo
Toxicidad cardíaca hERG	1.9% - Bajo riesgo a bajas concentraciones
	60.9% - Riesgo moderado a concentraciones más altas
	86.9% - Alto riesgo a altas concentraciones
Toxicidad respiratoria	81.2% - Alto riesgo
Nefrotoxicidad	21.2% - Riesgo moderado
Irritación y corrosión ocular	0.7% - 6.7% - Bajo a moderado riesgo
Irritación y corrosión cutánea	5.9% - 35.3% - Bajo a moderado riesgo
Sensibilización cutánea	8.4% - Bajo riesgo

Tabla 15. Resultados del análisis en ADMET para Taraxerol.

El compuesto Taraxerol exhibe un perfil toxicológico mixto, caracterizado por un riesgo moderado de neurotoxicidad y nefrotoxicidad, así como un riesgo bajo de hepatotoxicidad inducida por fármacos. No obstante, se observa un alto riesgo de cardiotoxicidad asociada a la inhibición del canal hERG, especialmente a concentraciones elevadas, lo cual representa una limitación importante para su aplicación farmacológica.

Adicionalmente, los resultados *in silico* revelan un riesgo elevado de toxicidad respiratoria y dérmica, así como niveles de riesgo entre bajos y moderados de corrosión e irritación tanto ocular como cutánea. Estos hallazgos subrayan la necesidad de realizar estudios experimentales más profundos que validen estos riesgos predichos, priorizando la evaluación

de los efectos adversos sobre el sistema cardiovascular, el aparato respiratorio y la integridad de tejidos epiteliales, antes de considerar el uso clínico de estos compuestos como candidatos terapéuticos

Flavona	
Tipo de toxicidad	Probabilidad
Neurotoxicidad	-2.31 - Riesgo moderado, puede causar efectos adversos en el sistema nervioso.
Toxicidad hepática DILI	1 - Riesgo moderado, puede causar daño hepático).
Toxicidad cardíaca hERG	1 uM: 4.7% - Riesgo bajo.
	1-10 uM: 8% - Riesgo bajo.
	10 uM: 44.6% - Riesgo moderado.
	10-30 uM: 75.7% - Riesgo alto. Probabilidad de afectar la actividad cardíaca.
30 uM: 85.2% - Riesgo alto. Probabilidad de afectar la actividad cardíaca.	
Toxicidad respiratoria	20.7% - Riesgo bajo, poco probable que cause efectos adversos respiratorios.
Nefrotoxicidad	87.1% - Riesgo alto, alta probabilidad de causar daño renal.
Toxicidad ocular	46.4% - Riesgo moderado, puede causar irritación y daño ocular.
	93.8% - Riesgo alto, alta probabilidad de causar irritación ocular.
Toxicidad dérmica/cutánea	15.7% - Riesgo bajo, poco probable que cause corrosión en la piel.
	41.9% - Riesgo moderado, puede causar irritación en la piel.
	46.2% - Riesgo moderado, puede causar efectos adversos en la piel tras exposición aguda.
	62.3% - Riesgo alto, alta probabilidad de causar sensibilización en la piel.

Tabla 16. Resultados del análisis en ADMET para Flavona.

El compuesto Flavona, exhibe un perfil toxicológico mixto, con niveles de riesgo que varían de bajos a altos según el sistema biológico evaluado. Se identificó un riesgo moderado de neurotoxicidad y hepatotoxicidad, mientras que la cardiotoxicidad asociada al canal hERG presentó una probabilidad dependiente de la concentración, oscilando entre riesgo bajo a concentraciones menores y riesgo alto a concentraciones elevadas. Esta variabilidad sugiere la necesidad de una monitorización rigurosa y estudios adicionales que aclaren su seguridad cardiovascular.

Asimismo, se evidenció un riesgo alto de nefrotoxicidad, irritación ocular y sensibilización dérmica, así como riesgos moderados de toxicidad respiratoria, corrosión cutánea y toxicidad dérmica aguda. Estos hallazgos subrayan la relevancia de una evaluación toxicológica complementaria, que permita validar y delimitar los efectos adversos predichos, con el fin de determinar la viabilidad farmacológica del compuesto como agente terapéutico potencial.

Chalinersterol/ Stigmasterol/ Campesterol	
Tipo de toxicidad	Probabilidad
Neurotoxicidad	5.81% - Riesgo moderado de neurotoxicidad
Toxicidad hepática DILI	22.6% - Riesgo moderado de toxicidad hepática
Toxicidad cardíaca hERG	Riesgo variable del 33.1% al 90.6% dependiendo de la concentración
Toxicidad respiratoria	54.8% - Riesgo moderado de toxicidad respiratoria
Nefrotoxicidad	37.9% - Alto riesgo de nefrotoxicidad
Toxicidad ocular	36.5% - Riesgo moderado de corrosión ocular
	79.5% - Alto riesgo de irritación ocular
Toxicidad dérmica/cutánea	18% - Bajo riesgo de corrosión dérmica
	35.2% - Riesgo moderado de toxicidad dérmica aguda
	63% - Alto riesgo de irritación dérmica
	81.1% - Alto riesgo de sensibilización dérmica

Tabla 17. Resultados del análisis en ADMET para Chalinersterol.

Este principio activo presentó un perfil de toxicidad mixto con algunos riesgos moderados y otros altos. Los principales hallazgos indican un riesgo moderado de neurotoxicidad, toxicidad hepática, toxicidad respiratoria y toxicidad dérmica aguda. Además, existen altos riesgos de nefrotoxicidad, irritación ocular, irritación y sensibilización dérmicas. Además, el riesgo de toxicidad cardíaca (hERG) varía de bajo a alto dependiendo de la concentración. Estos resultados sugieren la necesidad de una evaluación más exhaustiva de la seguridad de este compuesto antes de su posible uso, con el fin de identificar y mitigar los riesgos potenciales.

5. DISCUSIÓN

La selección de los principios activos se fundamentó en evidencia previa que define rangos de energía de afinidad considerados óptimos para las interacciones proteína-ligando(57). A partir de los resultados mediante acoplamiento molecular, se identificaron interacciones clave entre principios activos de origen vegetal y regiones funcionales de estas proteínas. Entre los hallazgos más relevantes, se encuentran aquellos relacionados con proteínas proapoptóticas, reguladoras del ciclo celular, y otras como las chaperonas y reguladores estructurales.

Uno de los principales hallazgos se relaciona con la Caspasa 3 (PDB: 2J30), una proteína proapoptótica que mostró una afinidad significativa con el principio activo taraxerol de *Malachra alceifolia*. De acuerdo con los resultados, el ligando presentó interacciones con residuos localizados en el sitio activo de la proteína, destacándose enlaces de hidrógeno con los aminoácidos Thr62 y Arg207, así como interacciones electrostáticas con los residuos His121 y Glu123. Los enlaces de hidrógeno son fuertes y estables debido a su direccionalidad

y la base electrostática generada por la interacción con átomos electronegativos (58). Este tipo de unión favorece la estabilidad del complejo proteína-ligando. Por otro lado, las interacciones electrostáticas observadas pueden contribuir tanto a la estabilización del complejo como a la facilitación de posibles reacciones catalíticas, debido a la participación de grupos cargados en los residuos implicados

En concordancia con estos hallazgos, un estudio previo realizado por Lerma *et al.* empleó técnicas de docking molecular para evaluar interacciones entre diversas proteínas implicadas en procesos oncogénicos y la lactoferrina. En dicho estudio, se utilizó como modelo la proteína Caspasa 3, y se identificaron los residuos Glu123 y His121 como puntos clave de interacción mediante la formación de puentes salinos, los cuales resultaron determinantes para la compatibilidad energética del complejo. Estos mismos residuos han sido destacados en el presente estudio, lo que refuerza su relevancia estructural y funcional en la unión del ligando con la Caspasa 3 (59).

