



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS
SUPERIORES UNIDAD LEÓN**

TEMA:

**FARMACOLOGÍA DE SISTEMAS DE UN PRODUCTO
HERBOLARIO DE MEDICINA TRADICIONAL
MEXICANA.**

MODALIDAD DE TITULACIÓN:

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN CIENCIAS AGROGENÓMICAS

P R E S E N T A:

MARÍA JOSÉ CAMBERO ACOSTA

TUTOR 1:

DR. JULIO VEGA ARREGUÍN

TUTOR 2:

DR. GUILLERMO DE ANDA JAUREGUÍ



Unidad León Escuela
Nacional de
Estudios
Superiores León, Guanajuato

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

Índice.....	3
Índice de Figuras.....	5
Índice de Tablas.....	6
AGRADECIMIENTOS.....	7
DEDICATORIA.....	8
Resumen.....	9
I. Introducción.....	10
II. Objetivos.....	14
2.1 Objetivo general.....	14
2.2 Objetivos específicos.....	14
III. Hipótesis.....	14
IV. Antecedentes.....	15
4.1 Biología de sistemas y la farmacología.....	15
V. Justificación.....	17
VI. Materiales y Métodos.....	18
6.1 Selección de datos.....	18
6.2 Selección de posibles blancos farmacológicos de compuestos <i>galphimine</i> en SwissTargetPrediction.....	19
6.3 Búsqueda de interacciones moleculares con los posibles blancos de <i>galphimine</i> (String).....	20
6.4 Procesamiento de datos.....	21
6.5 Análisis y descripción de la red.....	21
VII. Resultados.....	23
7.1 Selección de posibles blancos farmacológicos de compuestos <i>galphimine</i> en SwissTargetPrediction.....	23
7.1.1. Galphimine_A.....	24
7.1.2. Galphimine_B.....	25
7.1.3. Galphimine_C.....	26
7.1.4. Galphimine_D.....	27
7.1.5. Galphimine_E.....	28
7.1.6. Galphimine_F.....	29
7.1.7. Galphimine_G.....	30
7.1.8. Galphimine_H.....	31
7.1.9. Galphimine_I.....	32
7.2 Búsqueda de interacciones moleculares con los posibles blancos de <i>galphimine</i> (String).....	33
7.2.1 Conjunto de todas las interacciones.....	33

7.3	Centralidad de grado.....	35
7.4	Centralidad de intermediación	39
7.5	Agrupamiento jerárquico	41
VIII.	Discusión.....	44
IX.	Conclusiones.....	46
X.	Referencias	47
XI.	Apéndice.	51
11.1	Análisis de datos:	51

Índice de Figuras

Figura I-1 Galphimia Glauca. Imágenes tomadas en Oaxaca, México por Miguel Sicilia y por Oswaldo Téllez en Puebla, México (Sicilia Manzo, 2012; Téllez Valdés, 2010)	10
Figura I-2 Distribución geográfica nativa de Galphimia Glauca en la República Mexicana (Domínguez Gervacio, 2021).....	11
Figura IV-1 Figura 3. Los estudios de farmacología de sistemas están cambiando la forma en que pensamos sobre la acción de medicamentos. (A) La visión clásica de la acción de un fármaco consta de un fármaco que interactúa con una diana terapéutica principal, la cual realiza la transducción de la señal a través de su vía efectora para mediar un efecto terapéutico y ciertos efectos secundarios. Dianas secundarias (Off-targets) adicionales pueden mediar los efectos a través de distintas vías efectoras para conducir a otros efectos secundarios y otros eventos adversos. (B) En una visión de farmacología de sistemas, el fármaco interactúa con múltiples dianas moleculares. Estas dianas se hallan dentro de una red compleja que puede mediar la respuesta a los fármacos que conducen, tanto a los efectos terapéuticos como adversos. Tomado de García Acero, & Díaz Gimeno. (2019)	16
Figura VI-1 Diagrama descriptivo de la metodología general.....	18
Figura VI-2 Parámetros por defecto en el programa de SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	19
Figura VI-3 Parámetros por defecto en el programa de String (https://string-db.org/).	20
Figura VI-4 Parámetros por defecto en el programa de String (https://string-db.org/).	21
Figura VII-1 Resultado total de búsqueda en STRING para las posibles interacciones moleculares experimentalmente con los posibles blancos farmacológicos extraídos de Swiss Target Prediction para todos los datos de Galphimine (https://string-db.org/).	34
Figura VII-2 (a) Histograma de distribución de grado. (b) Subgrafo de proteínas con alta conectividad (grado mayor que o igual a 45) obtenido de STRING para las posibles interacciones moleculares experimentalmente (https://string-db.org/).....	35
Figura VII-3 (a) Histograma de distribución de intermediación. (b) Subgrafo de proteínas con alta intermediación (mayor que 700) obtenido de STRING para las posibles interacciones moleculares experimentalmente (https://string-db.org/) (c) Diagrama de dispersión de la intermediación en función de la centralidad de grado.....	40
Figura VII-4 Gráfica que identifica los grupos obtenidos por medio de agrupamiento jerárquico.....	42
Figura VII-5 Dendrograma de la partición obtenida por medio de agrupamiento jerárquico.....	43

Índice de Tablas

Tabla VII-1 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_A, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	24
Tabla VII-2 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_B, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	25
Tabla VII-3 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_C, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	26
Tabla VII-4 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_D, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	27
Tabla VII-5 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_E, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	28
Tabla VII-6 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_F, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	29
Tabla VII-7 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_G, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	30
Tabla VII-8 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_H, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	31
Tabla VII-9 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_I, en SwissTargetPredicction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).....	32
Tabla VII-10 Proteínas con mayor centralidad de grado	36
Tabla VII-11 Proteínas con mayor centralidad de intermediación.	40

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar gracias, primeramente, a Dios y al Universo, y a mis padres, que han sido los pilares de mi vida. Siempre me han apoyado en cada decisión que he tomado y han buscado la forma de animar mi formación. Gracias por nunca permitir que me rindiera, esto no sería posible sin ustedes. Los amo.

Agradezco a mis hermanos Toni, Carla y Fani, también a mis hermanos de otra madre: Carolina, Omar, Luis, Fernanda, Gerardo, Gaby y Ana. Gracias por estar siempre que los necesité, por acompañarme en cada paso y cada lagrima, ya sea a la distancia o en presencia, pero siempre han estado ahí.

Gracias a mis primas, primos, tíos y tías que me apoyaron siempre, al recibirme en sus casas para yo continuar con mi proyecto de investigación. Gracias por darme esas palabras de aliento o corregirme en el camino. Gracias por nunca dejarme sola.

Gracias ENES León por brindarme una educación de calidad, Agradezco a cada uno de mis profesores por la paciencia. Gracias Dr. Antonio Hernández por darme la oportunidad de iniciar mi camino en la investigación con usted. Gracias Dr. Abraham por inspirarme en el campo de las redes de interacción y por abrirme camino en el mundo de enseñanza a través de Carpentries Mx, junto con la Dra. Nelly. Gracias Dr. Carlos por enseñarme que la biología y las matemáticas nunca han estado peleadas. Y gracias a todos los profesores que se convirtieron en mentores para mi crecimiento laboral y personal.

En especial agradezco a la institución por cruzar en mi camino a personas tan maravillosas que se convirtieron en mi familia de León: Vanessa, Aaron, Citlali, Abel, Alberto, Gema, Karen, Javi, Andrés, Toledo, y Rojo. Sin ustedes, la universidad no hubiera sido posible. Me quedo con todas las vivencias y con la certeza que siempre podemos contar los unos con nosotros. Gracias, los quiero.

Agradezco al Dr. Guillermo por aceptarme como su tesista, por acompañarme en este proceso de titulación y, sobre todo, por la gran paciencia ha tenido a lo largo de esto. Gracias por ser un mentor, por ser comprensivo en cada situación y, sobre todo, por nunca rendirse conmigo. Gracias a la gran institución del INMEGEN que lo acompaña, a los servicios escolares por ayudarme en cada trámite y a todo el grupo de Computational Systems Biology, Integrative Genomics and Biological Physics Arenas por su apoyo.

Gracias a mis amigos que, a pesar de la distancia, han estado presentes: de Jala a Alcatraz, Iliana, Miguel, Aldair, Jesús y Kevin. De Tepic, a Gabriel, Puchis, Saed y Martín. Gracias a cada una de estas personitas que lograron estar a mi lado, incluso sin estar físicamente. Los adoro.

Y finalmente, gracias a mi compañero de vida, que ha estado presente en las buenas y malas. Ragiseev, siempre me has apoyado, incluso cuando no conocías la carrera que quería estudiar. Hemos pasado por tantas cosas y sigues a mi lado. Te amo.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mis abuelos maternos: mi Mamá Luz, que falleció mientras yo realizaba este trabajo, y mi abuelo José, que falleció cuando yo era una niña. Gracias porque de ustedes aprendí la luz tan bonita que tiene este mundo.

A mis abuelos paternos, mi Nino Toño y mi Nina Raquel. Cada viaje que yo emprendí a León, siempre me dijeron lo mismo: "Primero la escuela, ya tendrás tiempo para divertirte". Gracias por seguir a mi lado, por animarme a para terminar mi tesis y titularme. Gracias por tanto amor y cariño.

A mis padres, que sin ellos esto no sería posible.

A mi hermana Carla, que aunque no está físicamente en este mundo, siempre sé que está a mi lado. Gracias por ser mi luz en cada momento de oscuridad.

A mi hermano Toni, por ser mi motivación.

A todos los estudiantes que han pasado o están pasando por este proceso, quiero decirles que no es fácil y habrá momentos en los que querrán rendirse, tal vez una y otra vez. Pero créanme cuando les digo que no se comparen con los demás, cada camino es perfecto tal y como es. Disfruten el proceso y no se rindan. Es una satisfacción enorme poder subir su tesis a la Biblioteca Central de la UNAM.

Resumen

Galphimia Glauca es un arbusto utilizado en la medicina tradicional mexicana desde hace mucho tiempo. Sus usos van desde sedantes, como tratamiento de inflamación, antioxidante, e incluso en enfermedades degenerativas como el cáncer. Este proyecto tiene como objetivo unir la medicina tradicional con la medicina personalizada, al utilizar herramientas bioinformáticas como farmacológicas. Las *galphiminas A-* /son los compuestos activos del árnica roja, de los cuales se localizaron 180 blancos farmacológicos que forman una red de 1386 interacciones entre ellos dentro del cuerpo humano. Las interacciones son proteína-proteína, las cuales incluyen asociaciones físicas y funcionales. Estas son derivadas de predicciones computacionales basadas en experimentos de laboratorio de alto rendimiento. Se caracterizó la red subyacente, se analizó la conectividad por medio de la centralidad de grado e intermediación y la cohesividad por medio del agrupamiento jerárquico. Por medio de los dos primeros análisis, resaltó en ambos el blanco SRC. Siendo el blanco más importante tanto de centralidad como de intermediación. SRC es una proteína implicada en la respuesta inflamatoria, como otros procesos importantes. En el análisis de agrupación jerárquica se identificaron 9 subconjuntos, de los cuales 3 comunidades sobresalen al tener más nodos en interacción. Concluyendo que dentro de estas comunidades no sólo comparten similitudes estructurales, también funcionales. Este estudio que involucra la medicina tradicional mexicana con la farmacología de redes proporciona una visión prometedora sobre el potencial terapéutico de *Galphimia glauca*, respaldando con los resultados la importancia de continuar con la investigación tanto in vitro como in vivo para el desarrollo de futuros tratamientos.

I. Introducción.

La *Galphimia glauca* (Fig. I.1) es utilizada ampliamente en la medicina tradicional mexicana, por sus distintos efectos terapéuticos como sedante y tranquilizante. En los registros se conoce que durante la guerra civil en México se hacían infusiones con el tallo y las hojas para los soldados con episodios de ansiedad (Sharma et al., 2012, 2018). Se han descubierto reacciones relajantes, sedantes, ansiolíticas, antialérgicas y antiinflamatorias.



Figura I-1 *Galphimia Glauca*. Imágenes tomadas en Oaxaca, México por Miguel Sicilia y por Oswaldo Téllez en Puebla, México (Sicilia Manzo, 2012; Téllez Valdés, 2010)

G. glauca es un arbusto con propiedades medicinales, mayormente conocido como árnica roja (*Galphimia glauca Cav.*), perteneciente a la familia Malpighiaceae, puede llegar a medir de 1 a 3 metros de altura. Sus características fenotípicas se basan en flores como racimos amarillos y floreados, las hojas ovadas o alargadas por la parte superior del arbusto son verdes y en la parte inferior pueden llegar a ser un verde más azulado. Los frutos se dan en pequeñas cápsulas (*Biblioteca Digital de La Medicina Tradicional Mexicana*, 2014).

Es una planta endémica de adaptada al clima y a las zonas de altura como también a los planos, con una distribución en los estados de Aguascalientes, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Nuevo León, Querétaro, Tamaulipas y Zacatecas. Los cuales pertenecen a la zona central y noreste del país como se muestra en la **Figura I-2** (Sharma et al., 2018).



Figura I-2 Distribución geográfica nativa de *Galphimia Glauca* en la República Mexicana (Domínguez Gervacio, 2021).

Los cultivos del árnica roja se dan de manera silvestre. Sin embargo, un arbusto puede proliferar por medio de un tallo como base, para conseguir que éste emita raíces y así obtener un nuevo individuo. Este proceso se puede complementar con enraizadores ya sean químicos u orgánicos, comerciales o caseros (ARBA, 2011).

