

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Medicina Humana
Escuela Profesional de Medicina Humana



**Estudio teórico mediante química computacional de fitocompuestos con
potencial inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina**

Tesis presentada por la Bachiller:

Jara Urquizo, Luciana Valeria

ORCID: 0009-0005-0312-7474

para optar el Título Profesional de Médico Cirujano

Asesor (a):

Dra. Manrique Sam, Maria Cecilia

ORCID: 0000-0001-5229-0810

Arequipa - Perú

2025

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

MEDICINA HUMANA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 06 de Julio del 2025

Dictamen: 014136-C-EPMH-2025

Visto el borrador del expediente 014136, presentado por:

2018701092 - JARA URQUIZO LUCIANA VALERIA

Titulado:

**ESTUDIO TEÓRICO MEDIANTE QUÍMICA COMPUTACIONAL DE FITOCOMPUESTOS CON
POTENCIAL INHIBIDOR DE LA ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Título Profesional/Título de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

MEDICO CIRUJANO

**29200483 - SALAZAR HUAJARDO ROBERTO
DICTAMINADOR**



**29318266 - GUTIERREZ MORALES JAVIER HERBERT
DICTAMINADOR**



**29536889 - GONZALEZ ALTAMIRANO JUAN CARLOS
DICTAMINADOR**



Estudio teórico mediante química computacional de fitocompuestos con potencial inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|---|--|-----|
| 1 | Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante | 3% |
| 2 | repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 3 | hdl.handle.net Fuente de Internet | 1% |
| 4 | tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet | <1% |
| 5 | www.coursehero.com Fuente de Internet | <1% |
| 6 | Submitted to Universidad TecMilenio Trabajo del estudiante | <1% |
| 7 | dokumen.pub Fuente de Internet | <1% |
| 8 | www.sac.org.ar Fuente de Internet | <1% |
| 9 | repository.lasallista.edu.co Fuente de Internet | <1% |

DEDICATORIA

A mi papá, Willy, por enseñarme que la valentía no es la ausencia de miedo, sino la decisión de avanzar a pesar de él. Gracias por confiar siempre en mí, por acompañarme en este camino apoyándome en cada meta, y demostrando que el amor se construye con actos diarios y entrega absoluta. Gracias por darme el ejemplo de cómo enfrentar la vida con coraje y determinación.

A mi mamá, Lupe, por ser la fuerza que me formó desde el inicio. Por estar presente en cada paso, guiándome con determinación, constancia y valores firmes. Su manera de enseñar, siempre desde el ejemplo, me dio las herramientas que han marcado mi camino: responsabilidad, disciplina y amor por el aprendizaje. Todo lo que hoy soy tiene sus raíces en ella.

A Betty, madrina de mi carrera: gracias por estar siempre atenta a mis pasos, por celebrar cada logro como propio y por colmarme de buenos deseos cuando más los necesitaba. Tu apoyo ha sido un regalo enorme durante todo este camino, te quiero con todo mi corazón.

A Gaby, que fue, y sigue siendo, mi segunda mamá. Tu presencia vive en mis recuerdos con cariño y gratitud. Por haberme cuidado con tanto amor, y por estar ahí en los momentos importantes. Siempre ocuparás un lugar especial en mi corazón.

A Miguel Ángel, por estar siempre conmigo con paciencia, entereza y un cariño que sabe acompañar en los días buenos y especialmente en los más difíciles. Gracias por ser apoyo constante, por darme ánimo cuando lo necesité y por caminar a mi lado tantos años.

A Bri y Vale, porque toda gran historia necesita grandes amigas. Ustedes han sido las protagonistas de la mía. Gracias por estar siempre, en los días de caos, de carcajadas y de “no puedo más”. Las adoro.

A todos ustedes, gracias. Porque cada uno, ha sido parte esencial de este camino. Porque mis logros no me pertenecen solo a mí: los llevo en el corazón como una construcción compartida, hecha también con su amor, su ejemplo y su presencia.

Finalmente a Blanca, Motty y Roca, por quedarse a mi lado en tantas madrugadas de estudio. Su compañía silenciosa, atenta y constante fue un consuelo en los momentos más exigentes. A Tini y Apio, por llenar mis días con su ternura y ocurrencias, y por ser compañía constante cada día. Gracias por recordarme que el afecto más genuino puede venir también con alas o patas.