Otro resultado de interés se relaciona con la proteína RB (PDB: 6O9G), que, si bien mostró interacciones con aminoácidos relevantes, su actividad plantea dos posibles escenarios: la inhibición o reducción de la unión con el factor de transcripción E2F, o bien, un posible aumento en dicha afinidad. Estas posibilidades surgen debido a que los residuos involucrados se encuentran próximos al dominio funcional o sitio activo donde se lleva a cabo la interacción con E2F, lo cual podría modificar su conformación o estabilidad estructural

En un estudio realizado por Elengoe *et al.* (60) se evaluaron mediante docking molecular tres ligandos frente a tres proteínas asociadas al desarrollo del cáncer, entre ellas la proteína RB. Dos de los compuestos analizados en dicho estudio corresponden a ligandos también incluidos en el presente trabajo. En sus resultados, Elengoe *et al.* reportaron una energía de afinidad de -7.2 kcal/mol para la quercetina, acompañada de interacciones tipo H (puentes de hidrógeno) que fortalecieron significativamente la unión con RB. No obstante, en el presente estudio, la quercetina mostró una afinidad menor, con un valor de -4.5 kcal/mol. Esta discrepancia puede deberse principalmente a las diferencias en la conformación estructural de la proteína utilizada, ya que se emplearon distintos modelos obtenidos de la base de datos PDB. Adicionalmente, el compuesto taraxerol evaluado en este trabajo evidenció mejores puntuaciones de afinidad, lo que sugiere que ciertos compuestos vegetales

podrían ofrecer una mayor capacidad de interacción con los residuos activos de la proteína RB.

En condiciones fisiológicas, la proteína P53 se activa en respuesta a señales de estrés celular, promoviendo la transcripción de genes implicados en la detención del ciclo celular y la apoptosis. Sin embargo, cuando P53 presenta mutaciones, como ocurre comúnmente en diversos tipos de cáncer, pierde su capacidad de activar genes supresores y puede adquirir funciones oncogénicas, convirtiéndose en una oncoproteína.

En el presente estudio, se evidenció la unión del compuesto lupeol con residuos clave de la proteína P53, específicamente Glu285 y Glu346, localizados en el sitio de unión al ADN. Esta interacción sugiere un posible mecanismo de inactivación de la forma mutada de P53, lo cual podría permitir su reactivación funcional y restaurar su actividad supresora.

El análisis de P53 como blanco terapéutico ha sido ampliamente abordado en la investigación oncológica, debido a su papel central en el control del ciclo celular. En este contexto, Kurmi *et al.* (61) evaluaron la interacción de principios activos derivados de *Curcuma longa* con el complejo P53-MDM2, ya que la unión de MDM2 conduce a la inhibición y posterior degradación de P53. Sus resultados demostraron que interferir en este sitio de unión representa una estrategia prometedora para preservar la función de la proteína.

En contraste, en el presente estudio se identificó que el ligando se une a regiones distintas de la proteína, asociadas a su sitio de unión a ATP. Este hallazgo permite proponer un enfoque complementario, en el cual distintas regiones funcionales de la misma proteína puedan ser dirigidas simultáneamente, ampliando así las posibilidades terapéuticas y mejorando la eficacia del tratamiento.

En este contexto, es importante destacar que la sola presencia de interacciones en sitios activos no garantiza un efecto funcional relevante. Es necesario considerar si dichas interacciones inducen modificaciones estructurales o funcionales que favorezcan o perjudiquen la actividad biológica de la proteína. Por tanto, se recomienda complementar los hallazgos con análisis en laboratorio, que permitan validar el comportamiento real del complejo proteína-ligando y detectar interacciones no contempladas en el modelo computacional.

En lo que respecta a proteínas estructurales, se observó que taraxerol presentó afinidad por residuos clave de la chaperona HSP90, específicamente Tyr151 y Asp227, los cuales se localizan en el dominio N-terminal de la proteína. Este dominio es responsable de la unión al ATP, un proceso esencial para la función chaperona de HSP90. La unión al ATP permite que la proteína adopte su conformación activa, pasando del estado abierto al cerrado, lo que a su vez facilita la estabilización y el mantenimiento funcional de las oncoproteínas asociadas. Por lo tanto, la interacción del ligando en esta región representa un hallazgo relevante, ya que podría interferir con la actividad bioquímica de HSP90, y ser de utilidad en estudios posteriores orientados al desarrollo de estrategias terapéuticas dirigidas a su inhibición (55) (56).

Otra proteína de relevancia en el presente estudio fue la interleucina-6 (IL-6) quien forma parte de la clasificación de las citocinas inflamatorias, su estructura se analizó bajo el modelo PDB: 1ALU. Se observó afinidad del ligando hacia los aminoácidos Lys94 y Asn91, los cuales, según estudios previos, forman parte del sitio de interacción con el receptor gp130. Esta unión sugiere una posible interferencia en la formación del complejo IL-6/gp130, que resulta esencial para la activación de su cascada de señalización.

La IL-6 desempeña un papel fundamental en la progresión del cáncer de mama, dado que promueve procesos como la inflamación y la angiogénesis tumoral. Su unión al receptor gp130 activa la vía JAK/STAT, particularmente la fosforilación de STAT3, que a su vez induce la transcripción de genes asociados con proliferación celular, angiogénesis y metástasis (62). En este contexto, Masjedi *et al.* destacan en su revisión que IL-6 constituye uno de los mecanismos clave en la promoción de la tumorigénesis y la resistencia a terapias convencionales, subrayando la importancia de desarrollar agentes que modulen esta vía. En estudios preclínicos y clínicos se ha evaluado el uso de anticuerpos monoclonales (mAb) dirigidos contra IL-6 o su receptor, evidenciando su potencial terapéutico en el control de neoplasias con fenotipo invasivo (63).

De igual manera, se analizaron otras citoquinas inflamatorias y su modulación, específicamente la interleucina-1 beta (IL-1 β), modelo PDB: 9ILB, y el compuesto quercetina. En este caso, se identificaron interacciones con los residuos Trp108 y Tyr113, ubicados en el sitio de unión con su receptor, IL-1R1. Estas uniones podrían interferir en la estabilización del complejo

receptor-ligando, así como en el posterior reclutamiento de cofactores necesarios para la señalización. La inhibición de esta interacción podría representar un mecanismo efectivo para reducir la inflamación promotora de la tumorigénesis, como ha sido sugerido en estudios previos (64).