Por otro lado, en una investigación de Gabriela Rojas et al. (2005) se realizó una propagación *in vitro* y se observó un múltiple crecimiento de brotes, a partir de yemas axilares en medio nutritivo *Murashige y Skoog* con distintas combinaciones de reguladores de crecimiento. En sus resultados se menciona el crecimiento máximo en un periodo aproximado de 60 días con 20 brotes por yema axilar. Como también se comprobó la efectividad del método al lograr transferir a condiciones de campo con un 90% de supervivencia, observando un cambio mínimo en la concentración de los compuestos orgánicos activos en comparación con plantas silvestres (Rojas-Bribiesca et al., 2005).

Los distintos compuestos orgánicos, llamados *galphiminas A-I*, presentan propiedades antioxidantes, antiproliferativas, proapoptóticas, antiangiogénicas y antiinflamatorias. Uno de los problemas es que estos mismos compuestos pueden llegar a afectar funciones enzimáticas y proteicas (González-Cortazar et al., 2014; Sharma et al., 2018; Tortoriello & Lozoya, 1992).

Es interesante conocer un poco más cada una de estas actividades, las cuales se describen a continuación:

- La actividad antioxidante se refiere a inhibir el proceso de oxidación, con esto evitar la producción de radicales libres (moléculas inestables). Se basa en distintos mecanismos como la transferencia de átomos de hidrogeno, la transferencia de un solo electrón, poder reductor, entre otros (Shahidi & Zhong, 2015).
- La actividad antiproliferativa es la supresión de crecimiento celular, especialmente células cancerígenas. Esta actividad resulta de la regulación de la expresión de genes, iniciada por la vía de transducción de señales y la activación transcripcional de JAK y STAT (Davis & Fernández-Martínez, 2017).
- Actividad proapoptótica es la inducción de la apoptosis (muerte celular programada), esta actividad se realiza al descomponer las células dañadas o innecesarias de forma ordenada y controlada, con el fin de mantener el equilibrio en los tejidos y órganos. Esto se hace por medio de una vía de señalización que involucra distintas proteínas y moléculas, cada una de ellas con un propósito distintos. Los excesos de esta actividad pueden llegar a provocar distintas enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson o la de Huntington (NIH, 2022).
- Actividad antiangiogénica se resumen en evitar que crezcan vasos sanguíneos en base a otros vasos preexistentes. Esta actividad esta principalmente estudiada en proteínas importantes como las tirosinas quinasas, involucradas en la proliferación y migración celular (Gotink & Verheul, 2010).

- Actividad antiinflamatoria es la respuesta a la inflamación. Usualmente causada por lesiones tisulares o respuesta a patógenos, estos son reconocidos por las células inmunitarias que al actuar se produce la inflamación. Esto puede llegar a provocar una inflamación crónica, esto activa factores de transcripción como MAPK (proteínas quinasas activadas por mitógenos) y varias enzimas como I kappa B quinasa (IKK). La inflamación crónica es causa de enfermedades como artritis, asma, fibrosis hepática, trastornos neurodegenerativos, etc. (Dvorakova & Landa, 2017).

El rompimiento o alteración de redes en nuestras células, metabolismos, etc., son responsables de distintos problemas en nuestro organismo que terminan en enfermedades. Muchas de las cuales comúnmente, desde el inicio de los humanos hasta la fecha, son tratadas por remedios caseros o fármacos, que en su mayoría provienen de las plantas o de químicos simulando el efecto de éstas. Conocemos distintos medicamentos que funcionan, pero pueden surgir efectos secundarios que afectan otras líneas de la red de interacciones moleculares. Gracias al auge de la medicina genómica, se tiene como objetivo principal poder crear medicamentos que logren curar enfermedades sin generar daños secundarios (Barabási, 2016).

II. Objetivos

2.1 Objetivo general

La caracterización de los efectos terapéuticos y toxicológicos de compuestos activos *galphiminas A-I* en *Galphimia glauca* a partir de la red de interacciones moleculares de sus blancos farmacológicos.

2.2 Objetivos específicos

- Identificación de molécula(s) activa(s) de los compuestos *galphiminas A-I* por medio de la predicción por similitud de SwissTargetPrediction.
- Identificación de la red de interacción de los blancos farmacológicos en String.
- Caracterización de la red y análisis de conectividad por medio de centralidad de grado y la centralidad de intermediación.
- Identificar la cohesividad por medio del método de agrupamiento jerárquico.
- Caracterización de los blancos farmacológicos de los compuestos *galphiminas A-I* con mayor interacción molecular entre los mismos.

III. Hipótesis

La caracterización de los blancos asociados a las funciones biológicas nos lleva a proponer la actividad molecular del arbusto de *Galphimia glauca* como un todo con los efectos farmacológicos que este proceso causa en humanos.

IV. Antecedentes

4.1 Biología de sistemas y la farmacología

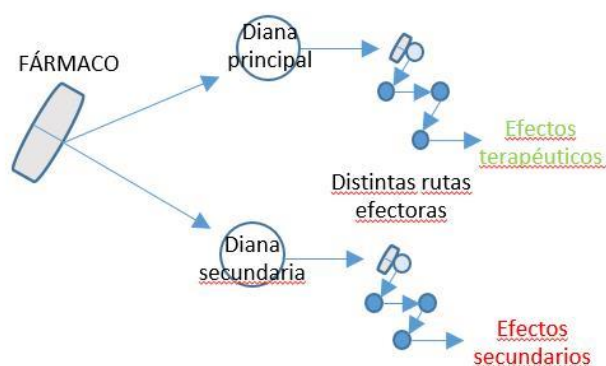
Después que se finalizó el primer ensamble del genoma humano, comenzó una gran etapa para la medicina genómica. Desde las aplicaciones para el diagnóstico de las enfermedades genéticas, como la creación de tratamientos especializados para las mismas. Sin embargo, para comprender más sobre enfermedades que afectan nuestro cuerpo en general, es necesario comprender cómo funciona nuestra célula. Para después comprender cómo funciona nuestro organismo y cuerpo, es necesario conocer las redes de las interacciones, desde el nivel genético, proteico y metabólico (Barabási, 2016; García Acero & Díaz Gimeno, 2018).

Gracias a los múltiples descubrimientos en la biología molecular, se volvió al mismo tiempo muy complicado el análisis de tanta información como también la extracción de ésta. El descubrimiento y el uso que se les da a las nuevas herramientas informáticas son indispensables para la resolución de problemas biológicos. Gracias a esta demanda de información nacen las bases de datos, las cuales facilitan el almacenamiento de la información por áreas (Attwood et al., 2011; García Acero & Díaz Gimeno, 2018).

Dentro de esta área tan amplia existe una teoría llamada la teoría de grafos, la cual se emplea en la visualización, interpretación y análisis de redes biológicas, esto sirve para la representación de interacciones complejas que están envueltas en diferentes entidades de un sistema. Una red de relaciones se ve representada por un grafo, el cual tiene vértices o nodos y aristas, esto representan entidades biológicas y la relación entre ellos respectivamente (Ahmed et al., 2016; García Acero & Díaz Gimeno, 2018).

Es el estudio de fármacos, blancos y efectos farmacológicos, mediante la aplicación de la biología de sistemas, en conjunto con la recopilación de datos en estudios experimentales a gran escala con análisis computacionales (Fig. IV.3), nos puede proporcionar información sobre los posibles efectos secundarios y daños a objetivos no previstos. Esto puede dar lugar a futuros medicamentos más seguros y con un menor riesgo a efectos secundarios (García Acero & Díaz Gimeno, 2018; Keiser et al., 2007).

A) Visión clásica de acción de fármacos



B) Visión de acción de fármacos de farmacología de sistemas

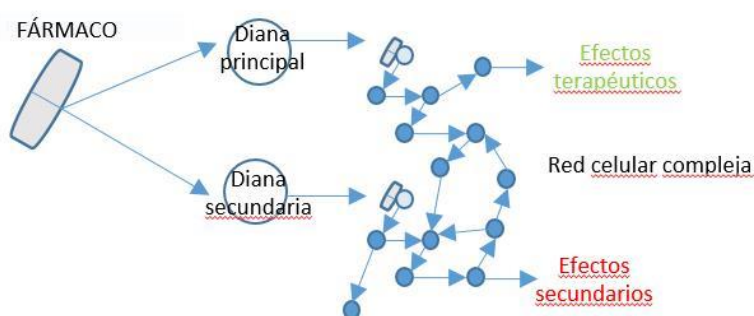


Figura IV-1 Figura 3. Los estudios de farmacología de sistemas están cambiando la forma en que pensamos sobre la acción de medicamentos. (A) La visión clásica de la acción de un fármaco consta de un fármaco que interactúa con una diana terapéutica principal, la cual realiza la transducción de la señal a través de su vía efectora para mediar un efecto terapéutico y ciertos efectos secundarios. Dianas secundarias (Off-targets) adicionales pueden mediar los efectos a través de distintas vías efectoras para conducir a otros efectos secundarios y otros eventos adversos. (B) En una visión de farmacología de sistemas, el fármaco interactúa con múltiples dianas moleculares. Estas dianas se hallan dentro de una red compleja que puede mediar la respuesta a los fármacos que conducen, tanto a los efectos terapéuticos como adversos. Tomado de García Acero, & Díaz Gimeno. (2019)

Desarrollar, descubrir o reutilizar moléculas llamadas bioactivas, es una de las claves para lograr identificar proteínas objetivo. La predicción para estos objetivos se divide actualmente en dos categorías: una que se realiza basada en la estructura (un diseño molecular asistido por computadora que se refiere al uso de la estructura tridimensional de la proteína); y otra basada en ligandos. Se realiza un análisis de estructuras tridimensionales de las proteínas y se compara con los ligandos conocidos, esto basado en la idea de proteínas con estructuras similares (Daina et al., 2019).

SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php) utiliza una predicción de objetivos basada en ligandos, esto se hace a partir de sus representaciones tridimensionales entre un blanco (proteico) y un compuesto. Demostrando ser rápida y eficaz en el descubrimiento de estos objetivos

como también en el descubrimiento de nuevos fármacos (Cereto-Massagué et al., 2015; Daina et al., 2019; Ding et al., 2013).

V. Justificación

Los efectos positivos que se han observado a lo largo del tiempo, por medio de la medicina tradicional mexicana con el árnica roja son: sedantes, antiinflamatorios, protección contra convulsiones en algunos estudios, entre otros (González-Cortazar et al., 2014; Sharma et al., 2018; Tortoriello & Lozoya, 1992). La investigación planteada fusiona la medicina tradicional mexicana con la farmacología actual. Al utilizar la información conocida de los compuestos *galphiminas A-I* y unir la caracterización de interacciones de interés. Estas interacciones involucran la actividad molecular provocada por los compuestos y la actividad molecular humana.

Según un informe de Elsevier Connect (2018), se apreció que entre el 7% y 8% de los ingresos hospitalarios son atribuibles a los efectos secundarios de diferentes medicamentos, lo cual resulta preocupante. Aún más alarmante es que aproximadamente el 10% de esos ingresos son mortales. Estas cifras se justifican en gran medida por problemas relacionados a la dosificación y el equilibrio costo-beneficio de los medicamentos.

Afortunadamente, gracias a investigaciones en curso, se están logrando avances significativos en la mejora de las dosificaciones y el desarrollo de medicamentos más personalizados (Elsevier Connect, 2018). Estos avances permiten que los fármacos actúen de manera más precisa y limitada a los efectos deseados, reduciendo así los efectos secundarios no deseados.

Además, esta investigación sienta las bases para futuros estudios y estrategias basadas en la farmacología de redes, lo cual ofrece una perspectiva prometedora para el desarrollo de nuevos métodos y enfoques en el campo de la medicina.

VI. Materiales y Métodos

Los pasos generales tomados para obtener y analizar la red de interacciones entre blancos farmacológicos se presentan esquemáticamente en la **Figura VI-1** y se describen ampliamente en las siguientes secciones.

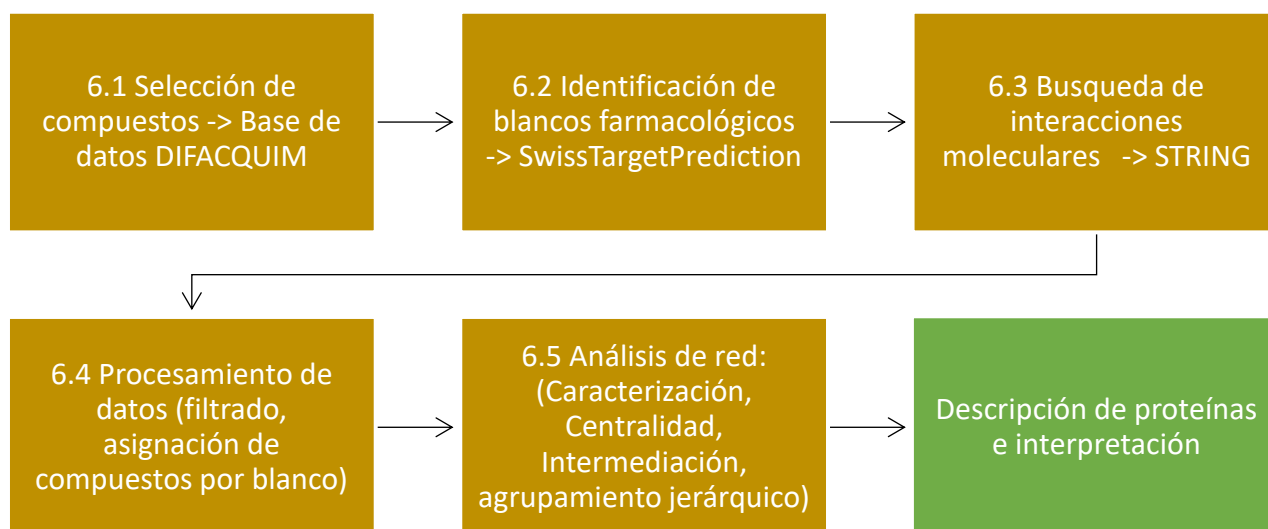


Figura VI-1 Diagrama descriptivo de la metodología general.