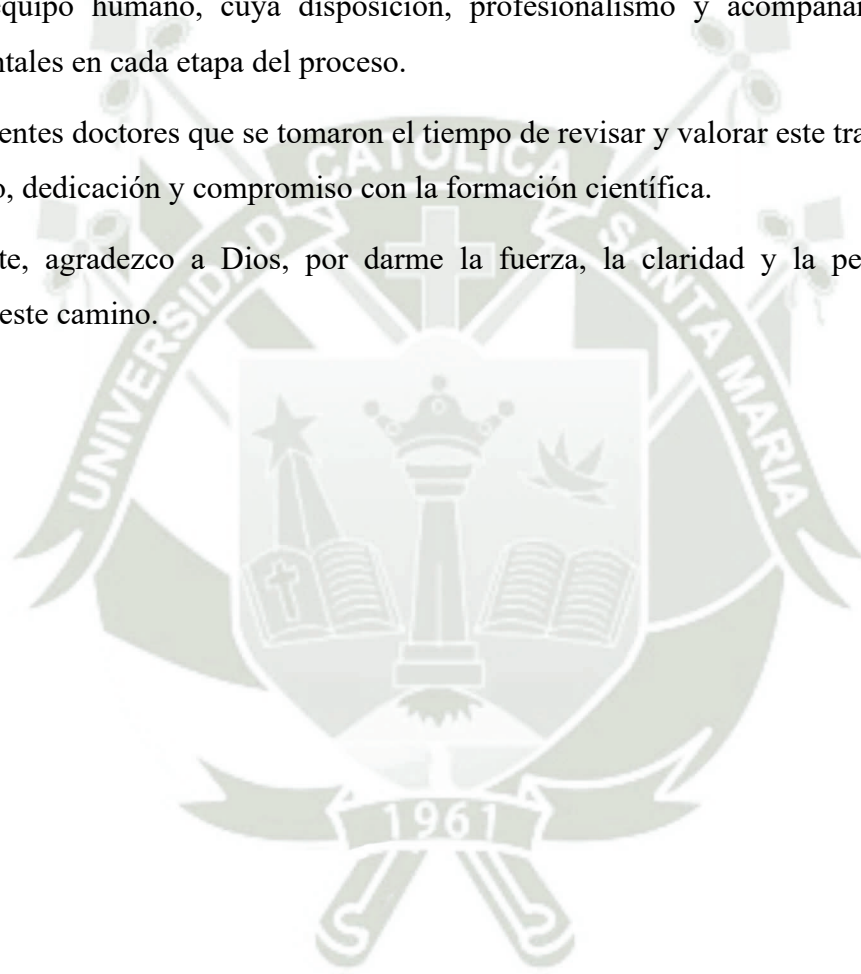
AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Católica de Santa María por haberme brindado una formación académica sólida, así como los recursos necesarios para llevar a cabo este trabajo de investigación.

De manera especial, al CIIM, por proporcionar el espacio, las herramientas y el respaldo técnico que hicieron posible el desarrollo de este estudio. Extiendo mi reconocimiento a su valioso equipo humano, cuya disposición, profesionalismo y acompañamiento han sido fundamentales en cada etapa del proceso.

A los docentes doctores que se tomaron el tiempo de revisar y valorar este trabajo, gracias por su criterio, dedicación y compromiso con la formación científica.

Finalmente, agradezco a Dios, por darme la fuerza, la claridad y la perseverancia para culminar este camino.



RESUMEN

Introducción: La enzima convertidora de angiotensina I (ECA-I) es una metaloproteasa zinc-dependiente fundamental en la regulación de la presión arterial a través del sistema renina-angiotensina. Su hiperactividad se ha vinculado de forma directa con la fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. Dado que los inhibidores convencionales presentan diversos efectos adversos, la búsqueda de nuevas moléculas inhibitoras con mejor perfil farmacológico ha despertado gran interés, destacando los compuestos naturales como alternativas terapéuticas prometedoras. **Objetivo:** Evaluar, mediante estrategias computacionales avanzadas, el potencial inhibitorio de diez fitocompuestos bioactivos y tres inhibidores farmacológicos estándar (captopril, enalaprilato y lisinopril) sobre la ECA-I, integrando metodologías de acoplamiento molecular, simulaciones de dinámica molecular y análisis energético mediante el enfoque MM-PBSA. **Metodología:** Se seleccionaron compuestos de origen natural reportados en bases públicas como PubChem y se procesaron estructuralmente junto a los fármacos control. El docking molecular se realizó sobre la estructura cristalográfica de la ECA-I (PDB ID: 1O8A) para predecir la afinidad de unión inicial. Los complejos de mayor energía de acoplamiento fueron sometidos a simulaciones de dinámica molecular de 100 ns bajo el software GROMACS, evaluando la estabilidad mediante parámetros estructurales como RMSD, radio de giro (Rg) y fluctuaciones residuales (RMSF). Finalmente, se calcularon las energías libres de unión mediante el método MM-PBSA para estimar la viabilidad termodinámica del anclaje. **Resultados:** Los diez fitocompuestos evaluados exhibieron valores de energía de unión más negativos que los inhibidores farmacológicos utilizados como referencia, lo cual indica una afinidad teórica superior hacia el centro catalítico de la enzima. Adicionalmente demostraron una interacción estable y favorable desde el punto de vista estructural. Sin embargo, al aplicar los filtros predictivos clave (Lipinski, Pfizer, GSK y GASA), el ácido clorogénico fue el único compuesto que logró cumplir con todos los criterios evaluados, lo que lo perfila como el candidato más equilibrado y con mayor potencial para avanzar en etapas posteriores del desarrollo. **Conclusión:** Los hallazgos obtenidos consolidan el papel de la química computacional como una estrategia racional y eficaz para la identificación preliminar de compuestos bioactivos con potencial terapéutico. Esta aproximación *in silico* permite explorar, con alta resolución molecular, la interacción entre ligandos y dianas biológicas, optimizando así el proceso de selección de candidatos para estudios experimentales posteriores.

Palabras clave: ECA-I, hipertensión arterial, fitocompuestos.