En cuanto a los receptores inmunomoduladores, se estudió la proteína IFNGR1 (PDB: 1FG9), destaca por su papel clave en la respuesta inmunitaria antitumoral en el contexto del cáncer. Al unirse a su ligando, el interferón gamma (IFN- γ), activa la vía de señalización JAK/STAT1. En condiciones fisiológicas, STAT1 se fosforila, forma dímeros y se transloca al núcleo, donde induce la transcripción de genes implicados en la apoptosis de células tumorales y la regulación del ciclo celular. Esta vía ha sido ampliamente asociada con mecanismos de protección frente al desarrollo del cáncer

Sin embargo, diversos estudios han reportado que la actividad biológica de IFNGR1 puede ser dual y depender del tipo de cáncer y del contexto tumoral. Por ejemplo, en casos de cáncer de mama con receptores hormonales positivos, se ha observado una respuesta desfavorable asociada a la activación de IFN- γ , ya que esta citoquina puede inducir la expresión de PD-L1, un mecanismo que reduce la actividad citotóxica de los linfocitos T y favorece la evasión inmunitaria (65). En contraste, en subtipos HER2+, la activación de IFN- γ se ha relacionado con un aumento en la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad de clase II (MHC-II), lo que mejora la respuesta inmunológica antitumoral y potencia la eficacia del tratamiento con trastuzumab (66).

En los resultados en el análisis, se observa que el ligando con mayor afinidad fue quercetina, se une a los aminoácidos o residuos Asn153, Ile169, Thr189, Phe151, Tyr168. Teniendo en cuenta que Phe151 y Tyr168 se encuentran en el sitio activo de unión a IFN- γ se podría considerar que la unión del ligando en esta zona podría presentar una reducción de la unión de IFNGR1 a IFN- γ y por ende inhibir la vía JAK/STAT1, lo que a su vez podría determinarse en un efecto positivo y negativo teniendo en cuenta el estadio clínico y el comportamiento de la neoplasia con el aumento o reducción de la proteína.

Este hallazgo debe interpretarse con precaución, ya que una posible inhibición de la señalización mediada por IFNGR1 podría tener efectos duales. Dependiendo del tipo de tumor, su estadio clínico y las características inmunológicas del microambiente tumoral,

dicha inhibición podría representar tanto un beneficio (al bloquear mecanismos inmunosupresores como la expresión de PD-L1), como un riesgo (al comprometer la respuesta inmune antitumoral mediada por STAT1). Por lo tanto, se sugiere que este tipo de interacciones debe ser validado experimentalmente para determinar su relevancia terapéutica según el contexto clínico específico.

Finalmente, respecto a las enzimas del metabolismo tumoral, se consideró relevante destacar la participación de la enzima Fosfofructoquinasa 1 (PFK1), modelo estructural PDB: 6GNG, debido a su papel fundamental en la regulación metabólica del cáncer de mama. Aunque se trata de una enzima clásica de la glucólisis, su implicación en la progresión tumoral es crítica. En condiciones neoplásicas, como el cáncer de mama, PFK1 se encuentra frecuentemente sobreexpresada, lo que permite a las células tumorales aumentar la velocidad del metabolismo glucolítico para satisfacer la demanda energética acelerada que requiere su proliferación.

Este fenómeno está relacionado con el denominado efecto Warburg, en el cual las células tumorales priorizan la conversión de glucosa en lactato, incluso en presencia de oxígeno, favoreciendo una rápida generación de energía y metabolitos necesarios para la biosíntesis celular. La alta actividad de PFK1 contribuye significativamente a este proceso.

En los resultados obtenidos en el presente estudio, se observó que el complejo proteína-ligando mostró interacciones en el sitio activo de PFK1, particularmente con los residuos Asp52 y Lys191. Estos aminoácidos se encuentran en regiones catalíticas claves involucradas en la transferencia de grupos fosfato, un paso esencial en la conversión de fructosa-6-fosfato en fructosa-1,6-bisfosfato. La unión del ligando en esta zona podría interferir con la actividad catalítica de la enzima, lo que hipotéticamente afectaría la eficiencia de la glucólisis en las células tumorales del microambiente tumoral (TME). Este hallazgo sugiere que compuestos capaces de modular la actividad de PFK1 podrían representar una estrategia terapéutica potencial para interrumpir el metabolismo energético aberrante característico de células cancerosas (54) y merece ser explorado en estudios posteriores, incluyendo ensayos funcionales *in vitro*.

Correlación con evidencia fitoquímica y estudios previos

Los hallazgos obtenidos mediante estudios de acoplamiento molecular con compuestos como la quercetina destacan la importancia de integrar resultados *in silico* con la evidencia experimental previamente reportada. Estudios fitoquímicos en especies del género *Heliotropium*, como *H. ramosissimum*, realizados por Fayed y colaboradores (2022) (67), identificaron metabolitos secundarios con actividad citotóxica sobre líneas celulares tumorales, entre los cuales la quercetina se encuentra como uno de los principales compuestos bioactivos. Lo anterior sugiere que compuestos como la quercetina pueden actuar como moduladores del microambiente tumoral, e incluso revertir funciones alteradas de proteínas relevantes en el cáncer de mama. Estos hallazgos fortalecen la hipótesis del potencial terapéutico de metabolitos derivados de plantas medicinales y refuerzan la necesidad de validar estas interacciones mediante estudios *in vitro*. Adicionalmente, los resultados del presente análisis *in silico* se ven respaldados por estudios previos que demuestran la actividad anticancerígena de extractos de *Heliotropium indicum*. Paul y Kundu *et al.* evaluaron extractos metanólicos de *H. indicum* en células de cáncer cervical, observando inducción de daño en el ADN mediado por especies reactivas de oxígeno (ROS) y activación de la apoptosis. Aunque dicho estudio se centró en otra neoplasia, los mecanismos implicados —estrés oxidativo y activación de la vía apoptótica— son compartidos con el cáncer de mama, lo que permite extrapolar su relevancia a este tipo tumoral (68).

Esta evidencia experimental se correlaciona con los resultados obtenidos en este estudio, donde la quercetina mostró una fuerte afinidad por proteínas clave como IL-6 e IFNGR1, ambas relacionadas con procesos de inflamación tumoral, evasión inmune y proliferación celular. La capacidad de este compuesto para inducir apoptosis y modular vías de señalización críticas sugiere un potencial terapéutico relevante para el tratamiento del cáncer de mama. En cuanto a *Malachra alceifolia*, aunque la literatura específica sobre su efecto anticancerígeno es aún limitada, estudios recientes han reportado actividades farmacológicas prometedoras. Rodríguez-Cornejo *et al.* evaluaron su actividad antileishmanial, encontrando una inhibición significativa de *Leishmania mexicana* en su forma amastigota intracelular. A través de GC-MS se identificaron compuestos como episwertenol, α -amyrina y metil

compuesto A, los cuales presentaron buena afinidad frente a dianas en estudios de acoplamiento molecular, lo que evidencia la presencia de metabolitos bioactivos con potencial farmacológico (69).

Aunque estos estudios no se enfocan directamente en modelos oncológicos, resaltan el potencial de los metabolitos presentes en *M. alceifolia*. En el presente trabajo, dichos compuestos, particularmente principios activos derivados de los triterpenos, mostraron afinidad destacada frente a proteínas clave del cáncer de mama, como Caspasa-3 y HSP90, lo que justifica su inclusión como candidatos en estrategias terapéuticas potenciales.