6.1 Selección de datos

Los compuestos de interés farmacológico en *Galphimia glauca Cav*, *Galphimine A-I*, fueron extraídos de *BIOFACQUIM database de la UNAM*. Esta base de datos se compone de nueve diferentes bases de datos públicas con asociaciones compuesto-blanco de alta confianza. Lo que distingue a esta base de datos es la búsqueda de estandarización por medio de un protocolo de curación estandarizado, el cual incluye eliminación de duplicados, lavado de moléculas, etc. todo esto para enfocarse en la confiabilidad de los datos y la amplia cobertura (<https://www.difacquim.com/d-databases/>).

Posterior a tener los datos de los compuestos importantes de *Galphimia glauca*, se evaluaron los *SMILES* del inglés *Simplified Molecular Input Line Entry System* siendo un tipo de notación de línea para la estructura química de las especies (“Simplified Molecular-Input Line-Entry System,” 2020). Estos datos se obtuvieron de la misma base de datos antes mencionada, en conjunto con NCBI (<https://www.NCBI.com/d-databases/>; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

6.2 Selección de posibles blancos farmacológicos de compuestos *galphimine* en SwissTargetPrediction.

SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php) tiene como objetivo predecir aquellos objetivos proteicos (blancos farmacológicos) más probables de las moléculas *galphiminas*. Esta herramienta se basa en el principio de similitud, gracias a la búsqueda de moléculas similares en 2D y 3D. Todo esto gracias a una colección de compuestos, los cuales se sabe que son activos de manera experimental (Daina et al., 2019). Actualmente estos compuestos se dividen por especie, *Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*.

Las moléculas de consulta son los compuestos de interés farmacológico *Galphiminas A-I*. La búsqueda se hizo con los parámetros por defecto y como datos de ingreso son los SMILES, extraídos de las bases de datos de BIOFACQUIM database y NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Se tomó como especie de investigación al *Homo sapiens*. Como se muestra en la **Figura VI-2** (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

The image shows a screenshot of the SwissTargetPrediction website. The page header includes the logo of the Swiss Institute of Bioinformatics and navigation links like Home, FAQ, Help, Download, Contact, Disclaimer, and old.swisstargetprediction.ch. The main content area contains a description of the tool and a 'Select a species' section with radio buttons for Homo sapiens (selected), Mus musculus, and Rattus norvegicus. Below this is a text input field for SMILES with a 'Clear' button and a 'Predict targets' button. A note at the bottom says '(Provide a SMILES before submitting)'. To the right, a MarvIn JS editor window is open, showing a chemical structure editor interface with a toolbar and a list of elements (H, C, N, O, S, F, P, G, Br, I). Three callout boxes with lines pointing to the interface are present: 'Selección de especie' points to the species selection area; 'Molécula de consulta de entrada. Formato SMILES' points to the input field; and 'Dibujar o modificar la molécula de consulta usando MarvInJS editor molecular' points to the MarvIn JS editor window.

Figura VI-2 Parámetros por defecto en el programa de SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

6.3 Búsqueda de interacciones moleculares con los posibles blancos de *galphimine* (String).

La base de datos de STRING (<https://string-db.org/>) integra interacciones de proteína- proteína, incluyendo asociaciones físicas y funcionales. Estas asociaciones se derivan de una predicción computacional, la transferencia de conocimiento entre organismos y de interacciones obtenidas de bases de datos primarias como: predicciones del contexto genómico, experimentos de laboratorio de alto rendimiento, coexpresión, minería de texto automatizada y conocimientos previos en bases de datos. Esta base de datos cubre más de 14,000 organismos y más de 67'000,000 de proteínas (Szkarczyk et al., 2023).

Los blancos de interés farmacológico de *galphiminas A-I*, construyeron la base para buscar sus interacciones moleculares en el programa de String-db, como se muestra en la **Figura VI-3.** y **Figura VI-4.** (<https://string-db.org/>). Esto fue realizado al utilizar como organismo al *Homo sapiens* y parámetros por defecto.

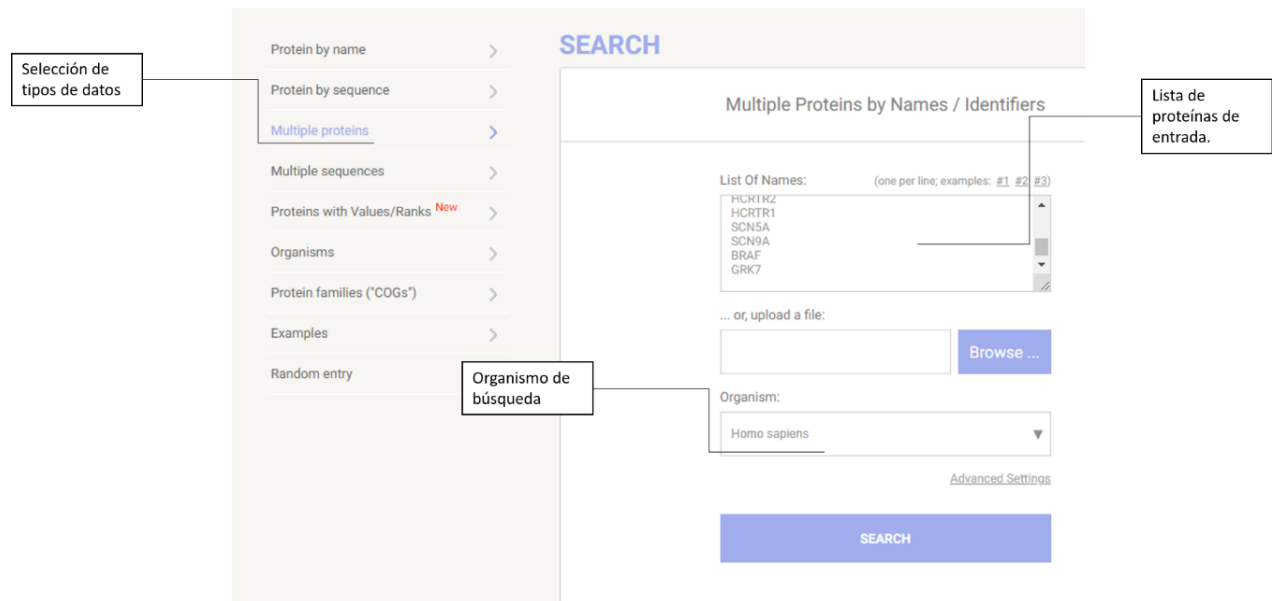



Figura VI-3 Parámetros por defecto en el programa de String (<https://string-db.org/>).

Version: 11.0 LOGIN REGISTER

 Search Download Help My Data

The following proteins in *Homo sapiens* appear to match your input. Please review the list, then click 'Continue' to proceed.

100 query items showing page 1 of 5 • first • previous • next • last

1) 'NR3C1':

- NR3C1** - Glucocorticoid receptor; Isoform Alpha-D3: Has lowest transcriptional activation activity of all isoforms created by alternative initiation. Has transcriptional repression activity; Nuclear hormone receptors
- RANBP9 - Ran-binding protein 9; May act as an adapter protein to couple membrane receptors to intracellular signaling pathways. May be involved in signaling of ITGB2/LFA-1 and other integrins. Enhances HGF-MET signaling by recruiting Sos and activating the Ras pathway. Enhances dihydrotestosterone-induced transactivation activity of AR, as well as dexamethasone-induced transactivation activity of **NR3C1**, but not affect estrogen-induced transactivation. Stabilizes TP73 isoform Alpha, probably by inhibiting its ubiquitination, and increases its proapoptotic activity. Inhibits the kinase activity o [...] [a.k.a. RANBPM, AAK15469.1, CAI21594.1]
- PPP5C - Serine/threonine-protein phosphatase 5; Serine/threonine-protein phosphatase that dephosphorylates a myriad of proteins involved in different signaling pathways including the kinases CSNK1E, ASK1/MAP3K5, PRKDC and RAF1, the nuclear receptors **NR3C1**, PPARG, ESR1 and ESR2, SMAD proteins and TAU/MAPT. Implicated in wide ranging cellular processes, including apoptosis, differentiation, DNA damage response, cell survival, regulation of ion channels or circadian rhythms, in response to steroid and thyroid hormones, calcium, fatty acids, TGF-beta as well as oxidative and genotoxic stresses. Pa [...] [a.k.a. PPP5, Q53XV2, Q16722]

truncated ... [show all 18 options](#)

2) 'ABCB1':

- ABCB1** - Multidrug resistance protein 1; Energy-dependent efflux pump responsible for decreased drug accumulation in multidrug-resistant cells; ATP binding

Figura VI-4 Parámetros por defecto en el programa de String (<https://string-db.org/>).

6.4 Procesamiento de datos

El resultado de la red de interacciones en STRING (<https://string-db.org/>) de los blancos farmacológicos en *galphiminas A-1* de SwissTargetPrediction, (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php) se procesaron por medio de un código generado en R studio. Este código se encarga de procesar los datos para cada compuesto, sus blancos. Primeramente, se realizó la asignación de proteínas a cada compuesto, después se realizó un filtrado a cada una de las proteínas (target). Este filtrado utiliza el parámetro experimental mayor a cero. Todo esto para obtener las relaciones subyacentes.

6.5 Análisis y descripción de la red

El análisis de los datos de la red de interacciones se realiza al relacionar los blancos farmacológicos por centralidad de grado y centralidad de intermediación (Apéndice 11.1).

Formalmente un grafo no dirigido (denominaremos red) $G = (V, E)$ es una estructura matemática que consiste en un conjunto V de nodos (también llamados vértices) y un conjunto E de aristas (denominaremos interacción), donde los elementos de E son pares no ordenados $\{u, v\}$ de nodos distintos

$u, v \in V$. Cuando se considera el orden de los nodos para cada arista, lo llamamos digrafo o grafo dirigido (Barabási, 2016; Kolaczyk & Csárdi, 2014b).

Un camino en un grafo G desde un nodo u hasta un nodo v , es una sucesión alternada de aristas y nodos, sin repetición de nodos; en caso de que este camino exista decimos que v es accesible desde u . El grafo G es denominado conexo si cada nodo es accesible desde cualquier otro. Una componente de un grafo es un subgrafo conexo máximo. La distancia entre dos nodos es la longitud (número de aristas) del camino más corto entre ellos y el diámetro es la distancia máxima entre todas las parejas de nodos en el grafo (Barabási, 2016; Kolaczyk & Csárdi, 2014b).

Se define como centralidad de grado de un nodo el número de aristas incidentes en tal nodo, se utiliza para conocer la relevancia de un nodo, es decir, el nodo con mayor o menor interacción (Powell & Hopkins, 2015) La distribución de grado de todos los nodos nos ayuda a identificar grupos en términos de su conectividad. La centralidad de intermediación cuantifica cómo un nodo se encuentra entre otro par de nodos. La intermediación se define por la siguiente ecuación propuesta por Freeman,

$$C_B(v) = \sum_{s \neq t \neq v \in V} \frac{\sigma(s, t|v)}{\sigma(s, t)}$$

en donde $\sigma(s, t|v)$ es el número de caminos más cortos que pasan entre s y t que pasan a través de v y $\sigma(s, t)$ es el número total de caminos más cortos entre s y t ; es decir, es la proporción de rutas más cortas que pasan por v (Freeman, 1977; Kolaczyk & Csárdi, 2014a).

El agrupamiento jerárquico es un método para obtener una partición del grafo que refleje la cohesividad de subconjuntos de nodos en cada elemento de la partición (grupo). El criterio utilizado consiste en medir la modularidad, sea $\mathcal{C} = \{C_1, \dots, C_k\}$ una partición propuesta y definimos $f_{ij} = f_{ij}(\mathcal{C})$ como la fracción de aristas en la red original que conectan los nodos en C_i con los nodos en C_j . La modularidad de \mathcal{C} es el valor

$$mod(\mathcal{C}) = \sum_{k=1}^K [f_{kk}(\mathcal{C}) - f^*_{kk}]^2,$$

Donde f^*_{kk} es el valor esperado de f_{kk} bajo algún modelo de asignación aleatoria de aristas. Valores grandes de la modularidad sugieren que la partición \mathcal{C} captura la estructura no trivial del grupo, más allá de lo que se espera que ocurra bajo la asignación aleatoria de aristas. Por lo tanto, el método maximiza la modularidad sobre el conjunto de todas las particiones posibles, identificando comunidades o grupos (Kolaczyk & Csárdi, 2014b).

VII. Resultados

7.1 Selección de posibles blancos farmacológicos de compuestos galphimine en SwissTargetPrediction

En *Glaphimia Glauca* los compuestos de interés farmacológico son las *Galphiminas A-I*, las cuales arrojan el siguiente resultado de la búsqueda por medio de SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php). Este resultado se ve expresado en las siguientes Tablas (Tabla VII-1 – VII-9), mostrando en cada una de ellas los primeros 15 homólogos de blancos predichos con la mayor probabilidad de similitud especificada en las mismas.

Las tablas completas se encuentran en la sección Apéndices, cada tabla se expresa como SwissTarget_A que corresponde a la Tabla VII.1 y así en cada una de ellas. Este resultado nos arroja el nombre científico del blanco (Target), el nombre común (common name), ambos identificadores en Uniprot y ChEMBL, la clasificación en la que se encuentra (Target class), la cual nos puede decir mucho sobre la función en la que actúa. La probabilidad que tienen de que la molécula de consulta, la cual se asume como bioactiva, tenga dicha proteína como blanco. La parte final de activos conocidos (Known actives), son las moléculas conocidas como activas sobre un determinado blanco.