ABSTRACT

Introduction: Angiotensin-converting enzyme I (ACE-I) is a zinc-dependent metalloprotease that plays a central role in regulating blood pressure through the renin-angiotensin system. Its overactivity has been directly linked to the pathophysiology of essential hypertension. Given that conventional inhibitors often produce various adverse effects, the search for new inhibitory molecules with improved pharmacological profiles has gained considerable interest, with natural compounds emerging as promising therapeutic alternatives. **Objective:** To evaluate, through advanced computational strategies, the inhibitory potential of ten bioactive phytochemicals and three standard pharmacological inhibitors (captopril, enalaprilat, and lisinopril) against ACE-I, by integrating molecular docking, molecular dynamics simulations, and energy analysis using the MM-PBSA approach. **Methodology:** Natural compounds reported in public databases such as PubChem were selected and structurally processed along with the control drugs. Molecular docking was performed on the crystallographic structure of ACE-I (PDB ID: 1O8A) to predict initial binding affinities. The complexes with the most favorable binding energies were subjected to 100-ns molecular dynamics simulations using GROMACS software, assessing structural stability through RMSD, radius of gyration (Rg), and residual fluctuations (RMSF). Finally, binding free energies were calculated using the MM-PBSA method to estimate the thermodynamic viability of the interactions. **Results:** The ten phytochemicals evaluated exhibited more negative binding energy values than the pharmacological inhibitors used as reference, suggesting a theoretically higher affinity for the enzyme's catalytic site. Additionally, they demonstrated stable and favorable interactions from a structural perspective. However, when applying key predictive filters (Lipinski, Pfizer, GSK, and GASA), chlorogenic acid was the only compound that met all evaluated criteria, positioning it as the most balanced and promising candidate for further development. **Conclusion:** The findings reinforce the role of computational chemistry as a rational and effective strategy for the preliminary identification of bioactive compounds with therapeutic potential. This *in silico* approach enables high-resolution exploration of ligand–target interactions, thereby optimizing the selection process for subsequent experimental studies.

Keywords: ACE-I, hypertension, phytochemicals.

ÍNDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN..... 1

CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO TEÓRICO..... 2

1 Problema de investigación..... 3

1.1 Determinación del Problema..... 3

1.2 Enunciado del Problema..... 3

1.3 Descripción del Problema..... 3

1.3.1 Área del Conocimiento..... 3

1.3.2 Análisis de Variables..... 4

1.3.3 Interrogantes Básicas..... 4

1.3.4 Tipo de Investigación..... 5

1.3.5 Nivel de Investigación..... 5

1.3.6 Diseño de Investigación..... 5

1.4 Justificación del Problema..... 5

1.4.1 Justificación Científica..... 5

1.4.2 Justificación Social..... 5

1.4.3 Originalidad..... 5

1.4.4 Factibilidad..... 6

1.4.5 Justificación Personal..... 6

2 Objetivos..... 6

2.1 Objetivo General..... 6

2.2 Objetivos Específicos..... 6

| | | |
|--------|---|----|
| 3 | Marco teórico..... | 7 |
| 3.1 | Hipertensión arterial..... | 7 |
| 3.1.1 | Definición..... | 7 |
| 3.1.2 | Epidemiología..... | 7 |
| 3.1.3 | Fisiopatología de la Presión Arterial..... | 9 |
| 3.1.4 | Rol del SRAA en la Hipertension Arterial..... | 11 |
| 3.1.5 | Diagnóstico..... | 12 |
| 3.1.6 | Clasificación de la Presión Arterial..... | 13 |
| 3.1.7 | Prevención..... | 13 |
| 3.1.8 | Tratamiento..... | 15 |
| 3.2 | Fitocompuestos: plantas fuente..... | 16 |
| 3.2.1 | Hibiscus Sabdariffa..... | 16 |
| 3.2.2 | Allium Sativum..... | 16 |
| 3.2.3 | Curcuma Longa..... | 17 |
| 3.2.4 | Moringa Oleifera..... | 17 |
| 3.3 | Fitocompuestos seleccionados..... | 17 |
| 3.3.1 | Beta-sitosterol (SIT)..... | 18 |
| 3.3.2 | Campesterol (CAM)..... | 19 |
| 3.3.3 | Ácido Clorogénico..... | 20 |
| 3.3.4 | Gossipetina-3-glucósido (GOG)..... | 21 |
| 3.3.5 | Gossypina (GOT)..... | 22 |
| 3.3.6 | Hibiscitrina (CIT)..... | 23 |
| 3.3.7 | Quercetina 7-O-Rutinósido..... | 24 |
| 3.3.8 | Rutina..... | 25 |
| 3.3.9 | Stigmasterol (STG)..... | 26 |
| 3.3.10 | Alfa-Espinasterol (SPI)..... | 27 |