Con base en los resultados obtenidos en los análisis *in silico* y respaldados por estudios previos, se recomienda considerar a la quercetina como el compuesto con mejor perfil beneficio-riesgo. Este compuesto, aislado de *Malachra alceifolia*, mostró una alta afinidad por múltiples dianas terapéuticas relevantes en cáncer de mama, incluyendo IL-6, IFNGR1, IL-1 β y proteínas reguladoras del ciclo celular, lo cual sugiere un potencial efecto multitarget, modulando procesos clave como proliferación celular, inflamación tumoral, angiogénesis y apoptosis. No obstante, es necesario analizar desde diferentes perspectivas algunas de estas interacciones, especialmente en el caso de proteínas como IL-10 y RB1, que presentan una función dual en el contexto tumoral. En el caso de IL-10, si bien se reconoce su papel inmunosupresor capaz de limitar la inflamación crónica que favorece el desarrollo tumoral también puede suprimir la respuesta inmune antitumoral, facilitando el escape inmunológico de las células cancerosas. Así, su efecto puede variar entre ser protector o pro-tumoral dependiendo del microambiente, la etapa del tumor y el equilibrio de citoquinas presentes.

Por su parte, RB1, conocido por su papel como supresor del ciclo celular mediante la inhibición del factor E2F, puede en ciertos contextos tumorales conservar funciones que favorecen la diferenciación celular sin inducir apoptosis, permitiendo así la supervivencia de clones tumorales estables. Además, en células con alta plasticidad fenotípica, su pérdida puede activar vías compensatorias que no necesariamente detienen la progresión tumoral.

Esta ambigüedad funcional dificulta su abordaje terapéutico directo, ya que modular su actividad podría tener efectos opuestos dependiendo del contexto tumoral. Adicionalmente, aunque el docking molecular permitió predecir interacciones promisorias, esta técnica representa un modelo estático que no contempla la flexibilidad conformacional de las proteínas ni las condiciones dinámicas del entorno biológico. Por tanto, los hallazgos obtenidos deben considerarse aproximaciones iniciales que requieren ser complementadas con estudios de dinámica molecular y validaciones experimentales específicas para confirmar su relevancia terapéutica. Finalmente se recomienda priorizar a quercetina como el compuesto con mejor perfil beneficio-riesgo para estudios posteriores en cáncer de mama. Este compuesto, no solo evidenció una alta afinidad frente a proteínas clave como IL-6, IFNGR1, IL-1 β , y P53, sino que además mostró un buen perfil farmacocinético según el análisis ADMET.

6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Todos los resultados se basan en análisis computacionales. Aunque el docking molecular permite identificar interacciones potenciales entre compuestos y proteínas, no garantiza que dichas interacciones se traduzcan en efectos biológicos reales. La ausencia de validaciones experimentales limita la posibilidad de confirmar la actividad funcional y la selectividad de los complejos identificados.

Las afinidades predichas por los algoritmos de acoplamiento molecular son estimaciones que no siempre se correlacionan con la actividad biológica. La interpretación excesivamente concluyente de estos valores sin respaldo experimental puede inducir a sobreestimar el potencial terapéutico de los compuestos analizados.

Varias de las proteínas empleadas fueron modeladas con predicciones generadas por AlphaFold. Aunque esta herramienta representa un avance importante en la predicción estructural, sigue siendo un modelo teórico y puede no reflejar con total concordancia la conformación real en condiciones fisiológicas.

El estudio no incluyó análisis de dinámica molecular para evaluar la estabilidad de los complejos proteína-ligando. Esta técnica permite comprender cómo varían las interacciones

bajo condiciones simuladas más cercanas al entorno celular, lo que añade incertidumbre sobre la estabilidad real de los complejos.

Se recomienda realizar estudios *in vitro* en líneas celulares de cáncer de mama (*MCF-7*, *MDA-MB-231*) y células normales (*MCF-10A*), con el fin de evaluar citotoxicidad, apoptosis y selectividad. Estas validaciones permitirán confirmar el potencial terapéutico observado y avanzar hacia futuras aplicaciones clínicas. Adicionalmente se recomienda realizar un análisis de viabilidad celular por medio de ensayos MTT.

7. CONCLUSIONES

Durante este estudio se emplearon herramientas bioinformáticas que permitieron analizar las proteínas asociadas al cáncer de mama con los principios activos presentes en *Malachra alceifolia* y *Heliotropium indicum*. Desde la selección y validación estructural de proteínas hasta los estudios de acoplamiento molecular, se aplicaron filtros y estrategias que garantizaron la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Los acoplamientos dirigidos mostraron afinidad significativa de compuestos como taraxerol y quercetina por proteínas clave del cáncer de mama, entre las cuales se destacan PFK1 y HSP90 como blancos terapéuticos prometedores, mientras que proteínas como IL-10 y RB1 requieren validación experimental por su función dual en el contexto tumoral.

Se sugiere la implementación de simulaciones de dinámica molecular como etapa complementaria al docking molecular, con el fin de reforzar la validez estructural y funcional de los complejos identificados, y avanzar en su posible aplicación como candidatos para terapias dirigidas contra el cáncer de mama.

8. Referencias

1. Cragg GM PJ. Natural products as a vital source for the discovery of cancer chemotherapeutic and chemopreventive agents. *Med Princ Pract*. 2016; 25(Suppl 2)(41–59).
2. A REVIEW ON HELIOTROPIUM INDICUM L. (BORAGINACEAE). *Pharmaceutical Sciences And Research*. 2013 Marzo; 2(1253-1258).
3. Fayed MA. Heliotropium; a genus rich in pyrrolizidine alkaloids: A systematic review following its phytochemistry and pharmacology. *Phytomedicine Plus*. 2021 May; 1(2).

4. Akbar S ea. Evaluation of bioactive compounds as antimicrobial and antidiabetic agent from the crude extract of *Heliotropium indicum*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2021; 11(2)(85-91).
5. Chandan Sarkar MMBKMMHSHASMTIMMMKJSRAAHAAR. *Heliotropium indicum* L.: From Farm to a Source of Bioactive Compounds with Therapeutic Activity. 2021 Junio.
6. Julio JAB. Caracterización fitoquímica y potencial etnofarmacológico de *Malachra alceifolia* Jacq, *Malachra capitata* Linn, *Malachra fasciata* Jacq y *Malachra ruderalis* Gürke. Cartagena: Universidad de Cartagena, Bolívar; 2021.
7. Ceballos LC. POTENCIALES COMPUESTOS LEISHMANICIDAS In Vitro FRENTE A *Leishmania* sp. PRESENTES EN FRACCIONES DE LA HOJA DE *Malachra alceifolia* Jacq. Tesis Doctoral. Cartagena: Universidad de Cartagena, Grupo de Investigación en Química Orgánica Medicinal; 2023.
8. Institute. NC. Bethesda (MD): National Cancer Institute. [Online].; 2022 [cited 2025 01 23. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/que-es>.
9. Instituto Nacional del Cáncer. Instituto Nacional del Cáncer. [Online].; 2021 [cited 2024 02 25. Available from: [https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es#:~:text=EI%20c%C3%A1ncer%20es%20una%20enfermedad%20que%20se%20presenta%20cuando%20las.%C3%A1cido%20desoxirribonucleico\)%20causan%20el%20c%C3%A1ncer](https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/que-es#:~:text=EI%20c%C3%A1ncer%20es%20una%20enfermedad%20que%20se%20presenta%20cuando%20las.%C3%A1cido%20desoxirribonucleico)%20causan%20el%20c%C3%A1ncer).
10. World Health Organization. Breast cancer [Internet]. [Online].; 2024 [cited 2025 05 27. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>.
11. Forero LAJ. Cuenta de Alto Costo. [Online].; 2023 [cited 2024 03 02. Available from: <https://cuentadealtocosto.org/cancer/dia-mundial-de-la-lucha-contr-el-cancer-de-mama-2023/>.
12. Rupen Shah KRAsDN. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology*. 2014 Agosto; 10(5).
13. J M Hall LFCGMKLJLWDMBaMCK. Closing in on a breast cancer gene on chromosome 17q. *American journal of human genetics*. 1992 Junio; 50(6).
14. KL Thu ISBTMDC. Targeting the cell cycle in breast cancer: towards the next phase. *Cell Cycle*. 2018 Sep; 11;17(15).
15. Vousden KH LD. p53 in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8(4)(275-83).
16. Porter AG JR. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ*. 1999; 6(2)(99–104.).
17. S. N. Apoptosis by death factor.. *Cell*. 1997; 88(3)(355–65).
18. Gillies LA KT. Apoptosis regulation at the mitochondrial outer membrane. *J Biol Chem*. 2014; 289(2)(1183–94).
19. JC. R. Bcl-2 family proteins. *Oncogene*. 1998; 17(25)(3225–36.).
20. Adams JM CS. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential. *Oncogene*. 2007; 26(9)(1324–37.).
21. Burkhart DL SJ. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat Rev Cancer*.. 2008; 8(9)(671–82).
22. Sansone P BJ. Targeting the interleukin-6/Jak/stat pathway in human malignancies.. *Cell Cycle*. 2012; 11(1)(27–32.).