7.1.1. Galphimine_A

Tabla VII-1 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_A, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.13015438	153 / 15
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.13015438	61 / 235
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.12190626	107 / 65
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.12190626	98 / 28
Protein kinase C delta (by homology)	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.12190626	62 / 59
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0.12190626	102 / 58
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.12190626	119 / 109
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.12190626	3 / 2
Protein kinase C epsilon	PRKCE	Q02156	CHEMBL3582	Kinase	0.12190626	18 / 28
Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit	IKBKB	O14920	CHEMBL1991	Kinase	0.12190626	19 / 6
Progesterone receptor	PGR	P06401	CHEMBL208	Nuclear receptor	0.12190626	20 / 42
Phospholipase A2 group IIA	PLA2G2A	P14555	CHEMBL3474	Enzyme	0.12190626	19 / 8
Isoleucyl-tRNA synthetase	IARS	P41252	CHEMBL3235	Enzyme	0.12190626	0 / 4
Glutathione S-transferase Mu 1	GSTM1	P09488	CHEMBL2081	Enzyme	0.12190626	0 / 1
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.12190626	39 / 7

7.1.2. Galphimine_B

Tabla VII-2 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para Galphimine_B, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.13394463	171 / 15
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.13394463	86 / 232
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.13394463	198 / 109
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.12568725	124 / 27
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0.12568725	101 / 57
Progesterone receptor	PGR	P06401	CHEMBL208	Nuclear receptor	0.12568725	40 / 42
Apoptosis regulator Bcl-X	BCL2L1	Q07817	CHEMBL4625	Other ion channel	0.12568725	4 / 3
Phospholipase A2 group IIA	PLA2G2A	P14555	CHEMBL3474	Enzyme	0.12568725	16 / 8
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.12568725	81 / 57
Phosphodiesterase 4D	PDE4D	Q08499	CHEMBL288	Phosphodiesterase	0.12568725	11 / 11
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.12568725	5 / 2
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.12568725	136 / 67
Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit	IKBKB	O14920	CHEMBL1991	Kinase	0.12568725	23 / 6
Protein kinase C epsilon	PRKCE	Q02156	CHEMBL3582	Kinase	0.12568725	23 / 27
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.12568725	46 / 6

7.1.3. Galphimine_C

Tabla VII-3 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_C*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Apoptosis regulator Bcl-X	BCL2L1	Q07817	CHEMBL4625	Other ion channel	0.14220904	4 / 3
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.14220904	125 / 38
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.13394463	180 / 112
Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit	IKBKB	O14920	CHEMBL1991	Kinase	0.13394463	21 / 6
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.13394463	73 / 226
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.13394463	149 / 72
Kappa Opioid receptor	OPRK1	P41145	CHEMBL237	Family A G protein-coupled receptor	0.12568725	568 / 9
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.12568725	5 / 2
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.12568725	78 / 51
Protein kinase C gamma	PRKCG	P05129	CHEMBL2938	Kinase	0.12568725	30 / 3
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.12568725	43 / 6
Protein kinase C eta	PRKCH	P24723	CHEMBL3616	Kinase	0.12568725	19 / 5
Progesterone receptor	PGR	P06401	CHEMBL208	Nuclear receptor	0.12568725	38 / 42
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.12568725	178 / 15
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0.12568725	77 / 68

7.1.4. Galphimine_D

Tabla VII-4 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_D*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.10108693	75 / 259
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.08330555	74 / 68
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.08330555	46 / 10
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.07439227	100 / 62
Protein kinase C epsilon	PRKCE	Q02156	CHEMBL3582	Kinase	0.07439227	20 / 32
Protein kinase C gamma	PRKCG	P05129	CHEMBL2938	Kinase	0.07439227	25 / 7
Protein kinase C eta	PRKCH	P24723	CHEMBL3616	Kinase	0.07439227	16 / 5
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.07439227	180 / 20
Protein kinase C theta	PRKCC	Q04759	CHEMBL3920	Kinase	0.07439227	49 / 7
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	0.07439227	50 / 15
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.07439227	169 / 103
Isoleucyl-tRNA synthetase	IARS	P41252	CHEMBL3235	Enzyme	0.07439227	0 / 4
Glutathione S-transferase Mu 1	GSTM1	P09488	CHEMBL2081	Enzyme	0.07439227	0 / 1
Proto-oncogene vav	VAV1	P15498	CHEMBL3259472	Unclassified protein	0.07439227	1 / 1
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.07439227	116 / 23

7.1.5. Galphimine_E

Tabla VII-5 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_E*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.11004125	76 / 261
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.08330555	74 / 67
Protein kinase C epsilon	PRKCE	Q02156	CHEMBL3582	Kinase	0.08330555	20 / 32
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.07439227	194 / 25
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.07439227	47 / 10
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.07439227	108 / 57
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	0.07439227	49 / 15
Protein kinase C gamma	PRKCG	P05129	CHEMBL2938	Kinase	0.07439227	26 / 7
Protein kinase C eta	PRKCH	P24723	CHEMBL3616	Kinase	0.07439227	16 / 5
Protein kinase C theta	PRKCQ	Q04759	CHEMBL3920	Kinase	0.07439227	49 / 7
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.07439227	121 / 20
Proto-oncogene vav	VAV1	P15498	CHEMBL3259472	Unclassified protein	0.07439227	1 / 1
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.07439227	166 / 99
Proteinase-activated receptor 2	F2RL1	P55085	CHEMBL5963	Family A G protein-coupled recep	0.07439227	0 / 1
Interleukin-8 receptor A	CXCR1	P25024	CHEMBL4029	Family A G protein-coupled recep	0.07439227	65 / 2

7.1.6. Galphimine_F

Tabla VII-6 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_F*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.12568725	7 / 2
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.12568725	184 / 17
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.12568725	174 / 21
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.12568725	186 / 115
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.12568725	76 / 238
Isoleucyl-tRNA synthetase	IARS	P41252	CHEMBL3235	Enzyme	0.12568725	0 / 4
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.12568725	166 / 57
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0.12568725	93 / 54
Apoptosis regulator Bcl-X	BCL2L1	Q07817	CHEMBL4625	Other ion channel	0.12568725	5 / 3
Ribosomal protein S6 kinase alpha 5	RPS6KA5	O75582	CHEMBL4237	Kinase	0.12568725	5 / 3
Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit	IKBKB	O14920	CHEMBL1991	Kinase	0.12568725	22 / 6
Voltage-gated potassium channel subunit Kv1.3	KCNA3	P22001	CHEMBL4633	Voltage-gated ion channel	0.12568725	13 / 2
Programmed cell death protein 4	PDCD4	Q53EL6	CHEMBL1781868	Unclassified protein	0.12568725	0 / 8
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.12568725	81 / 59
Kappa Opioid receptor	OPRK1	P41145	CHEMBL237	Family A G protein-coupled receptor	0.12568725	594 / 10

7.1.7. Galphimine_G

Tabla VII-7 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_G*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.083305553	74 / 263
Voltage-gated potassium channel subunit Kv1.3	KCNA3	P22001	CHEMBL4633	Voltage-gated ion channel	0.074392272	15 / 2
Protein kinase C epsilon	PRKCE	Q02156	CHEMBL3582	Kinase	0.074392272	18 / 32
Isoleucyl-tRNA synthetase	IARS	P41252	CHEMBL3235	Enzyme	0.074392272	0 / 4
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.074392272	65 / 66
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.074392272	195 / 41
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.074392272	52 / 9
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	CHEMBL230	Oxidoreductase	0.074392272	42 / 15
Protein kinase C gamma	PRKCG	P05129	CHEMBL2938	Kinase	0.074392272	25 / 7
Protein kinase C eta	PRKCH	P24723	CHEMBL3616	Kinase	0.074392272	16 / 5
Protein kinase C theta	PRKCQ	Q04759	CHEMBL3920	Kinase	0.074392272	40 / 8
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.074392272	131 / 16
Proto-oncogene c-JUN	JUN	P05412	CHEMBL4977	Transcription factor	0.074392272	7 / 6
Proteinase-activated receptor 2	F2RL1	P55085	CHEMBL5963	Family A G protein-coupled receptor	0.074392272	0 / 1
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.074392272	9 / 2

7.1.8. Galphimine_H

Tabla VII-8 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_H*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.12190626	129 / 17
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.12190626	79 / 55
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.12190626	71 / 21
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.12190626	5 / 2
Isoleucyl-tRNA synthetase	IARS	P41252	CHEMBL3235	Enzyme	0.12190626	0 / 4
Protein kinase C delta (by homology)	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.12190626	55 / 62
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.12190626	54 / 246
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	CHEMBL402	Oxidoreductase	0.12190626	74 / 111
Proto-oncogene c-JUN	JUN	P05412	CHEMBL4977	Transcription factor	0.12190626	8 / 6
Ribosomal protein S6 kinase alpha 5	RPS6KA5	O75582	CHEMBL4237	Kinase	0.12190626	4 / 3
Inhibitor of nuclear factor kappa B kinase beta subunit	IKBKB	O14920	CHEMBL1991	Kinase	0.12190626	20 / 6
Programmed cell death protein 4	PDCD4	Q53EL6	CHEMBL1781868	Unclassified protein	0.12190626	0 / 8
Voltage-gated potassium channel subunit Kv1.3	KCNA3	P22001	CHEMBL4633	Voltage-gated ion channel	0.12190626	9 / 2
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0.12190626	98 / 51
Proteinase-activated receptor 2	F2RL1	P55085	CHEMBL5963	Family A G protein-coupled receptor	0.12190626	0 / 1

7.1.9. Galphimine_I

Tabla VII-9 Primeros resultados de la búsqueda de posibles blancos farmacológicos para *Galphimine_I*, en SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php).

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	CHEMBL299	Kinase	0.08330555	73 / 266
Isoleucyl-tRNA synthetase	IARS	P41252	CHEMBL3235	Enzyme	0.07439227	0 / 4
Voltage-gated potassium channel subunit Kv1.3	KCNA3	P22001	CHEMBL4633	Voltage-gated ion channel	0.07439227	13 / 2
Protein kinase C delta	PRKCD	Q05655	CHEMBL2996	Kinase	0.07439227	69 / 66
Protein kinase C beta	PRKCB	P05771	CHEMBL3045	Kinase	0.07439227	49 / 9
Protein kinase C epsilon	PRKCE	Q02156	CHEMBL3582	Kinase	0.07439227	19 / 32
Telomerase reverse transcriptase	TERT	O14746	CHEMBL2916	Enzyme	0.07439227	9 / 2
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	CHEMBL335	Phosphatase	0.07439227	86 / 53
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	CHEMBL4302	Primary active transporter	0.07439227	191 / 40
Androgen Receptor	AR	P10275	CHEMBL1871	Nuclear receptor	0.07439227	118 / 51
Glucocorticoid receptor	NR3C1	P04150	CHEMBL2034	Nuclear receptor	0.07439227	128 / 16
Protein kinase C gamma	PRKCG	P05129	CHEMBL2938	Kinase	0.07439227	25 / 7
Protein kinase C eta	PRKCH	P24723	CHEMBL3616	Kinase	0.07439227	16 / 6
Protein kinase C theta	PRKCQ	Q04759	CHEMBL3920	Kinase	0.07439227	45 / 8
Proto-oncogene c-JUN	JUN	P05412	CHEMBL4977	Transcription factor	0.07439227	7 / 6

Resultados de los blancos farmacológicos en los compuestos *galphiminas A-I*, obtenidos del programa de SwissTargetPrediction (http://www.swisstargetprediction.ch/help_mol.php). De estos resultados sólo se utilizaron los primeros 100 de cada *Galphimina A-I* con mayor probabilidad. Los resultados se relacionan con distintas bases de datos: ChEMBL en caso de ser un complejo de proteínas y en Genecard y Uniprot las subunidades o componentes vinculados de manera individual (Daina et al., 2019).

7.2 Búsqueda de interacciones moleculares con los posibles blancos de *galphimine* (String).

7.2.1 Conjunto de todas las interacciones

El conjunto de interacciones entre los blancos de los compuestos de *Galphiminas A-I* se encuentra en la red obtenida de STRING (<https://string-db.org/>). Los enlaces de estos nodos corresponden a las interacciones determinadas experimentalmente, se descargó la red para un análisis posterior (<https://string-db.org/>). En la **Figura VII- 1** se muestra la representación gráfica de la red. Es un grafo simple no dirigido (no existen loops, ni multiaristas) con 180 nodos y 1386 aristas, no se consideró un grafo dirigido dado que las relaciones son simétricas, es decir, ProtA -> ProtB implica ProtB -> ProtA. No es conexo, consiste en un par de componentes conexas; la de menor tamaño contiene sólo un par de nodos IMPDH1 e IMPDH2, con la respectiva arista que las relaciona. En la componente de mayor tamaño (con 178 nodos y 1385 aristas) el diámetro es de 8 y se presenta una distancia media de 2.58, que indica una conectividad muy alta.