| | | |
|---------------------------------------|---|----|
| 3.4 | Química computacional..... | 29 |
| 3.4.1 | Caracterización estructural de la ECA..... | 29 |
| 3.4.2 | Docking molecular..... | 30 |
| 3.4.3 | Simulación de Dinámica Molecular (DM)..... | 31 |
| 4 | Hipótesis..... | 34 |
| CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS..... | | 35 |
| 1 | Técnicas, instrumentos y materiales..... | 36 |
| 1.1 | Técnicas..... | 36 |
| 1.1.1 | Obtención y Preparación de Estructuras..... | 36 |
| 1.1.2 | Simulación de DM para Proteína APO..... | 37 |
| 1.1.3 | Docking Molecular..... | 38 |
| 1.1.4 | Simulación de DM Enzima-Ligando..... | 38 |
| 1.1.5 | Cálculo de Energía Libre de Unión..... | 39 |
| 1.2 | Instrumentos..... | 39 |
| 1.2.1 | Software..... | 39 |
| 1.2.2 | Servidores..... | 42 |
| 1.3 | Materiales..... | 44 |
| 2 | Campo de verificación..... | 44 |
| 2.1 | Ubicación Espacial..... | 44 |
| 2.2 | Ubicación Temporal..... | 44 |
| 2.3 | Unidades de Estudio..... | 44 |
| 3 | Criterios de selección..... | 44 |
| 3.1 | Inclusión de Ligandos..... | 44 |
| 3.2 | Exclusión de Ligandos..... | 44 |
| 3.3 | Inclusión de ECA..... | 45 |
| 3.4 | Exclusión de ECA..... | 45 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4 | Estrategia de recolección de datos..... | 45 |
| 4.1 | Organización..... | 45 |
| 4.2 | Recursos..... | 46 |
| 4.2.1 | Humanos..... | 46 |
| 4.2.2 | Materiales..... | 46 |
| 4.2.3 | Institucionales..... | 46 |
| 4.2.4 | Financieros..... | 46 |
| 4.3 | Validación de Instrumentos..... | 46 |
| 4.4 | Aspectos Éticos..... | 46 |
| | CAPÍTULO III RESULTADOS..... | 47 |
| 1 | Resultados docking molecular..... | 48 |
| 2 | Resultados dinámica molecular..... | 50 |
| 2.1 | Estructuras moleculares..... | 50 |
| 2.1.1 | Complejos Ligando-Proteína..... | 50 |
| 2.1.2 | Complejos Fármaco-Proteína..... | 52 |
| 2.2 | Estabilidad y flexibilidad del complejo..... | 54 |
| 2.2.1 | Análisis de RMSD..... | 54 |
| 2.2.2 | Radio de Giro..... | 56 |
| 2.2.3 | Fluctuaciones RMSF..... | 58 |
| 2.2.4 | RMSF Fitocompuestos-ACE I..... | 59 |
| 2.2.5 | RMSF Controles-ACE I..... | 69 |
| 3 | Resultados MMPBSA..... | 72 |
| | DISCUSIÓN..... | 74 |
| | CONCLUSIONES..... | 79 |
| | RECOMENDACIONES..... | 80 |
| | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 81 |
| | ANEXOS..... | 96 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1 Análisis de Variables..... | 4 |
| Tabla 2 Clasificación de la presión arterial según la ISH 2020..... | 13 |
| Tabla 3 Fármacos utilizados en el manejo de la hipertensión arterial..... | 15 |
| Tabla 4 Presencia reportada en la literatura de fitocompuestos bioactivos en plantas seleccionadas..... | 28 |
| Tabla 5 Docking de ligandos de origen vegetal con ECA I..... | 48 |
| Tabla 6 Docking de controles positivos con ECA I..... | 49 |
| Tabla 7 Energía libre de unión por MMPBSA de los ligandos naturales..... | 72 |
| Tabla 8 Energía libre de unión por MMPBSA de los controles positivos..... | 72 |
| Tabla 9 Cumplimiento de filtros clave: GASA, Lipinski, Pfizer y GSK por parte de los compuestos analizados. El valor 0 representa cumplimiento, y el valor 1, incumplimiento..... | 76 |
| Tabla 10 Resultados de Docking Molecular Fitocompuestos..... | 97 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1 Beta-Sitosterol..... | 18 |
| Figura 2 Campesterol..... | 19 |
| Figura 3 Ácido clorogénico..... | 20 |
| Figura 4 Gossipetina 3 glucósido..... | 21 |
| Figura 5 Gossypina..... | 22 |
| Figura 6 Hibiscitrina..... | 23 |
| Figura 7 Quercetina 7-O- rutinósido..... | 24 |
| Figura 8 Rutina..... | 25 |
| Figura 9 Estigmasterol..... | 26 |
| Figura 10 Alfa-Espinasterol..... | 27 |
| Figura 11 Representación estructural del complejo Gossipetina 3 glucósido–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando GOG acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)..... | 51 |
| Figura 12 Representación estructural del complejo Quercetina 7-O- Rutinósido–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la proteína con el ligando RU7 acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)..... | 51 |
| Figura 13 Representación estructural del complejo Espinasterol–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando RU7 acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)..... | 52 |
| Figura 14 Representación estructural del complejo Captopril–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando CAP acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)..... | 53 |
| Figura 15 Representación estructural del complejo Enalaprilato–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando ENA acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)..... | 53 |