23. Voronov E SDKYCEBDIYea. IL-1 is required for tumor invasiveness and angiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100(5)(2645–50).
24. Mocellin S WEMF. Cytokines and immune response in the tumor microenvironment.. *Cancer Immunol Immunother*. 2005; 54(4)(315–27).
25. Ikeda H OLSR. The roles of IFN gamma in protection against tumor development and cancer immunoediting.. *Immunol Rev*. 2002; 188(136–46).
26. J. M. TGFβ in cancer. *Cell*. 2008; 134(2)(215–30).
27. Li X ZYLZJCRHXYea. The MTA family proteins as novel histone H3 binding proteins.. *Nat Commun*.. 2016; 7:11672.
28. Whitesell L LS. HSP90 and the chaperoning of cancer.. *Nat Rev Cancer*. 2005; 5(10)(761–72.).
29. Centros para el control y prevención de enfermedades. División de Prevención y Control del Cáncer, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. [Online].; 2023 [cited 2024 03 06. Available from: <https://www.cdc.gov/spanish/cancer/survivors/patients/side-effects-of-treatment.htm>.
30. Yosef Yarden JBDM. Molecular Approach to Breast Cancer Treatment. *Seminars in Oncology*. 2004; 31(6-13).
31. Wang Y ZYHY. Crystal structure of a rhomboid family intramembrane protease. *Science*. 2006 Apr; 21;312(5771)(453-6).
32. Carpenter R MW. Role of aromatase inhibitors in breast cancer. *Br J. Cancer*. ; (Suppl 1)(S1–S5).
33. American Cancer Society. Hormone Therapy for Breast Cancer. [Internet]. [Online].; 2025 [cited 2025. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/types/breast-cancer/treatment/hormone-therapy-for-breast-cancer.html>.
34. Cervantes-Ceballos L, Sánchez-Hoyos J, Sanchez-Hoyos F, Torres-Niño E, Mercado-Camargo J, Echeverry-Gómez A, et al. An Overview of Genus Malachra L Ethnobotany, Phytochemistry, and Pharmacological Activity. *Plants*. 2022 Noviembre; 2808.
35. Guerrero T VPOR. Tamizaje fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas y flores de Malachra alceifolia Jacq. *Revista de Investigación y Amazonía*. 2014; 4(1-2)(70-75).
36. Sarkar C,MM,KB,HMM,HMS,SA,IMT,MM,KM,SRJ,AHA,&ARA. Heliotropium indicum L.: From Farm to a Source of Bioactive Compounds with Therapeutic Activity.. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2021 Junio; 2021(9965481).
37. Srinivas K. RMRS. Actividad antiinflamatoria de Heliotropium indicum Linn y Leucas aspera Spreng. en ratas albinas.. *Revista India de Farmacología*. 2000; 32(1).
38. Ji J YYWFMWWZLZ. Quercetin inhibits breast cancer cell proliferation and survival by targeting Akt/mTOR/PTEN signaling pathway. *Chem Biol Drug Des*.. 2024; 103(6)(e14557).
39. National Institutes of Health. UniProt. [Online]. [cited 2025 01. Available from: <https://www.uniprot.org/>.
40. Varadi M ASDMNSNCYGea. AlphaFold Protein Structure Database: massively expanding the structural coverage of protein-sequence space with high-accuracy models. [Online].; 2021 [cited 2025 02. Available from: <https://alphafold.ebi.ac.uk/>.
41. Hanwell MD CDLDVTZEHG. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. [Online].; 2012. Available from: <https://jcheminf.biomedcentral.com/articles/10.1186/1758-2946-4-17>.

42. Dallakyan S OA. PyRx – Python Prescription Virtual Screening Tool. [Online].; 2010 [cited 2025 02. Available from: <http://pyrx.sourceforge.io/>.
43. Yang J RAZY. Protein–ligand binding site recognition using complementary binding-specific substructure comparison and sequence profile alignment.. *Bioinformatics*. 2013; 29(20)(2588-2595).
44. Trott O OA. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010; 31(2)(455-461).
45. Xiong G WZYJFLYZHCYMZXWCLACX. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids*. 2021; 49(W1)(W5–W14.).
46. Meng XY,ZHX,MM,CM. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*. 2011; 7(2)(146–157).
47. Vicente Escobar Jonathan Osiris1 GF. Estudio espectroscópico e in silico del acoplamiento. *Tendencias en Docencia e Investigación en Química*. 2022; 8(8).
48. Abd Elmoneim O Elkhalfa EASMKMAMS,AMAMYQMIKSIAMSBSAA. Acoplamiento molecular multiobjetivo basado en la estructura y simulación dinámica de la isoflavona genistina derivada de la soja como posible inhibidor de las proteínas de señalización del cáncer de mama. *Life*. 2023 Aug; 13(8).
49. Infield DT RAGGCCTEAC. Cation- π Interactions and their Functional Roles in Membrane Proteins. *J Mol Bio*. 2021 Aug; 433(17).
50. K N Chow DCD. Domains A and B in the Rb pocket interact to form a transcriptional repressor motif. *Molecular and Cellular Biology*. 1996 Sep; 9(4862–4868).
51. Martin J Boulanger DeCEEKCG. Hexameric structure and assembly of the interleukin-6/IL-6 alpha-receptor/gp130 complex. *Science*. 2003 Aug; 01(5635)(918).
52. M A Farrar RDS. The molecular cell biology of interferon-gamma and its receptor. *Annu Rev Immunol*. 1993 Nov; 11(571-611).
53. K Josephson NJLMRW. Crystal structure of the IL-10/IL-10R1 complex reveals a shared receptor binding site. *Immunology*. 2001 Jul; 15(1)(35-46).
54. Matthew G. Vander Heiden LCC,aCBT. Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*. 2009 May; 324(1029-1033).
55. Jane Trepel MMGGLN. Targeting the dynamic HSP90 complex in cancer. *Nature. Cancer*. 2010 Aug; 10(8)(537-49).
56. Tao Yun KYSYYCZWHRSCLLXLMFXJ. Acetylation of p53 Protein at Lysine 120 Up-regulates Apaf-1 Protein and Sensitizes the Mitochondrial Apoptotic Pathway. *J. Biol Chem*. 2016 Apr; 1;291(14)(7386-95).
57. Hinck AP. Structural studies of the TGF- β s and their receptors - insights into evolution of the TGF- β superfamily. *FEBS Lett*. 2012 Jul; 4;586(14)(1860-70).
58. Britannica TEoE. Britannica. [Online].; 2025 [cited 2025 02. Available from: <https://www.britannica.com/science/hydrogen-bonding>.
59. Lidia Esmeralda Angel-Lerma JCCLISETSSC. Molecular Docking of Lactoferrin with Apoptosis-Related Proteins Insights into Its Anticancer Mechanism. *Molecular Sciences*. 2025 Feb; 26;26(5:2023).
60. Asita Elengoe VL. Molecular Modeling and Docking Studies on Phytocompounds against Caspase-3, BRCA1, and Rb. *Biointerface research in Applied Chemistry*. 2022; 12 (7606-7620).