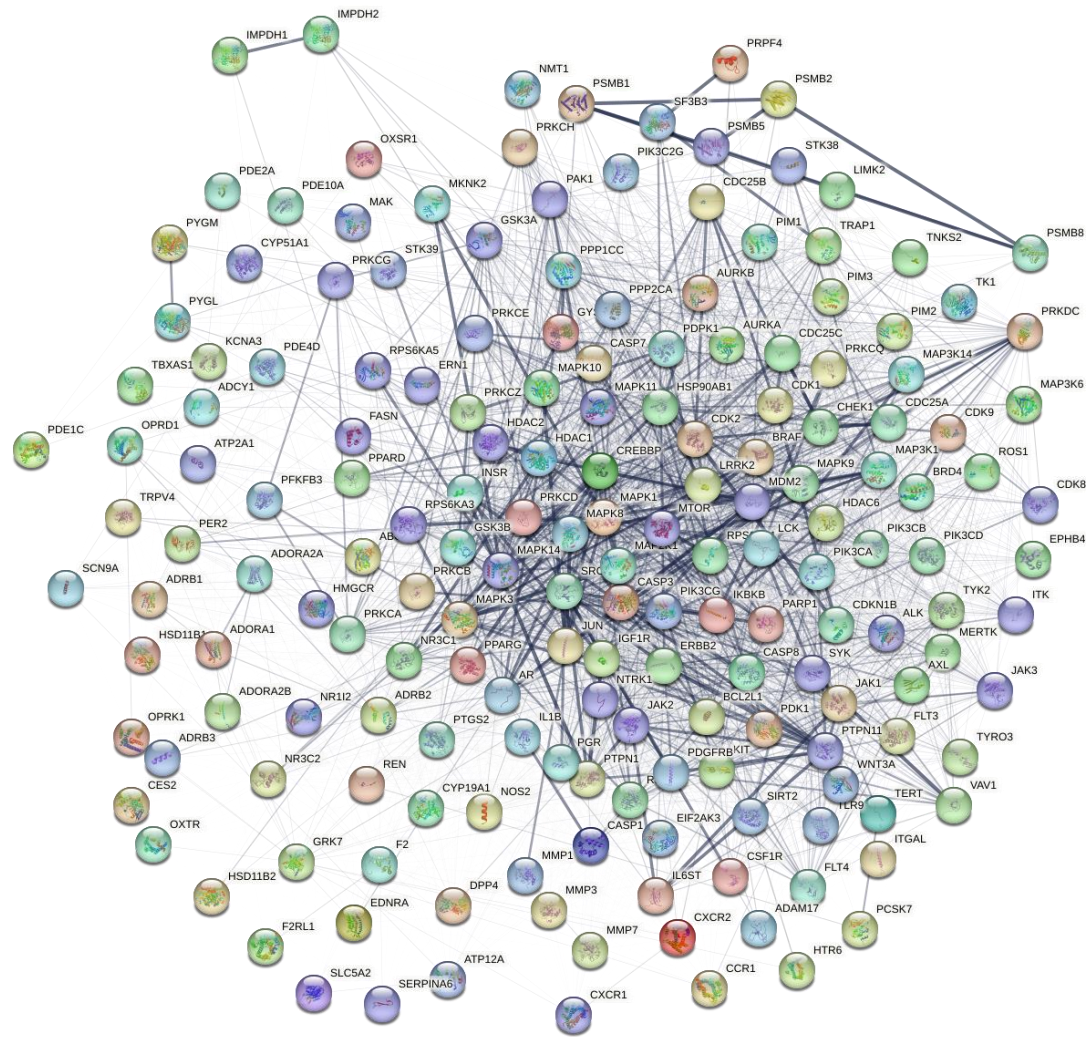


Figura VII-1 Resultado total de búsqueda en STRING para las posibles interacciones moleculares experimentalmente con los posibles blancos farmacológicos extraídos de Swiss Target Prediction para todos los datos de Galphimine (<https://string-db.org/>).

7.3 Centralidad de grado

Para describir la importancia de las proteínas considerando sus interacciones se calculó el grado de cada nodo. En la **Figura VII-2 (a)** se muestra la distribución de grado para los nodos. Se identifican algunos nodos con alta conectividad (grado mayor que o igual a 45), en la **Tabla VII-10** se indican cuáles son esas proteínas y en la **Figura VII-2 (b)** se muestra el respectivo subgrafo. Las proteínas que tienen mayor grado de centralidad son SRC, MTOR, MAPK3 y MAPK1 distinguiéndose del resto al tener un grado mayor que 65. Por otro lado, hay una proporción muy alta de nodos de grado bajo, en particular se observó que existen 51 nodos con grado menor que o igual a 3, de los cuales, 21 nodos tienen grado 1.

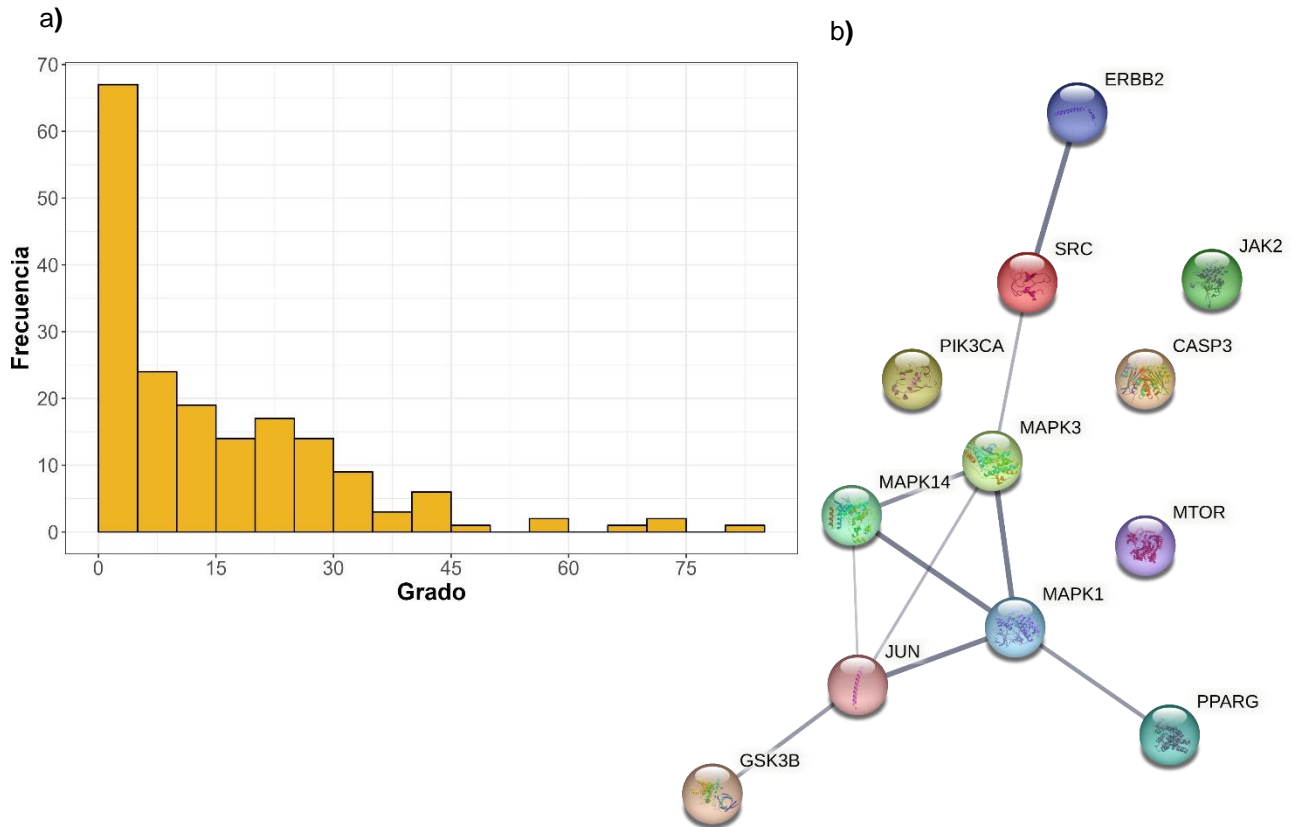


Figura VII-2 (a) Histograma de distribución de grado. **(b)** Subgrafo de proteínas con alta conectividad (grado mayor que o igual a 45) obtenido de STRING para las posibles interacciones moleculares experimentalmente (<https://string-db.org/>).

Tabla VII-10 Proteínas con mayor centralidad de grado

Proteína	Nombre	Grado	Compuesto compartido
SRC	Protooncogén tirosina-proteína quinasa Src	83	H
MTOR	Serina/treonina-proteína quinasa mTOR	74	B F H
MAPK3	Proteína quinasa 3 activada por MAP quinasa	73	F G H I
MAPK1	Proteína quinasa 1 activada por mitógeno	68	A B C D E F G H I
JUN	proteína activadora 1, AP1, protooncogén c-Jun	59	B C F G H I
PIK3CA	Isoforma alfa de la subunidad catalítica de fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato 3-quinasa	56	B C F G H I
ERBB2	Receptor tirosina-proteína quinasa ERBB-2	50	G
CASP3	caspara 3	45	I
GSK3B	Glucógeno sintasa quinasa-3 beta	45	A B D E G I
JAK2	Tirosina-proteína quinasa JAK2	45	C E H I
MAPK14	Proteína quinasa 14 activada por MAP quinasa	45	A B C D E F G H I
PPARG	Receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas	45	C F

A continuación, se detallan las proteínas con mayor centralidad de grado.

SRC es una proteína que se relaciona en la participación de procesos inmunológicos, como la proliferación, la fagocitosis, el desarrollo de células inmunitarias, al acelerar la secreción de factores de crecimiento también contribuye a mejorar la progresión del ciclo celular. SRC contribuye en gran parte con actividades de las células inmunitarias por medio de interacciones con varios receptores y ligandos en la inflamación, especialmente la relacionada con macrófagos. Ya aprobada por la FDA como inhibidor que se dirige directamente a enfermedades neoplásicas (Byeon et al., 2012; Roskoski, 2015).

MTOR involucrado en la vía de señalización del metabolismo celular, regulador central en factores de crecimiento, respuestas a hormonas, señales de estrés, también responsable de regular la autofagia (Dormond, 2019). Es encargado de promover el metabolismo anabólico e inhibir la inducción de la autofagia. Las estrategias farmacológicas son enormes, se conoce estrategias terapéuticas en cáncer, pero los diversos hallazgos indican que es posible utilizarlo en enfermedades neurodegenerativas, diabetes, miopía cardíaca, etc. (Kim & Guan, 2015).

El estudio de Yu et al., 2022, muestra una ruta de señalización en la cual se involucran PI3K/Akt/mTOR como un tratamiento terapéutico contra cáncer, al inhibir la cascada de señalización que provoca las regulaciones epigenéticas encargadas del crecimiento y proliferación de distintos tipos de cáncer (Yu et al., 2022).

PIK3CA en la señalización participa en respuesta a factores de crecimiento como en la morfología y supervivencia celular. Existen muchos trastornos que se involucran con PIK3CA, en especial durante el desarrollo de distintos tipos de cáncer como la vía de señalización antes descrita (Yu et al., 2022). Las mutaciones generadas en PIK3CA se encuentran en aproximadamente el 30% de los tumores de HER2+ en etapa temprana, generando resistencia terapéutica según el estudio de Rasti et al., 2022 (Canaud et al., 2021; Rasti et al., 2022).

MAPK3 implicada en la migración celular, regulación transcripcional, endocitosis, producción de citoquinas, remodelación de la cromatina y la respuesta inflamatoria mediante la regulación del factor de necrosis tumoral (TNF). Se ve involucrada en la vía de señalización que lleva a la macropinocitosis aguda, también en la modulación de represión mediada por Plycomb (Clifton et al., 1996; Ronkina et al., 2010).

MAPK1 proteína encontrada en todos los compuestos de *galphimia glauca*, pertenece a la familia de las quinasas, que se regulan por señales extracelulares actuando como un punto de integración para diversas señales bioquímicas. Las quinasas son encargadas de realizar distintos procesos celulares como: proliferar, diferenciar, regular la transcripción y el desarrollo. Información extraída desde la base de datos NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5594>).

JUN son proteínas que se encuentran en los mismos compuestos de *galphimia glauca*. Factor de transcripción que se une al consenso AP1, participa en la muerte celular inducida que se lleva a cabo por las células T, también ayuda a potenciar la expresión de los genes esteroideogénicos (Baumann et al., 2003; Clifton et al., 1996).

ERBB2 es parte de varios complejos receptores que ayuda a regular el crecimiento y estabilizar los microtúbulos periféricos (MT), en el núcleo celular es parte de la regulación de la transcripción en especial de genes de rARN y ayuda a mejorar el crecimiento celular como la síntesis de proteínas (Landgraf, 2007; Nagy et al., 1999).

CASP3 es un efector principal de la caspasa que se encuentra involucrada en la ejecución de la apoptosis, activa y divide proteínas de unión a SREBP (Elementos reguladores de esteroides). Ante el estrés oxidativo es responsable de inhibir la serina/treonina-proteína quinasa AKT1. En la apoptosis inducida por virus tiene un papel al inhibir la producción de interferones tipo I, al combatir proteínas antivirales y previniendo la sobreproducción de citoquinas. En la piroptosis media la activación y eliminación de gasdermin-E (GSDME). Se relaciona con la activación de adhesión celular en las neuronas (Choudhary et al., 2015; D'Amelio et al., 2009).