| | |
|--|----|
| Figura 16 Representación estructural del complejo Lisinopril–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando LIS acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)..... | 54 |
| Figura 17 Comportamiento del RMSD de la enzima en complejos formados con diferentes compuestos..... | 55 |
| Figura 18 Comportamiento del radio de giro (Rg) de la enzima ECA I en complejos formados con diferentes compuestos..... | 57 |
| Figura 19 Análisis del complejo CAM–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre campesterol y residuos de la enzima ECA..... | 59 |
| Figura 20 Análisis del complejo CIT–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre hibiscitrina y residuos de la ECA..... | 60 |
| Figura 21 Análisis del complejo CLO–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre ácido clorogénico y residuos del sitio activo ECA..... | 61 |
| Figura 22 Análisis del complejo GOG–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre gossipetina 3 glucósido y residuos de la enzima ECA..... | 62 |
| Figura 23 Análisis del complejo GOT–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre Gossipetina 8 glucósido y residuos de la enzima ECA..... | 63 |
| Figura 24 Análisis del complejo RU3–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre rutina y residuos de la enzima ECA..... | 64 |
| Figura 25 Análisis del complejo RU7–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre quercetina 7 O rutinósido y residuos del sitio activo de la enzima ECA..... | 65 |
| Figura 26 Análisis del complejo SIT–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre sitosterol y residuos del sitio activo de la enzima ACE1..... | 66 |

| | | |
|-----------|---|-----|
| Figura 27 | Análisis del complejo SPI–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre espinasterol y residuos del sitio activo de la enzima ECA..... | 67 |
| Figura 28 | Análisis del complejo STG–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre estigmasterol y residuos del sitio activo de la enzima ACE1..... | 68 |
| Figura 29 | Análisis del complejo CAP–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre captopril y residuos de la enzima..... | 69 |
| Figura 30 | Análisis del complejo ENA–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre enalaprilato y residuos del sitio activo de la enzima ECA..... | 70 |
| Figura 31 | Análisis del complejo LIS–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre campesterol y residuos del sitio activo de la enzima ECA I..... | 71 |
| Figura 32 | Comparación estructural entre la vista global del complejo SIT–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 98 |
| Figura 33 | Comparación estructural entre la vista global del complejo CAM–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 98 |
| Figura 34 | Comparación estructural entre la vista global del complejo CIT–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 99 |
| Figura 35 | Comparación estructural entre la vista global del complejo CLO–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 99 |
| Figura 36 | Comparación estructural entre la vista global del complejo GOT–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 100 |
| Figura 37 | Comparación estructural entre la vista global del complejo RU3–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 100 |
| Figura 38 | Comparación estructural entre la vista global del complejo STG–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha)..... | 101 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|--|----|
| Anexo 1 Fitocompuesto - Docking (kcal/mol)..... | 97 |
| Anexo 2 Imágenes 3D de los distintos complejos Enzima-Ligando..... | 98 |



INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial constituye uno de los principales factores de riesgo cardiovascular a nivel global, siendo responsable de una elevada carga de morbilidad y mortalidad. A pesar de la disponibilidad de tratamientos farmacológicos eficaces, un porcentaje significativo de pacientes no alcanza un control óptimo de su presión arterial, ya sea por baja adherencia o efectos adversos asociados a los fármacos convencionales. Esta realidad justifica la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas, más seguras y accesibles. En este contexto, los fitocompuestos derivados de plantas medicinales surgen como alternativas prometedoras. El Perú, gracias a su vasta biodiversidad, representa una fuente valiosa de metabolitos con potencial actividad antihipertensiva. No obstante, la caracterización funcional y farmacológica de estos compuestos requiere métodos robustos que permitan evaluar su viabilidad antes de emprender estudios clínicos. La química computacional, y en particular las simulaciones moleculares, ofrecen una plataforma poderosa para predecir y analizar interacciones biomoleculares con alto nivel de resolución. Estas herramientas permiten explorar, de forma eficiente y a bajo costo, la afinidad de ligandos hacia blancos terapéuticos clave, como la enzima convertidora de angiotensina I, cuya inhibición es fundamental en el tratamiento de la hipertensión. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar el potencial inhibitorio de una serie de fitocompuestos bioactivos frente a la ECA-I mediante técnicas computacionales avanzadas, incluyendo acoplamiento molecular, dinámica molecular y análisis energético por MM-PBSA. Esta aproximación racional busca identificar candidatos naturales viables, sentando así las bases para futuras investigaciones que, eventualmente, permitan su integración en esquemas terapéuticos, ya sea como agentes principales, coadyuvantes o alternativas profilácticas.

Asimismo, se pretende contribuir al desarrollo de soluciones innovadoras que integren el conocimiento ancestral con metodologías científicas modernas (1).



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1 Problema de investigación

1.1 Determinación del Problema

La hipertensión arterial constituye uno de los principales factores de riesgo modificables para enfermedad cardiovascular, para insuficiencia renal y eventos cerebrovasculares. A pesar de la disponibilidad de múltiples opciones terapéuticas, las tasas de control tensional siguen siendo subóptimas en diversos contextos, incluida la población peruana. Entre las estrategias farmacológicas utilizadas, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) representan un pilar en el manejo de esta patología. Sin embargo, la aparición de efectos adversos, la variabilidad en la respuesta individual y la baja adherencia terapéutica han generado interés en la identificación de nuevas moléculas que actúen sobre este mismo blanco terapéutico. En ese marco, los compuestos de origen natural han sido objeto de creciente interés por su potencial bioactivo, aunque su interacción con la ECA I no ha sido aún caracterizada de forma exhaustiva a nivel molecular. Por lo tanto, se plantea la necesidad de realizar un estudio computacional que permita caracterizar las interacciones entre fitocompuestos y la ECA I, con el objetivo de proponer candidatos con un alto potencial terapéutico (1).