61. Santosh Prasad Chaudhary Kurmi ST&DK. Molecular docking and pharmacokinetic evaluations of curcumin-based scaffolds as MDM2-p53 inhibitors. *Discover Chemistry*. 2025 Mar; 2(53).
62. Peter C Heinrich IBSHHMHGMNFS. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J*. 2003 Aug; 15;374(Pt 1(1-20)).
63. Ali Masjedi GGVHVVH. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018 Dec; 108(1415-1424).
64. Jiabao Zhou PDO. The role of IL-1B in breast cancer bone metastasis. *Bone Oncology*. 2024 May; 14:46(100608).
65. Huihui Ding GWZYHS. Role of interferon-gamma (IFN- γ) and IFN- γ receptor 1/2 (IFN γ R1/2) in regulation of immunity, infection, and cancer development: IFN- γ -dependent or independent pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022 Nov; 155(113683).
66. Kyoung-Seok Oh ARNJHBYJSYCHJK. Immunomodulatory effects of trastuzumab deruxtecan through the cGAS-STING pathway in gastric cancer cells. *Cell Communication and Signaling*. 2024 Oct; 22(518).
67. Marwa A A Fayed MEAMSR. Heliotropium ramosissimum metabolic profiling, in silico and in vitro evaluation with potent selective cytotoxicity against colorectal carcinoma. *SCIENTIFIC REPORTS*. 2022 Jul; 22;12(12539).
68. Subhabrata Paul RK. ROS mediated DNA damage and induction of apoptosis in cervical cancer cells by Heliotropium indicum L. *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences*. 2018 Aug; 8(8).
69. Rodríguez-Cornejo D DRGSMGCGMCVYSRJ. Antileishmanial activity and in silico molecular docking of fractions from Malachra alceifolia Jacq. against intracellular amastigotes of Leishmania mexicana. *J Ethnopharmacol*. 2023; 311(116396).
70. Yixiao Feng MSSHCYZLZXJWLBHWLLYLSDAVHHLRCHTC. Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes and Diseases*. 2018 Junio; 77(106).
71. Miguel Ángel Ramírez-García HMGGBL. Bcl-2: su papel en el ciclo celular. *Medigraphic*. 2014 septiembre; 9(3).
72. M. Guix Pericas CCCMACBACVXPT. Marcadores de pronóstico en el carcinoma de mama. *BIOPAT*. 1998; 25(2).
73. Zhivotovsky MO&B. Caspases and cancer. *Cell death and differentiation*. 2011 Abril; 18.
74. M M Keane SAEGALEKRSL. Fas expression and function in normal and malignant breast cell lines. *Cancer Res*. 1996 Octubre; 20(8).
75. Eom YH KHLASBCB. CL2 as a Subtype-Specific Prognostic Marker for Breast Cancer. *J Breast Cancer*. 2016 Septiembre; 19(3).
76. D. Quintela Senra JLSASV. The p53 protein and breast cancer. *Senología y Patología*. 2001; 14(2).
77. Chen J,WY,YW,HQ,CY,ZK,&CJ. The Link Between Inflammation, Immunity and Breast Cancer. *Frontiers in oncology*. 2022 Julio; 12(903800).
78. Sayra Ximena Zamora-Salas ,MLRVMSMEÁSÁCTC. Interferón-gamma: vías de señalización. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 2023; 26(1-17).

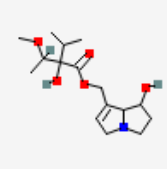
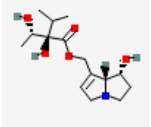
79. Pelaez MdlÁM. Expresión y significación clínica de las citoquinas en el cáncer de mama. Dialnet. 2014 Noviembre;(145).
80. Wasim Akram Syed Akbar MSAJCAS,M. Evaluation of bioactive compounds as antimicrobial and antidiabetic agent from the crude extract of Heliotropium. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2023 Febrero; 50.
81. Cuenta de Alto Costo - Ministerio de Salud y Protección Social. Cuenta de Alto Costo. [Online]. [cited 2024 04 23]. Available from: <https://cuentadealtocosto.org/cancer/>.
82. Subramaniam S, Selvaduray KR, Radhakrishnan AK. Bioactive Compounds: Natural Defense Against Cancer? Biomolecules. 2019; 9(758).
83. Anna Kawiak AK. Regulation of Bcl-2 Family Proteins in Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer and Their Implications in Endocrine Therapy. Cancers. 2022 Enero; 14(2)(279).
84. National Library of Medicine. PubChem. [Online]. [cited 2025 01]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
85. Schrödinger. The PyMOL Molecular Graphics System. [Online].; 2015. Available from: <https://pymol.org/2/>.
86. Bank RPD. RCSB PDB: Homepage [Internet]. [Online].; 2000-2005 [cited 2025 02]. Available from: <https://www.rcsb.org/>.
87. Arya Bhushan AG. Current State of Breast Cancer Diagnosis, Treatment, and Theranostics. Pharmaceutics. 2021 May; 723(13(5)).
88. Bernal R,GGARHSyMG. Nombres Comunes de las Plantas de Colombia. [Online].; 2012 [cited 2025 02]. Available from: <http://www.biovirtual.unal.edu.co/nombrescomunes/en/detalle/ncientifico/21989/>.
89. Leticia Llanes-Fernández RIÁGMdCAPJMA. Relationship between IL-10 and tumor markers in breast cancer patients. The Breast. 2006 Aug; 15(482-489).
90. Andjelika Kalezic MUBSGMA. Tissue-Specific Warburg Effect in Breast Cancer and Cancer-Associated Adipose Tissue—Relationship between AMPK and Glycolysis. Cancers. 2021 May; 31:13(2731).
91. Ilham Zarguan SGBAB. Plant-Based HSP90 Inhibitors in Breast Cancer Models: A Systematic Review. Molecular Sciences. 2024; 25(10)(5468).
92. Trott O OA. utoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J Comput Chem. 2010; 31(2)(455-461).
93. Laskowski RA SM. LigPlot+: multiple ligand–protein interaction diagrams for drug discovery. J Chem Inf Model.. 2011; 51(10)(2778–2786).
94. Ramos-Treviño MA OCJSCARCDJGJMea. Green synthesis of silver nanoparticles using Malachra alceifolia for biomedical applications with a molecular docking approach. J Mol Struct. 2024; 1311(135179).
95. Larisa Ivanova MK. The Impact of Software Used and the Type of Target Protein on Molecular Docking Accuracy. Biomolecules. 2022 Dec; 18;27(9041).
96. Global Core Biodata Resource. Global Core Biodata Resource. [Online].; 2000 [cited 2025 02]. Available from: <https://www.gbif.org/es/species/2925788>.
97. Sung H FJSRea. Estimates of Incidence and Mortality Worldwide. CA Cancer J Clin. 2021; 71(3)(209-249).
98. Kaur P NAAS. Targeting tumor microenvironment in breast cancer: promise and challenges. Curr Pharm Des. 2019; 25(36)(3958–3971).