GSK3B es un regulador negativo dentro del proceso de homeostasis de la glucosa, por medio de procesos de fosforilación regula a los microtúbulos y a los factores de transcripción. Es responsable de fosforilar a la proteína de JUN antes descrita, lo que lleva a reducir la afinidad por ADN relacionado con la muerte celular inducida. También contribuye en el músculo esquelético a regular la síntesis de glucógeno, otra de sus funciones es intervenir en la resistencia a la insulina. Al fosforilar NFATC1/NFATC ayuda a oponerse a la acción de la calcineurina. Este regulador se ve involucrado con la enfermedad de Alzheimer al reducir significativamente la capacidad de los componentes principales de los ovillos neurofibrilares al fosforilar MAPT/TAU en 'Thr-548'. Otra proteína involucrada es ERBB2, al ayudar en la estabilización de los microtúbulos en la corteza celular. Al haber heridas en la piel este regulador juega un papel al fosforilar MACF1, inhibiendo su unión a microtúbulos, principal en la migración de células madre protuberantes. En la replicación de células beta pancreáticas las regula de manera negativa, lo que termina en la apoptosis y por lo tanto pérdida de células beta y finalmente diabetes. Como ya se mencionó antes es un regulador que una de sus funciones principales es fosforilar proteínas, otra de ellas es antiapoptótica MCL1, puede ayudar a controlar la apoptosis celular, al privar de factores de crecimiento. De las proteínas que fosforila hay un grupo que contribuye en la regulación del reloj circadiano. MUC1 es otra de la proteína que fosforila, encontrada en células de cáncer de mama, ayuda a disminuir su interacción a otras proteínas. Ayuda a establecer polaridad neuronal e interviene el crecimiento del axón. Inhibe la actividad de MARK2, también fosforila ciertas proteínas que llevan a la activación de células T (UniProt | P49841, 2022).

JAK2 involucrado en un papel fundamental en la inmunidad innata como en la adaptativa, gracias a ser un mediador en señalizaciones esenciales, para procesos como el crecimiento celular, su desarrollo, la diferenciación o incluso modificaciones de histonas (Sattler & Griffin, 2009; Sopjani et al., 2020). En la transducción de señales dentro del citoplasma, al asociarse con los receptores tipo I, por ejemplo: la leptina (LEPR), la hormona del crecimiento (GHR), la trombopoyetina (THPO), la prolactina (PRLR), etc. También receptores de tipo II, incluyendo los IFN alfa, beta y gamma, como múltiples interleucinas. Interviene en la fosforilación de diversos residuos específicos, terminando en activar la transcripción de genes (Perner et al., 2019; Zhang et al., 2020).

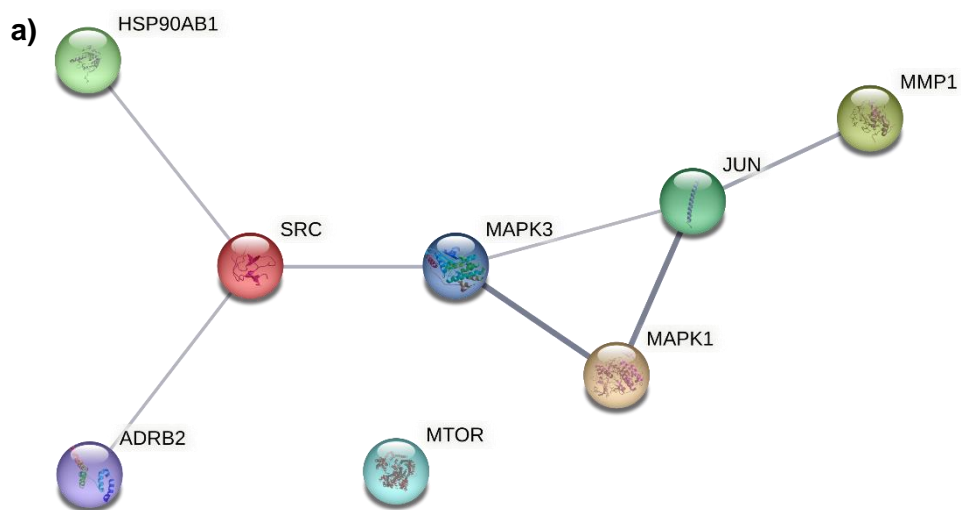
MAPK14 Proteína quinasa 14 activada por MAP quinasa, se conoce también como p38 MAPK. Involucrada en diferentes procesos biológicos. Entre ellos; la respuesta al estrés, inflamación, diferenciación celular y apoptosis. Se encuentra regulada por los mecanismos de fosforilación y desfosforilación, y su función

puede ser modulada por diferentes vías de señalización y factores de regulación (Cuenda & Rousseau, 2007; Minden et al., 1995; Roux & Blenis, 2004).

PPARG receptor que modula la transcripción de ciertos genes blanco, controlando con esto vías de oxidación, diferenciación en procesos de la glucosa, regulador de la homeostasis intestinal al suprimir respuestas proinflamatorias, regulación de ritmos cardiovasculares con la transcripción de ARNTL/BMAL1 en vasos sanguíneos. En el estudio de Gold, 2021 demuestran que el aumento en los niveles de PPARG tiene un impacto ante la depresión, esto se debe a la pérdida de neuroplasticidad, inflamación generalizada dirigida al sistema nervioso, entre otros (Gold, 2021; Jiménez-Sousa et al., 2019).

7.4 Centralidad de intermediación

Para detectar la influencia que un nodo tiene sobre los demás se calculó la centralidad de intermediación. En el histograma mostrado en la **Figura VII-3 a** destaca un nodo de alta intermediación (2709.71), que corresponde a la proteína SRC (que también es la proteína con mayor grado de centralidad). De igual manera la **tabla VII-11** enlista las proteínas con mayor intermediación y en la **Figura VII-3 b** el subgrafo correspondiente. Cabe señalar que las proteínas ADRB2 y MMP1 muestran un bajo grado de centralidad (14 y 4 respectivamente) pero una alta intermediación (851.75 y 704.97 respectivamente), esto indica que a pesar de que directamente no interactúan con muchas proteínas, son importantes para la conectividad de la red. 50 de los 180 nodos tienen una intermediación menor que 1, pero no necesariamente tienen un grado de centralidad igual a 1 como se muestra en la **Figura VII-3 c**. Inclusive hay nodos con grado mayor a 3 que tienen una intermediación muy baja.



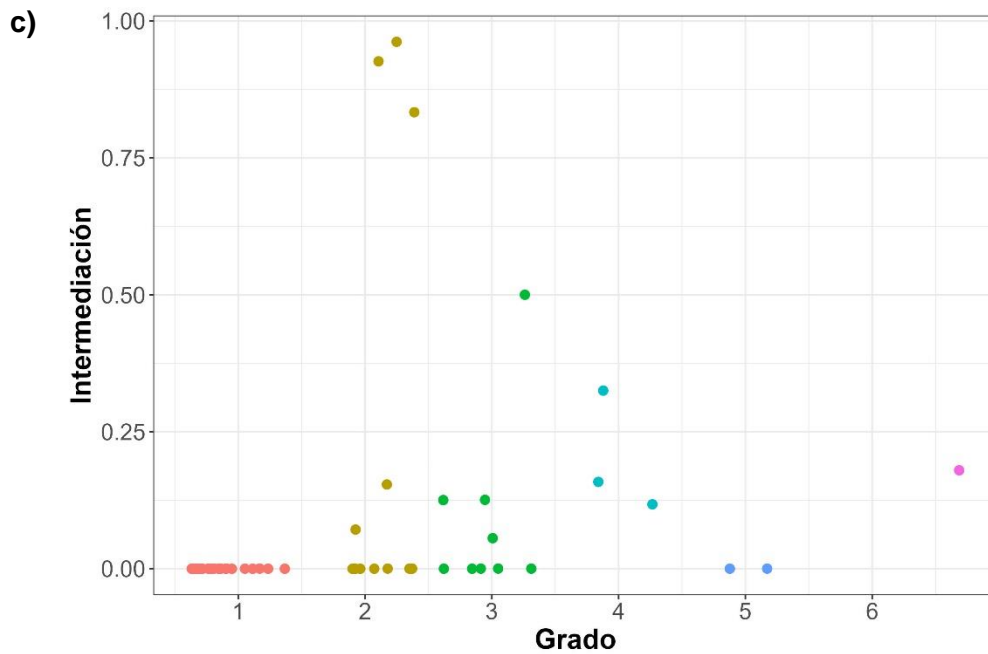
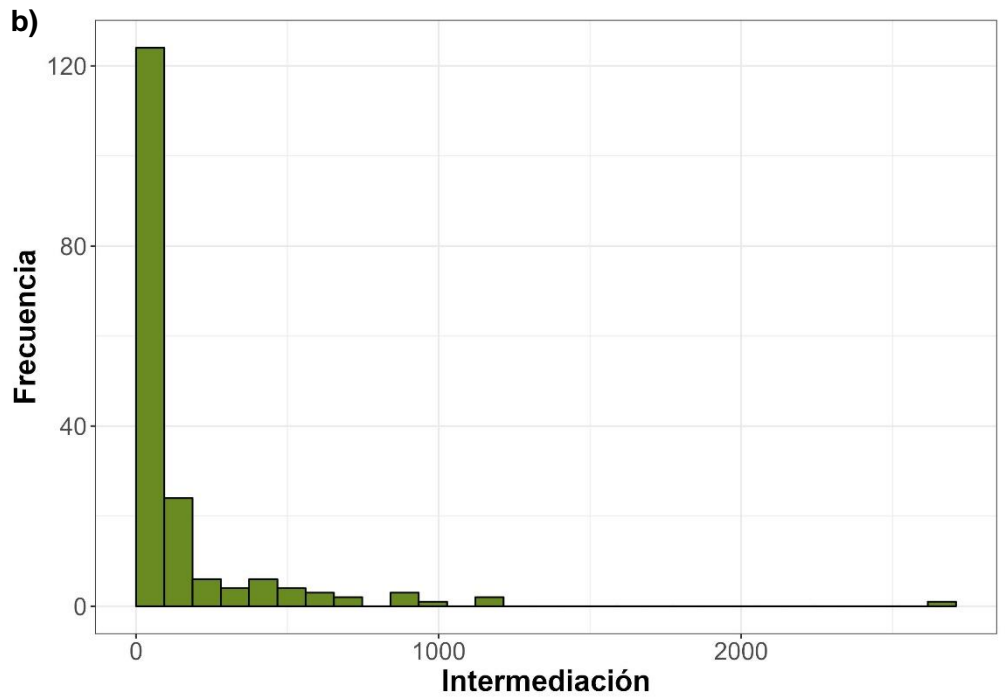


Figura VII-3 (a) Histograma de distribución de intermediación. (b) Subgrafo de proteínas con alta intermediación (mayor que 700) obtenido de STRING para las posibles interacciones moleculares experimentalmente (<https://string-db.org/>) (c) Diagrama de dispersión de la intermediación en función de la centralidad de grado.

Tabla VII-11 Proteínas con mayor centralidad de intermediación.

Proteína	Nombre	Intermediación	Compuesto compartido
SRC	Protooncogén tirosina-proteína quinasa Src	2709.71	H
JUN	proteína activadora 1, AP1, protooncogén c-Jun	1192.14	A B D E F G H I
MTOR	Serina/treonina-proteína quinasa mTOR	1165.18	B F H
MAPK1	Proteína quinasa 1 activada por mitógeno	1010.31	A B C D E F G H I
MAPK3	Proteína quinasa 3 activada por MAP quinasa	925.95	F G H I
HSP90AB1	Proteína de choque térmico 90 familia alfa clase B miembro 1	863.36	A C D E F G H I
ADRB2	Receptor adrenérgico beta-2	851.75	C
MMP1	Colagenasa intersticial	704.97	A B D E F G H I

A continuación, se presentan las proteínas con mayor centralidad de intermediación y que no hayan sido descritas en la sección anterior.

HSP90AB1 proteína denominada chaperona, promueve la regulación, maduración y mantenimiento estructural adecuado de proteínas blanco-específicas. Funciona durante un ciclo funcional que se liga a la actividad ATPasa, esto provocando así la activación de otras proteínas. Esta proteína además de su funcionamiento como chaperona, también es encargada de regular la regulación celular en al menos 3 niveles distintos. Importante en la modificación epigenética, factores de transcripción y expresión génica (Haase & Fitze, 2016).

ADRB2 receptor que ayuda a mediar la activación de adenilato ciclasa, funcionando como unión a la epinefrina y con afinidad mayor a la norepinefrina. Gracias a las funciones descritas, ADRB2 es un blanco estudiado por Kulik, 2019 utilizado en tratamientos contra el cáncer de prostata (Kulik, 2019; Wu et al., 2016). **MMP1** actividad catalítica con el colágeno de tipo I, II y III. Participa en caso de una infección por VIH, al disminuir una neurotoxina que media Tat neuronal, también en la inflamación (Jiménez-Sousa et al., 2019).

7.5 Agrupamiento jerárquico

Al llevar a cabo el método de agrupamiento jerárquico por medio de la optimización de modularidad se identificaron 9 subconjuntos mutuamente ajenos. Como se observa en la **Figura VII-4** tres grupos contienen la mayor cantidad de nodos, el grupo 3 contiene 61 nodos y se destacan MTOR, JUN, GSK3B y PPARG que tienen el mayor grado de centralidad. En el grupo 2 (56 nodos) contiene a SRC que es la proteína de mayor grado de centralidad e intermediación, sobresalen también PIK3CA, ERBB2 y JAK2 que tienen alta conectividad. El grupo 1 que consta de 38 nodos se distinguen MAPK3, MAPK1, CASP3 y MAPK14. El método detectó tres grupos con 6 nodos, uno de 3 nodos y dos de 2 nodos (entre estos últimos, distingue la componente conexa de IMPDH1 e IMPDH2). Las interacciones en y entre los grupos se pueden observar de mejor manera en el dendrograma mostrado en la **Figura VII-5**, además de exhibir la alta cohesividad en función de la modularidad.