1.2 Enunciado del Problema

¿Qué nivel de afinidad de unión presentarán los fitocompuestos bioactivos seleccionados con el sitio activo de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), según los resultados obtenidos mediante estudios de dinámica molecular y energía de interacción usando herramientas computacionales?

1.3 Descripción del Problema

1.3.1 Área del Conocimiento

- **Área general:** Ciencias de la salud.
- **Área específica:** Medicina humana.
- **Especialidad:** Ingeniería Biomédica Computacional.
- **Línea:** Hipertensión Arterial-Enfermedades Cardiovasculares.

1.3.2 Análisis de Variables

Tabla 1
Análisis de Variables

| Variable | Variable | Indicador | Unidad/Categoría | Escala |
|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------------|
| Obtención de estructuras | Enzima convertidora de angiotensina I | Presencia de proteína | Residuos: Aminoácidos | Cuantitativa discreta |
| | Fitocompuestos | Presencia de compuesto | Residuos: Aminoácidos | Cuantitativa discreta |
| Simulación de la dinámica molecular | Número de moléculas | Presencia de moléculas | Átomos | Cuantitativa discreta |
| | Volumen total | Volumen de distribución | L/Kg | Cuantitativa continua de razón |
| | Temperatura | Directo | Grados C° | Cuantitativa continua de intervalo |
| | Tiempo de simulación | Directo | Nanosegundos (ns) | Cuantitativa discreta |
| Análisis de interacciones moleculares | Sitios activos | Presencia de sitios activos | Número de sitios activos | Cuantitativa discreta |
| | Interacciones Van der Waals | Energía atómica de contacto | Kcal/mol-1, kJ/mol-1 | Cuantitativa continua de razón |

1.3.3 Interrogantes Básicas

- ¿Cuál es la estabilidad conformacional de los complejos formados entre los fitocompuestos y la ECA, evaluada mediante simulaciones de dinámica molecular?
- ¿Qué afinidad de unión presentan los fitocompuestos seleccionados hacia el sitio activo de la ECA?
- ¿Cómo se compara la afinidad de unión de los fitocompuestos seleccionados con la de los controles positivos (enalaprilato, captopril y lisinopril)?
- ¿Qué fitocompuestos muestran mejores propiedades de interacción y estabilidad frente a la ECA para ser considerados como candidatos potenciales en futuras investigaciones?

1.3.4 Tipo de Investigación

Investigación analítica (2).

1.3.5 Nivel de Investigación

Investigación experimental *in silico* exploratorio (2).

1.3.6 Diseño de Investigación

Experimental (2).

1.4 Justificación del Problema

1.4.1 Justificación Científica

La hipertensión arterial (HTA) representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, siendo la enzima convertidora de angiotensina (ECA) un blanco terapéutico clave en su tratamiento. Aunque los inhibidores actuales de la ECA han demostrado eficacia, su uso puede estar limitado por efectos adversos como tos seca, disgeusia y reacciones cutáneas (3,4). En este contexto, resulta pertinente explorar nuevos compuestos con afinidad por esta enzima, con el fin de contribuir a la búsqueda de alternativas terapéuticas.

1.4.2 Justificación Social

En contextos como el peruano, donde persisten limitaciones en el acceso equitativo a servicios de salud, la hipertensión arterial continúa generando una elevada carga sanitaria y económica. Las dificultades para acceder a tratamientos eficaces y sostenidos agravan el pronóstico de esta enfermedad. Frente a este panorama, la búsqueda de nuevos agentes con afinidad hacia blancos terapéuticos previamente estudiados, constituye una oportunidad para ampliar el repertorio de opciones disponibles.

1.4.3 Originalidad

A diferencia de estudios tradicionales centrados en fármacos sintéticos, esta investigación propone un análisis computacional de compuestos de origen vegetal. Además, su originalidad también radica en el enfoque sobre especies vegetales con presencia en el contexto peruano, lo cual permite orientar futuras investigaciones hacia alternativas terapéuticas más accesibles y adaptadas a la realidad local.

1.4.4 Factibilidad

La presente investigación es científicamente factible, ya que se basa en evidencia consolidada sobre la capacidad de diversos fitocompuestos para unirse a la ECA y así inhibirla. El uso de herramientas de química computacional, está ampliamente validado en la literatura científica como una metodología confiable para predecir y analizar interacciones proteína-ligando con alta precisión, asegurando así su aplicabilidad futura.

1.4.5 Justificación Personal

Como estudiante de Medicina, me motiva profundamente la posibilidad de integrar los avances científicos y tecnológicos en la mejora de la salud humana. Aunque la biotecnología y la química computacional me parecían inicialmente campos lejanos, hoy los considero una herramienta clave para innovar en el abordaje de enfermedades crónicas como la hipertensión. Este proyecto representa para mí una oportunidad de crecimiento académico, al combinar mi formación médica con metodologías modernas y el estudio de compuestos naturales presentes en nuestro entorno.