99. Fayed MA. Heliotropium; a genus rich in pyrrolizidine alkaloids: A systematic review following its phytochemistry and pharmacology. *Phytomedicine Plus*. 2021 Mayo; 1(2).
100. Cragg GM ND. Natural products: a continuing source of novel drug leads. *Biochim Biophys Acta*. 2013; 1830(6)(3670–3695).
101. Karina Caballero-Gallardo NAOaJOV. *Plants*. 2023; 12(2686).
102. Centers for Disease Control and Prevention. Síntomas del cáncer de mama. [Online].; 2024 [cited 2025 02]. Available from: <https://www.cdc.gov/breast-cancer/es/symptoms/index.html>.
103. Consortium. U. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2023. *Nucleic Acids Res*. 2023; 51(D1)(D523–D531).
104. Ahmad Dawalibi AAKSM. Balancing the Scales: The Dual Role of Interleukins in Bone Metastatic Microenvironments. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024 July; 26;25(15)(8163).
105. Valentina Carlini DMNEA. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. *Immunology*. 2023 June; 8:14(1161067).
106. Paul E Goss PHMSPA. Effects of steroidal and nonsteroidal aromatase inhibitors on markers of bone turnover in healthy postmenopausal women. *Breast Cancer*. 2007; 9(4)(R52).

9. ANEXOS

ANEXOS	
1. Consulta en PubChem	Tablas con los datos consultados en la base de datos de PubChem.
2. Tabla 22. Resultados de acoplamiento dirigidos	Tabla con resultados obtenidos de los acoples dirigidos realizados en Autodock Vina.

Tabla 18. Consulta de principios activos en PubChem para *H. indicum*.

Consulta de principios activos en PubChem para <i>H. indicum</i>		
PRINCIPIO ACTIVO	ESTRUCTURA 2D	FORMULAR MOLECULAR
Heliotrina		C ₁₆ H ₂₇ NO ₅
Indicina		C ₁₅ H ₂₅ NO ₅

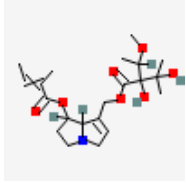
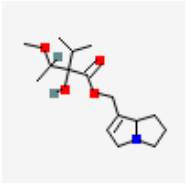
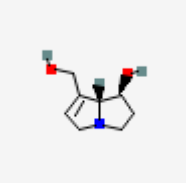
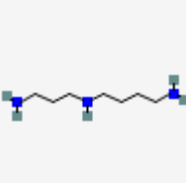
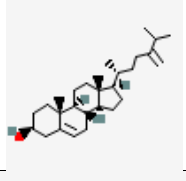
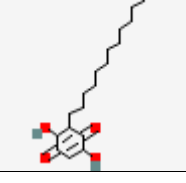
Lasiocarpina		C ₂₁ H ₃₃ NO ₇
Heleurina		C ₁₆ H ₂₇ NO ₄
Heliotridina		C ₈ H ₁₃ NO ₂
Espermidina		C ₇ H ₁₉ N ₃
Chalinasterol		C ₂₈ H ₄₆ O
Raponona		C ₁₉ H ₃₀ O ₄

Tabla 19. Consulta de principios activos en PubChem para *M. alceifolia*.

Consulta de principios activos en PubChem para <i>M. alceifolia</i>		
PRINCIPIO ACTIVO	ESTRUCTURA 2D	FORMULAR MOLECULAR

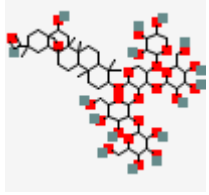
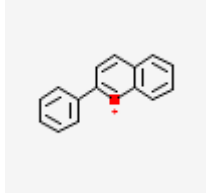
Saponina		C ₅₈ H ₉₄ O ₂₇
Antocianinas		C ₁₅ H ₁₁ O.

Tabla 20. Resultados de los acoplamientos dirigidos a las catorce proteínas, cada uno con los cuatro ligandos seleccionados por el multiscreening de PyRx.

	PROTEINA	GEN	Ligandos obtenidos por PyRx	ΔG	Interacciones polares Puentes de hidrógeno	Interacciones electrostáticas
1	Apoptosis regulator Bcl-2	BCL-2	Lupeol	-6,9	Ser51	Phe49 - Glu135 - Phe138 - Val142 - Tyr180 - His184
			Quercitina	-6,8	Asp10 - Trp30	Arg12 - Met16 - His20 - Ala32 - Lys17 - Glu13
			Taraxerol	-7	Asn192; Leu209	Asn143 - Trp144 - Ala197 - Leu201 - Phe 212
			Flavona	-7	N.A	Lys22 - Arg26 - Gln25 - Asp102 - Ser105 - Arg106 - Arg109 - Glu152 - Gly155 - Val156 - Val159 -
2	Caspase - 3	CASP3	Lupeol	-6,8	N.A	Glu124 - Gly125 - Leu136 - Lys137 - Thr140 - Tyr195 - Tyr197 - Val266
			Quercitina	-6,7	Asn80 - Phe275 - His277	Met44 - Leu81 -Lys82 - Lys224 - Tyr276
			Taraxerol	-7,3	Thr62 - Arg207 (2)	Met61 - His121 - Glu123 - Phe128 - Tyr204 - Trp206 - Phe256
			Flavona	-7	N.A	Tyr204 - Ser205 - Trp206 - Phe256
3	Tumor necrosis factor receptor superfamily member 6	FAS	Lupeol	-6,5	N.A	Leu18 - Asn173 - Trp176 - Leu177
			Quercitina	-8	His151 - Glu168	Thr147 - Asn162 - Thr163 - Lys 164 - Cys165 - Lys166 - Glu167
			Taraxerol	-8,5	Ile184 - Ile187	Leu8 - Val11 - Leu12 - Val115 - Leu177 - Leu180 - Leu181 -
			Stigmasterol	-7	His151 - Cis165 - Glu168	Thr147 - Glu150 - Asn162 - Thr163 - Lys164 - Lys166 -
4	BH3-interacting domain death agonist	BID	Lupeol	-7,1	N.A	Gln26 - Arg34 - Asp38 - His42 - Leu47 - Pro49 - Trp51 - Glu52
			Quercitina	-6,4	Asn124 - Lys144 -Gln180 (2)	Glu121 - Arg125 - Ala128 - Glu132- Met148 - Asn181
			Taraxerol	-6,3	Arg88 - Gln92	Glu77 - Asn85 - His89 - Gly193 - Met194 - Asp195
			Flavona	-6,6	N.A	Phe22 - Gly41 - His42 - Leu47 - Gln50 - Trp51 - Glu52
5	Retinoblastoma- associated protein	RB1	Lupeol	-7,4	Gly509	Asp507 - Pro515 -arg556 - Ser560 - His699 - Val735 - Glu737 - Thr738
			Taraxerol	-7,5	Gln702	Leu546 - Ser560 - Asp697 - Arg698 - His699 - Glu737 - Arg741 - Thr738 - Tyr749
			Flavona	-7,6	N.A	Asp394 - Gln395 - Leu416 - Val419 - Lys420 - Gly423 - Tyr424 - Lys427 - Ser443 - Tyr446 -
			Stigmasterol	-7,5	Arg500 - Asp507 - Glu545	Ala496 - Gln504 - Ser499 - Ser513 - Phe514 - Lys548 - His549 - Arg552 -Arg566 - His733
6	Interleukin-6	IL6	Taraxerol	-7,5	Leu92 - Thr117 - Thr165	Asn91 - Pro93 - Lys94 - Lys98 - Asp99 - Thr110 - Val113 - Lys114 - Glu121 - Ala163
			Lupeol	-6,8	Glu121	Asp99 - Glu109 - Thr110 - Val113 - Lys114 - Thr117 - Ala163 - Thr165
			Campesterol	-6,3	Ser104	Met95 - Phe102 -Gln203 - Glu200 -Ser204 - Arg207
			Quercitina	-6,8	Lys98 - Lys114	Asp99 - Glu109 - Thr110 - Val113 - THr117 - Thr165 - Ala163
7	Interferon gamma receptor 1	IFNGR1	Lupeol	-8,9	N.A	Phe151 - Thr165 - Cys167 -Tyr161 - Tyr168 - Gln190 - Thr189 -Cys195 - Asp196 - Glu197
			Stigmasterol	-8,4	N.A	His147 - Phe151 - Thr165 - Cys167 -Tyr168 -Ile169 -Thr189 - Gln190 - Asp196 -Glu197
			Quercitina	-9,1	Asn153 - Ile169 - Thr189	His147 - Phe151 - Tyr161 - Pro163 - Tyr168 - Asp196 - Glu197
			Taraxerol	-9	Thr189 - Glu192 - Cys195	Val150 - Phe151 - Asn153 -Tyr161 - Thr165 - Tyr168 - Gln190 - Asp196