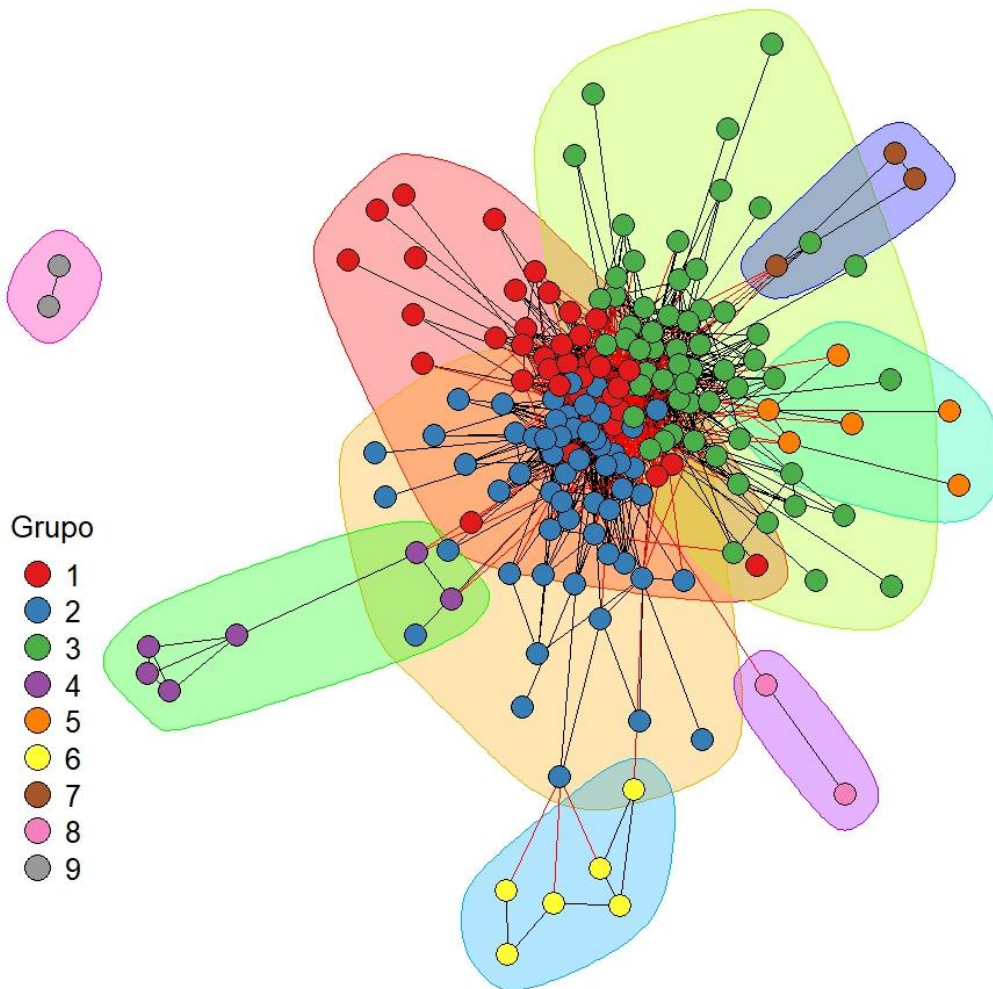


Figura VII-4 Gráfica que identifica los grupos obtenidos por medio de agrupamiento jerárquico.

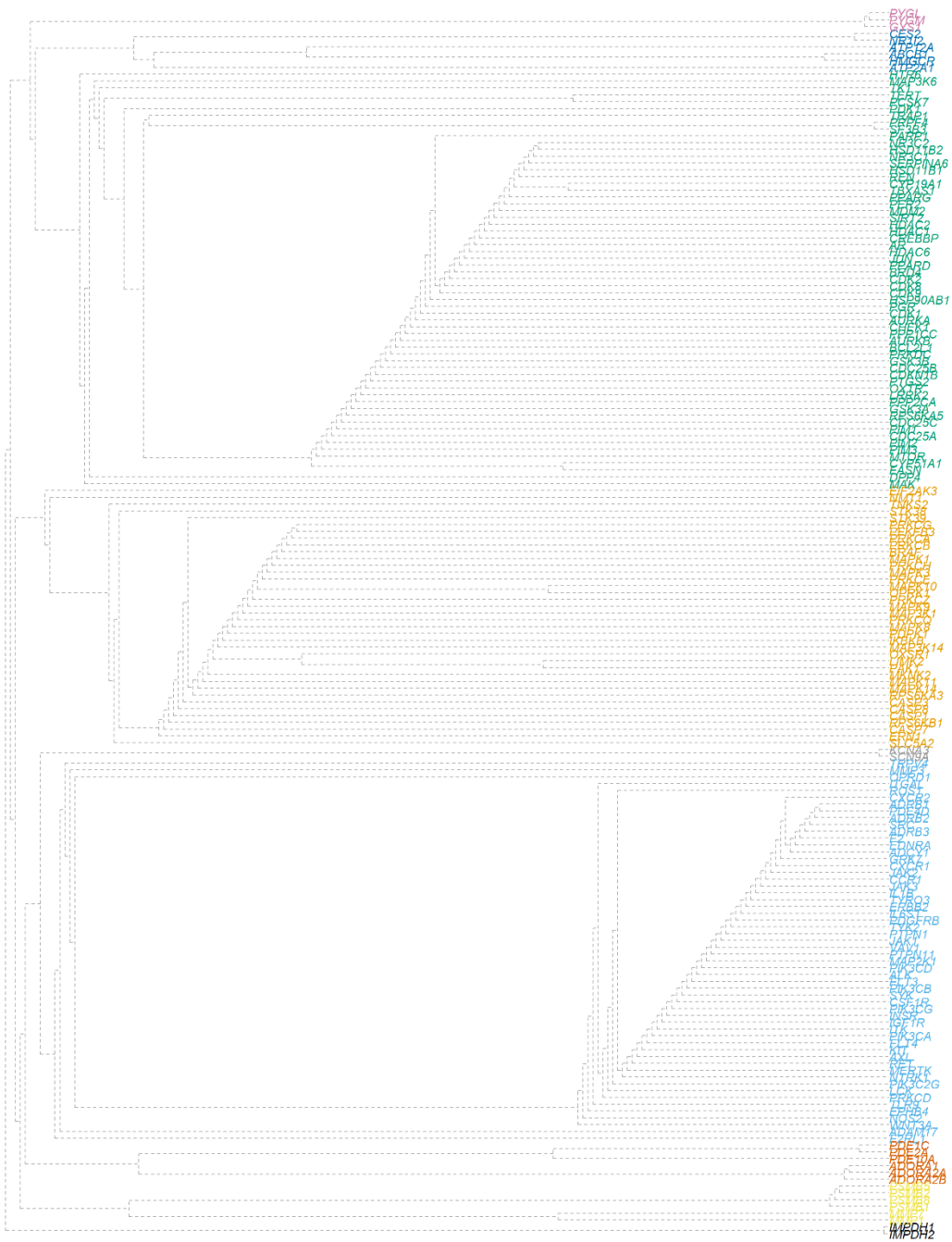


Figura VII-5 Dendrograma de la partición obtenida por medio de agrupamiento jerárquico.

VIII. Discusión

La importancia del árnica roja se encuentra en sus 9 compuestos *galphiminas A-I*, al tener cada uno de ellos al menos 100 blancos farmacológicos en SwissTargetPrediction. Dentro de estos 100 blancos, es normal que se vean involucrados distintas *galphiminas* en un mismo blanco. El total de blancos farmacológicos obtenidos fueron 180, de los cuales el 80% comparten al menos 2 compuestos.

Gracias a la base de datos experimental de String, pudimos obtener 1386 interacciones moleculares entre los blancos farmacológicos. Dando como resultado una red capaz de mostrar que la proteína SRC es la de mayor número de interacciones entre los blancos. SRC proteína involucrada con la respuesta inflamatoria, debido a su participación en la activación con moléculas relacionadas a la respuesta inmune, en el proceso celular de apoptosis. No sólo importante para el ser humano, sino base en la vida vegetal, al involucrarse en un proceso de diferenciación celular. Gracias a la centralidad de grado logramos distinguir el nodo con mayor relevancia dentro de la red, SRC con 86 de centralidad de grado y perteneciente al compuesto *Galphimina H*. Esta proteína esta directamente relacionada con la inflamación, por medio, de las interacciones directamente con macrófagos. También en procesos importantes tanto inmunológicos como metabólicos; secreción de factores de crecimiento y progresión celular. También metabólicos.

Las siguientes varían de los 65 a 70 dentro de la centralidad de grado y son MTOR, MAPK3 Y MAPK1 las cuales están involucradas en dos funciones farmacológicas que se utilizan en la medicina tradicional mexicana, la actividad angiogénica y antiinflamatoria. Las *galphiminas* que comparten estos blancos son las F y H. Cabe señalar que MAPK1 se encuentra en todas las *galphiminas*.

El resto de los blancos mantienen una centralidad de grado mayor a 45 (pero menor a 65): JUN, PIK3CA, ERBB2, CASP3, GSK3B, JAK2, MAPK14 y PPARG de las cuales; JUN y CASP3 están involucradas en la actividad proapoptótica, PIK3CA implicada en actividades angiogénica y antiinflamatoria, GSK3B involucrada en la fosforilación y regulación de diversas proteínas, ERBB2 enfocada en la estabilidad de microtúbulos que se encuentran directamente relacionados con la enfermedad de Alzheimer y actividades de apoptosis en células pancreáticas, JAK2 cómo un mediador de señales en la actividad antiproliferativa, MARK14 en respuesta a la inflamación, y por último PPARG supresor de respuestas proinflamatorias.

De igual manera, la proteína que presenta mayor centralidad de intermediación es SCR con 2709.71, lo que indica un mayor número de interacciones entre los blancos. Los siguientes posteriores JUN, MTOR y MAPK1, estando arriba de 1000. Siendo JUN el único que cambia a diferencia del grado de centralidad en donde MTOR Y MAPK1 también se encuentran en los primeros cuatro. A pesar de que JUN tiene un grado de centralidad de 59, tiene el segundo nivel con mayor interacción con 1,192.14 y siendo parte de todos los compuestos de *galphiminas*.

Con valores de centralidad de intermediación entre 700 y 1000 están MAPK3 y tres más; HSP90AB1, ADRB2 y MMP1 que, a pesar de no estar presentes con mayor centralidad de grado, muestran un alto número de interacción con los blancos.

HSP90AB1 de importancia molecular, al ser chaperona y estar involucrada en la epigenética, expresión génica y factores de transcripción. ADRB2 un receptor involucrado directamente en el estrés, al ser mediador de la unión a la epinefrina y norepinefrina. Siendo el último blanco MMP1 envuelto en diversas actividades específicas como lo relacionado con la actividad catalítica del colágeno, se une también a las actividades antiinflamatorias y antiangiogénica.

Al identificar los 9 subconjuntos por medio del agrupamiento jerárquico, se observaron 3 grupos con la mayor cantidad de nodos. Destacándose MTOR, JUN, GSK3B, PPARG, del primero, SRC, PIK3CA, ERBB2 y JAK2 del segundo y MAPK3, MAPK1, CASP3 y MAPK14 del tercero. Todos estos con centralidades altas tanto de grado como de intermediación. Las comunidades observadas en el dendograma de la Figura VII-5 podemos observar como las comunidades están bien definidas y las interacciones entre ellas indican que comparten características y funciones similares descritas anteriormente.

Actualmente existen algunos fármacos especializados a algunas de las proteínas antes descritas, por ejemplo: Tofacitinib es un fármaco inhibidor de JAK que se utiliza para tratar dos tipos distintos de artritis al inhibir esta actividad proliferativa, evita la inflamación que provocan los síntomas.

Otro ejemplo son los especializados en ADRB2, en esta proteína se encuentran una variedad de fármacos que son agonistas y unos pocos que son antagonistas, estos se utilizan para efectos antiinflamatorios. Mayormente se utiliza para casos de asma, como antiinflamatorios. También se desarrolló la ritodrina que ayuda a detener un parto pretérmino. Otros fármacos que son antagonistas a esta proteína, que funcionan contra hipertensión, sin embargo, también fármacos prohibidos por considerarse dopante deportivo.

IX. Conclusiones

En el estudio farmacológico en redes del arbusto de *Galphimia glauca*, se investigaron las interacciones entre las *galphiminas A-I* y los diversos blancos, dentro del organismo humano. Todo esto mediante el uso de un enfoque computacional y de herramientas como la centralidad de grado, la centralidad de intermediación y el agrupamiento jerárquico. Identificando así los 9 subconjuntos de interacciones entre los blancos y compuestos con diferentes vías biológicas.

El potencial farmacológico de los resultados obtenidos es importante, especialmente en trastornos relacionados con la inflamación y también los relacionados con el sistema nervioso central. Esto relacionado con los receptores de neurotransmisores, neuroinflamatorios y estrés oxidativo. Como ejemplo de algunas proteínas ya en investigación son: JAK y ADRB2, que ambas proteínas descritas como blancos y conociendo su importancia a nivel molecular, cuentan con fármacos ya desarrollados como especializados al evitar o disminuir síntomas de inflamación en distintas áreas. Con ellos atacando un problema específico y evitando efectos adversos a los deseados. Este ejemplo es perfecto para entender las implicaciones a nivel médico de esta investigación.

La continuación a este estudio es la validación por medio de estudios tanto in vitro como in vivo, para evaluar la eficacia y seguridad de las *galphiminas A-I* en modelos clínicos. Este estudio otorga una visión menos compleja y más directa de los efectos y posibles tratamientos en base a la *Galphimia glauca*.