2 Objetivos

2.1 Objetivo General

Evaluar, mediante herramientas de química computacional, la afinidad de unión y estabilidad estructural de fitocompuestos frente a la enzima convertidora de angiotensina I (ECA I), para poder identificar aquellos con mayor potencial inhibitorio para futuras investigaciones.

2.2 Objetivos Específicos

1. Evaluar la afinidad de unión de diversos fitocompuestos hacia la ECA mediante química computacional, y compararlos con controles positivos (enalaprilato, lisinopril y captopril) con el fin de estudiar los 10 ligandos con mayor potencial.
2. Analizar el comportamiento dinámico de los complejos ECA I–fitocompuesto y ECA I–controles positivos a través de simulaciones de dinámica molecular.
3. Estimar y comparar la energía libre de unión de los complejos ECA–ligando utilizando el método MMPBSA, con el objetivo de identificar las interacciones con mayor afinidad de unión en condiciones dinámicas.

3 Marco teórico

3.1 Hipertensión arterial

3.1.1 Definición

La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad de carácter crónico, progresivo y multifactorial, que se define como el aumento persistente de la presión arterial sistólica, diastólica o de ambas por encima de los valores establecidos como normales por organismos internacionales. Aunque los puntos de corte diagnóstico pueden variar ligeramente entre distintas guías clínicas, su impacto sobre la salud pública es universalmente reconocido (5,6). Una de las características más críticas de la HTA es su curso clínicamente silencioso durante las fases iniciales, lo que ha motivado que se la denomine coloquialmente como el Asesino Silencioso (7). Esta designación refleja su capacidad para inducir alteraciones estructurales y funcionales en órganos diana (como el corazón, cerebro, riñones y vasos sanguíneos) sin manifestaciones clínicas evidentes en sus primeras etapas. Como consecuencia, el diagnóstico suele realizarse en fases avanzadas o tras la aparición de eventos agudos graves, como infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular o insuficiencia renal crónica (8). Desde el punto de vista epidemiológico y clínico, la hipertensión constituye uno de los principales factores de riesgo modificables para enfermedades cardiovasculares. Su control eficaz ha demostrado reducir significativamente la morbimortalidad asociada a dichas patologías y prevenir el desarrollo de complicaciones irreversibles (9).

3.1.2 Epidemiología

La hipertensión arterial (HTA) es una de las enfermedades no transmisibles más prevalentes y de mayor carga sanitaria a nivel global. En el caso del Perú, los datos de la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar [ENDES] 2023, publicados por el Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEI], señalan que el 19.4% de la población de 15 años o más padece hipertensión, lo que representa a más de 4.9 millones de personas (10). El análisis regional de Arequipa, hecho por DIRESA en 2022, revela desigualdades geográficas en la prevalencia de la HTA. En el departamento de Arequipa, la prevalencia total asciende a aproximadamente 17.5%, siendo ligeramente inferior a la media nacional, aunque con patrones similares en cuanto a la distribución por sexo y residencia urbana. En Arequipa, se ha observado una mayor prevalencia de HTA en zonas urbanas, especialmente en adultos mayores de 60 años y personas con comorbilidades como obesidad y diabetes mellitus tipo 2. A nivel nacional, los hombres presentan una prevalencia más elevada (20.9%) que las mujeres (18.0%), con mayor concentración de casos en la región Costa (14.1%), seguida por la Selva y la Sierra (11.2% cada una). Las áreas urbanas registran una prevalencia ligeramente superior (13.3%) en comparación con las rurales (11.7%). Sin embargo, solo el 10.8% de la población ha sido diagnosticada por un médico, y de ellos, el 66.3% ha recibido o adquirido tratamiento farmacológico, con mayor adherencia en mujeres (67.8%) frente a hombres (64.0%). A nivel global, la carga epidemiológica de la hipertensión ha aumentado de manera sustancial en las últimas décadas. Según el Informe Mundial sobre Hipertensión 2023 de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número de personas con hipertensión se duplicó entre 1990 y 2019, pasando de 650 millones a más de 1 300 millones, de los cuales alrededor del 50% no son conscientes de su condición (11). La presión arterial sistólica elevada se ha identificado como el principal factor de riesgo modificable para mortalidad a nivel global, siendo responsable de más de 10.8 millones de muertes prevenibles cada año, así como de 235 millones de años de vida ajustados por discapacidad [AVADs] (7). Se estima que duplicar la tasa de control efectivo a nivel mundial al 50% para el año 2050 permitiría evitar hasta 76 millones de muertes prematuras (11).

3.1.3 Fisiopatología de la Presión Arterial

La hipertensión arterial se comprende actualmente como una enfermedad compleja y multifactorial, tal como lo planteó Irvine Page en su célebre Teoría del Mosaico. Esta propuesta conceptual, lejos de haber quedado obsoleta, ha sido refinada con nuevos descubrimientos. Se ha demostrado que los mecanismos que sostienen el aumento de la presión arterial no se limitan a un solo sistema, sino que emergen de la interacción entre el riñón, el sistema vascular, el sistema nervioso central, el sistema inmune, el eje hormonal renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) y nuevos moduladores como el estrés oxidativo, la microbiota intestinal y la genética poligénica (12,13).