8	Interleukin-1 beta	IL1B	Lupeol	-8,2	Trp108	Glu111 - Tyr113 - Val114 - His115 - Gln164 - Lys208 - Lys209 - Lys210
			Quercetina	-8,3	08 -Tyr113 - Asn205 - Pro207 - Lys	Asp109 - Asn110 - Glu111 -Val114 - His115 - Gln164 - Lys208 - Lys209
			Stigmasterol	-7,5	Pro118 - Arg120	Ile103 - Phe105 - Trp108 - Val119 - Phe162 - Val163 - Glu167 - Lys209
			Taraxerol	-7,7	Trp108 - Tyr113 - Gln164 - Pro207	Glu111 - Val114 - His115 - Lys204 - Asn205 - Lys208 - Lys209 - Lys210
9	Interleukin-10	IL10	Campesterol	-8,5	N.A	Leu44 -Phe48 -Phe55 - Tyr90 - Val94 - Met95 - Ala98 - Leu112
			Lupeol	-9	N.A	Leu44 - Phe48 -Arg45 - Leu66 - Leu70 - Phe74 - Tyr90 - Leu116
			Stigmasterol	-8,5	N.A	Leu41 - Leu44 - Arg45 - Phe48 - Phe55 - Tyr90 - Val94 - Met95 - Leu112 - Leu116 -
			Quercetina	-7,9	Leu112 -Leu116	Leu44 - Arg45 - Phe48 - Leu83 -Ile87 -Tyr90 -Met95
10	Phosphoglycerate kinase 1	PGK1	Campesterol	-8,3	Asp52	Ala42 - Pro45 - Phe49 - Phe188 - Leu189 - Lys191 -Lys192
			Lupeol	-7,1	Asn195	Pro45 - Phe49 - Phe188 - Lys191 - Lys192
			Quercetina	-7,7	Asp52(2)	Pro45 - Lys48 - Phe49 - Phe188 - Lys191 - Lys192
			Stigmasterol	-7,9	N.A	Gln38 - Lys41 - Ala42 - Pro45 - Phe188 -Leu189 - Lys191 - Lys192
11	Heat shock 90 kDa protein 1-like	HSPA1L	Taraxerol	-8,5	79 -Asn153 - Gln156 - Thr228 Leu45	Asp82 - Pro83 - Tyr151 - Asp227
			Quercetina	-8	Try17 (2) - Lys58 - Glu270 - Asn366	Asn37 - Arg38 - Thr39 - Asp55 - Arg274 - Arg344 - Asp368 - Glu369
			Chalinersterol	-7,3	Arg511	Asp162 - Val165 - Gln158 -Thr506 - Leu512 - Lys514 - Ile517 - Glu518 - Val521
			Lupeol	-7,8	Asp227	Arg78 - Lys79 - Asp82 - Tyr151 - Asn153 - Val184 - Thr228 - Asn455 - Asn456
12	Cellular tumor antigen p53	P53	Lupeol	-7,5	N.A	Glu285 - Asn288 - Lys292 - Glu346 - Glu349 - Leu350 - Ala353
			Quercitina	-6,4	Lys164 - Glu271 - Glu346	Leu130 - Glu285 - Asn288 - Leu289 - Glu349 - Leu350
			Taraxerol	-6,8	Arg174 - His214	Trp91 - Pro92 - Glu180 -Arg181 - Gln192- Asp207 -Phe212
			Stigmasterol	-6,4	Arg175	Pro89 - Ser90 - Leu93 - Trp91 - Tyr163 - Glu171 - Val172 - Arg174- Gly244 - Gly245 - Arg249
13	Bcl-2-like protein 1	2L1; BC	Quercetina	-8,3	Ser106 - Thr109	Lys20 - Asp95 - Glu98 - Leu99 - Arg102 - Phe105 - Ala149
			Taraxerol	-7,2	Asp11 - Arg91	Arg6 - Glu7 - Val10 - Ser14 - Trp24
			Lupeol	-7,7	N.A	Lys20 - Glu98 - Arg102 - Phe105 - Ser106 - Thr109 - Ala149 -Val152 - Glu153 - Asp156
			Flavona	-8,6	N.A	Ala93 - Phe97 - Arg100 - Tyr101 - Gly138 - Val141 - Tyr195 -Ser203 - Gly206 - Phe210
14	Transforming growth factor beta-1 proprotein	TGFB1	Lupeol	-6,2	N.A	Glu98 - Glu100 - Ala101 - Leu271 - Gln272 - Arg277 - Ala279 - Thr282
			Flavona	-6,8	N.A	Glu100 - Thr263 - Ala268 - Leu271 - Gln272 - Ser274 - His276
			Taraxerol	-9	Thr282(2) - Cys293 - Asp333	Pro99 - Glu100 - Tyr103 - Arg277- Cys294 - Trp330 - Leu332 - Cys 387 -Lys388 - Cys389
			Stigmasterol	-8,7	Cys293 - Cys398	Arg277 - Thr282 - Trp330 - Leu332 - Asp333 - Gln359 - Lys388