X. Referencias

- Ahmed, S., Zhou, Z., Zhou, J., & Chen, S. Q. (2016). Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 14(5), 298–313. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2016.03.008>
- ARBA. (2011). *Manual básico para reforestar con plantas autóctonas*. ARBA Valladolid. <https://arba-s.org/manual-basico-para-reforestar-con-plantas-autoctonas/>
- Attwood, T. K., Gisel, A., Eriksson, N.-E., Bongcam-Rudloff, E., Attwood, T. K., Gisel, A., Eriksson, N.-E., & Bongcam-Rudloff, E. (2011). Concepts, Historical Milestones and the Central Place of Bioinformatics in Modern Biology: A European Perspective. *Bioinformatics - Trends and Methodologies*. <https://doi.org/10.5772/23535>
- Barabási, A.-L. (2016). *Chapter 1 – Network Science*. <http://networksciencebook.com/chapter/1#societal-impact>
- Baumann, S., Hess, J., Eichhorst, S. T., Krueger, A., Angel, P., Krammer, P. H., & Kirchhoff, S. (2003). An unexpected role for FosB in activation-induced cell death of T cells. *Oncogene*, 22(9), 1333–1339. <https://doi.org/10.1038/SJ.ONC.1206126>
- Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana*. (2014, October 19). https://web.archive.org/web/20140407154405/http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/mo-nografia.php?l=3&t=Árnica_roja&id=7001
- Byeon, S. E., Yi, Y. S., Oh, J., Yoo, B. C., Hong, S., & Cho, J. Y. (2012). The Role of Src Kinase in Macrophage-Mediated Inflammatory Responses. *Mediators of Inflammation*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/512926>
- Canaud, G., Hammill, A. M., Adams, D., Vikkula, M., & Keppler-Noreuil, K. M. (2021). A review of mechanisms of disease across PIK3CA-related disorders with vascular manifestations. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S13023-021-01929-8>
- Cereto-Massagué, A., Ojeda, M. J., Valls, C., Mulero, M., Pujadas, G., & Garcia-Vallve, S. (2015). Tools for in silico target fishing. *Methods*, 71(C), 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.09.006>
- Choudhary, G. S., Al-harbi, S., & Almasan, A. (2015). Caspase-3 activation is a critical determinant of genotoxic stress-induced apoptosis. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1219. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-1661-0_1
- Clifton, A. D., Young, P. R., & Cohen, P. (1996). A comparison of the substrate specificity of MAPKAP kinase-2 and MAPKAP kinase-3 and their activation by cytokines and cellular stress. *FEBS Letters*, 392(3), 209–214. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(96\)00816-2](https://doi.org/10.1016/0014-5793(96)00816-2)
- Cuenda, A., & Rousseau, S. (2007). p38 MAP-Kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1773(8), 1358–1375. <https://doi.org/10.1016/J.BBAMCR.2007.03.010>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2019). SwissTargetPrediction: updated data and new features for efficient prediction of protein targets of small molecules. *Nucleic Acids Research*, 47(W1), W357–W3664. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>
- D'Amelio, M., Cavallucci, V., & Cecconi, F. (2009). Neuronal caspase-3 signaling: not only cell death. *Cell Death & Differentiation* 2010 17:7, 17(7), 1104–1114. <https://doi.org/10.1038/cdd.2009.180>

- Davis, W., & Fernández-Martínez, E. (2017). Interferon Alpha-2b☆. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.97833-4>
- DIFACQUIM Tools for Chemoinformatics. (2020). In *difacquim*. <http://www.difacquim.com/d-tools/>
- Ding, H., Takigawa, I., Mamitsuka, H., & Zhu, S. (2013). Similarity-based machine learning methods for predicting drug-target interactions: A brief review. *Briefings in Bioinformatics*, *15*(5), 734–747. <https://doi.org/10.1093/bib/bbt056>
- Dormond, O. (2019). mTOR in Human Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(9). <https://doi.org/10.3390/IJMS20092351>
- Dvorakova, M., & Landa, P. (2017). Anti-inflammatory activity of natural stilbenoids: A review. *Pharmacological Research*, *124*, 126–145. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2017.08.002>
- Elsevier Connect. (2018). *Lesiones por fármacos: reacciones adversas a los medicamentos*. <https://www.elsevier.com/es-es/connect/medicina/reacciones-adversas-farmacos-medicamentos>
- Freeman, L. C. (1977). A set of measures of centrality based on betweenness. *Sociometry*. <https://www.jstor.org/stable/3033543>
- García Acero, P., & Díaz Gimeno, P. (2018). *Farmacología de sistemas: estudio de las bases moleculares de respuesta a fármacos* - 15. https://genotipia.com/revista_gm/farmacologia-de-sistemas/
- Gold, P. W. (2021). The PPAR γ System in Major Depression: Pathophysiologic and Therapeutic Implications. *International Journal of Molecular Sciences* *2021*, Vol. 22, Page 9248, *22*(17), 9248. <https://doi.org/10.3390/IJMS22179248>
- González-Cortazar, M., Herrera-Ruiz, M., Zamilpa, A., Jiménez-Ferrer, E., Marquina, S., Álvarez, L., & Tortoriello, J. (2014). Anti-inflammatory activity and chemical profile of galphimia glauca. *Planta Medica*, *80*(1), 90–96. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1360150>
- Gotink, K. J., & Verheul, H. M. W. (2010). Anti-angiogenic tyrosine kinase inhibitors: What is their mechanism of action? *Angiogenesis*, *13*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/S10456-009-9160-6/FIGURES/4>
- Haase, M., & Fitze, G. (2016). HSP90AB1: Helping the good and the bad. *Gene*, *575*(2), 171–186. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2015.08.063>
- Jiménez-Sousa, M. A., Berenguer, J., Fernández-Rodríguez, A., Medrano, L. M., Aldámiz-Echevarria, T., Pérez-Latorre, L., Díez, C., Martín-Vicente, M., Gutiérrez-Rivas, M., Martínez, I., & Resino, S. (2019). Genetic variants upstream of TNFAIP3 in the 6q23 region are associated with liver disease severity in HIV/HCV-coinfected patients: A cross-sectional study. *Infection, Genetics and Evolution*, *67*, 112–120. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2018.10.008>
- Keiser, M. J., Roth, B. L., Armbruster, B. N., Ernsberger, P., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. (2007). Relating protein pharmacology by ligand chemistry. *Nature Biotechnology* *25*:2, *25*(2), 197–206. <https://doi.org/10.1038/nbt1284>
- Kim, Y. C., & Guan, K. L. (2015). mTOR: a pharmacologic target for autophagy regulation. *The Journal of Clinical Investigation*, *125*(1), 25. <https://doi.org/10.1172/JCI73939>
- Kolaczyk, E. D., & Csárdi, G. (2014a). *Descriptive Analysis of Network Graph Characteristics*. 43–67. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0983-4_4
- Kolaczyk, E. D., & Csárdi, G. (2014b). *Statistical Analysis of Network Data with R*. 65. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0983-4>

- Kulik, G. (2019). ADRB2-Targeting Therapies for Prostate Cancer. *Cancers*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/CANCERS11030358>
- Landgraf, R. (2007). HER2 therapy. HER2 (ERBB2): functional diversity from structurally conserved building blocks. *Breast Cancer Research*, 9(1), 202. <https://doi.org/10.1186/BCR1633>
- Minden, A., Lin, A., Claret, F. X., Abo, A., & Karin, M. (1995). Selective activation of the JNK signaling cascade and c-Jun transcriptional activity by the small GTPases Rac and Cdc42Hs. *Cell*, 81(7), 1147–1157. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(05\)80019-4](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(05)80019-4)
- Nagy, P., Jenei, A., Damjanovich, S., Jovin, T. M., & Szólósi, J. (1999). Complexity of signal transduction mediated by ErbB2: clues to the potential of receptor-targeted cancer therapy. *Pathology Oncology Research : POR*, 5(4), 255–271. <https://doi.org/10.1053/PAOR.1999.0255>
- National Center for Biotechnology Information. (2022). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- NCBI. (2022). *MAPK1 mitogen-activated protein kinase 1 [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5594>
- NIH. (2022, May). *Apoptosis*. <https://www.genome.gov/genetics-glossary/apoptosis>
- Perner, F., Perner, C., Ernst, T., & Heidel, F. H. (2019). Roles of JAK2 in Aging, Inflammation, Hematopoiesis and Malignant Transformation. *Cells*, 8(8). <https://doi.org/10.3390/CELLS8080854>
- Powell, J., & Hopkins, M. (2015). Graph analytics techniques. *A Librarian's Guide to Graphs, Data and the Semantic Web*, 167–174. <https://doi.org/10.1016/B978-1-84334-753-8.00019-1>
- Rasti, A. R., Guimaraes-Young, A., Datko, F., Borges, V. F., Aisner, D. L., & Shagisultanova, E. (2022). PIK3CA Mutations Drive Therapeutic Resistance in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2–Positive Breast Cancer. *JCO Precision Oncology*, 6(6). <https://doi.org/10.1200/PO.21.00370>
- Rojas-Bribiesca, G., Aranda, E., Navarro, V., Zamilpa, A., Tortoriello, J., Rojas, G., Aranda, E., Navarro, V., Zamilpa, A., & Tortoriello, J. (2005). In vitro Propagation of *Galphimia glauca* and Content of the Sedative Compound Galphimine-B in Wild and Micropropagated Plants. *Planta Medica*, 71(11), 1076–1078. <https://doi.org/10.1055/s-2005-873136>
- Ronkina, N., Menon, M. B., Schwermann, J., Tiedje, C., Hitti, E., Kotlyarov, A., & Gaestel, M. (2010). MAPKAP kinases MK2 and MK3 in inflammation: Complex regulation of TNF biosynthesis via expression and phosphorylation of tristetraprolin. *Biochemical Pharmacology*, 80(12), 1915–1920. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2010.06.021>
- Roskoski, R. (2015). Src protein-tyrosine kinase structure, mechanism, and small molecule inhibitors. *Pharmacological Research*, 94, 9–25. <https://doi.org/10.1016/J.PHRS.2015.01.003>
- Roux, P. P., & Blenis, J. (2004). ERK and p38 MAPK-Activated Protein Kinases: a Family of Protein Kinases with Diverse Biological Functions. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 68(2), 320. <https://doi.org/10.1128/MMBR.68.2.320-344.2004>
- Sattler, M., & Griffin, J. D. (2009). JAK2 Gets Histone H3 Rolling. *Cancer Cell*, 16(5), 365–366. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.10.009>
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2015.01.047>
- Sharma, A., Angulo-Bejarano, P. I., Madariaga-Navarrete, A., Oza, G., Iqbal, H. M. N. N., Cardoso-Taketa, A., Luisa Villarreal, M., & Villarreal, M. L. (2018). Multidisciplinary Investigations on *Galphimia glauca*:

- A Mexican Medicinal Plant with Pharmacological Potential. *Molecules*, 23(11), 2985. <https://doi.org/10.3390/molecules23112985>
- Sharma, A., Cardoso-Taketa, A., Choi, Y. H., Verpoorte, R., & Villarreal, M. L. (2012). A comparison on the metabolic profiling of the Mexican anxiolytic and sedative plant *Galphimia glauca* four years later. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 964–974. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.03.033>
- Simplified molecular-input line-entry system. (2020). In *Wikipedia*.
- Sopjani, M., Morina, R., Uka, V., Xuan, N. T., & Dërmaku-Sopjani, M. (2020). JAK2-mediated Intracellular Signaling. *Current Molecular Medicine*, 21(5), 417–425. <https://doi.org/10.2174/1566524020666201015144702>
- STRING: functional protein association networks*. (2021).
- SwissTargetPrediction*. (2021, March 27). <http://www.swisstargetprediction.ch/>
- Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., Gable, A. L., Fang, T., Doncheva, N. T., Pyysalo, S., Bork, P., Jensen, L. J., & von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: protein-protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic Acids Research*, 51(D1), D638–D646. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC1000>
- Tortoriello, J., & Lozoya, X. (1992). Effect of *Galphimia glauca* methanolic extract on neuropharmacological tests. *Planta Medica*, 58(3), 234–236. <https://doi.org/10.1055/s-2006-961442>
- UniProt | P49841. (2022). *GSK3B - Glycogen synthase kinase-3 beta - Homo sapiens (Human) | UniProtKB | UniProt*. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P49841/entry>
- Wu, F. Q., Fang, T., Yu, L. X., Lv, G. S., Lv, H. W., Liang, D., Li, T., Wang, C. Z., Tan, Y. X., Ding, J., Chen, Y., Tang, L., Guo, L. N., Tang, S. H., Yang, W., & Wang, H. Y. (2016). ADRB2 signaling promotes HCC progression and sorafenib resistance by inhibiting autophagic degradation of HIF1 α . *Journal of Hepatology*, 65(2), 314–324. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.04.019>
- Yu, L., Wei, J., & Liu, P. (2022). Attacking the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway for targeted therapeutic treatment in human cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 85, 69–94. <https://doi.org/10.1016/J.SEMCANCER.2021.06.019>
- Zhang, T., Chen, Y., Cai, J., Pan, M., Sun, Q., Zhang, J., & Sun, C. (2020). SOCS2 Inhibits Mitochondrial Fatty Acid Oxidation via Suppressing LepR/JAK2/AMPK Signaling Pathway in Mouse Adipocytes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3742542>

XI. Apéndice.

11.1 Análisis de datos.

El código encargado de procesar los datos, tanto de las predicciones de los compuestos realizadas por SwissTargetPrediction (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) y las interacciones de los blancos en String (<https://string-db.org/>), se encuentra en el repositorio <https://github.com/MariaCambero/Analisis-Galphimia-Glauca-.git>, el cual describe paso a paso lo que se realizó y muestra los archivos tanto crudos como los procesados. Todo esto por medio del lenguaje R, y la teoría de grafos.