3.1.3.1 Alteraciones renales y el volumen corporal:

El riñón cumple un papel central en la regulación de la presión arterial al controlar el volumen de líquido extracelular y el equilibrio de sodio. Cambios en la capacidad renal para excretar sodio, ya sea por una alteración en la curva de natriuresis o por una sobreactivación del SRAA, pueden inducir y mantener estados hipertensivos (14,15,16,17). Además, el aumento del tono simpático renal y la producción local de citoquinas proinflamatorias refuerzan la retención de sodio y agua, generando un incremento sostenido del gasto cardíaco y del volumen intravascular (18,19).

3.1.3.2 Disfunción vascular:

El incremento en la resistencia vascular periférica es un sello distintivo de la hipertensión establecida. La rigidez arterial, la disminución de la vasodilatación endotelial mediada por óxido nítrico (NO), la secreción aumentada de endotelina y el remodelado estructural de los vasos contribuyen a un estado vasoconstrictor persistente (20,21).

3.1.3.3 Activación del sistema nervioso simpático

El sistema nervioso central juega un rol clave en la génesis de la hipertensión, particularmente a través del aumento del tono simpático. Centros como el órgano subfornical, sensibles al sodio y a la angiotensina II, pueden activar rutas neuronales que elevan la presión arterial mediante la estimulación de la vasoconstricción, la retención renal de sodio y la liberación de renina (22). Además, aferencias desde el riñón y el tejido adiposo pueden retroalimentar estas vías centrales, exacerbando la respuesta hipertensiva, en especial en situaciones como el consumo elevado de sal o dietas ricas en grasa (23).

3.1.3.4 Rol del sistema inmunológico e inflamación

Se ha identificado una relación directa entre la inflamación crónica de bajo grado y la hipertensión. Células inmunitarias como los linfocitos T y monocitos infiltran el riñón y los vasos sanguíneos, liberando citoquinas proinflamatorias como la IL-17A, la cual afecta la función renal, la vasodilatación y la elasticidad vascular (24,25). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por el sistema inmune pueden modificar proteínas formando neoantígenos, lo que perpetúa la respuesta inflamatoria y el daño vascular (26).

3.1.3.5 Participación de la aldosterona y el receptor mineralocorticoide

Aunque tradicionalmente se consideraba que la aldosterona actuaba solo a nivel renal, hoy se sabe que su receptor está presente también en vasos, células inmunes y neuronas. Su activación contribuye a la disfunción endotelial, fibrosis vascular y renal, y a la amplificación de la respuesta inflamatoria (27,28).

3.1.3.6 Estrés oxidativo

El desequilibrio entre la producción de ROS y los mecanismos antioxidantes agrava la disfunción vascular y renal. En la nefrona proximal, las ROS inducen la activación del SRAA local, lo que favorece la retención de sodio y la progresión de la enfermedad hipertensiva renal (29).

3.1.3.7 Influencia de la microbiota intestinal

Estudios recientes muestran que la disbiosis intestinal puede contribuir al desarrollo de hipertensión a través de múltiples mecanismos: activación inmunológica, aumento de la permeabilidad intestinal, producción de metabolitos proinflamatorios y modulación del sistema nervioso autónomo (30,31).

3.1.3.8 Factores genéticos y poligénicos

Aunque existen formas monogénicas raras de hipertensión, la mayoría de los casos presenta una herencia poligénica. Los estudios de asociación genómica han identificado más de mil polimorfismos que influyen en la presión arterial, y su combinación puede explicar hasta 13 mmHg de variación en sujetos jóvenes (32,33).

Considerando esta complejidad fisiopatológica y la multiplicidad de mecanismos implicados, la presente investigación se centrará específicamente en el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), un eje hormonal clave (33).

3.1.4 Rol del SRAA en la Hipertension Arterial

El Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) constituye una red hormonal, cuyo papel es fundamental en el mantenimiento de la presión arterial y del equilibrio hidrosalino. Su activación comienza con la liberación de renina por parte de las células yuxtaglomerulares del riñón, en respuesta a condiciones como hipovolemia, hiponatremia o disminución del flujo renal. La renina actúa sobre el angiotensinógeno, una globulina plasmática sintetizada en el hígado, convirtiéndola en angiotensina I, un decapeptido sin actividad fisiológica significativa (5). Posteriormente, la enzima convertidora de angiotensina (ECA), una metaloproteasa dependiente de zinc presente mayoritariamente en el endotelio pulmonar, transforma la angiotensina I en angiotensina II, un octapeptido de acción biológica potente. Este péptido actúa principalmente sobre los receptores AT1, provocando una serie de respuestas: vasoconstricción sistémica intensa, incremento de la resistencia vascular periférica y estimulación de la secreción de aldosterona desde la corteza suprarrenal. La aldosterona, a su vez, induce la reabsorción renal de sodio y agua, elevando el volumen

intravascular y, por ende, la presión arterial (34). Más allá de su rol hemodinámico inmediato, la angiotensina II también participa en múltiples procesos patológicos: inducción de estrés oxidativo, inflamación crónica del endotelio, disfunción endotelial y remodelado estructural cardíaco y vascular. Estos mecanismos contribuyen directamente al daño progresivo de órganos diana como el corazón, riñones, cerebro y retina, y se encuentran estrechamente asociados a las complicaciones crónicas de la hipertensión arterial (35,36). En condiciones de activación persistente, el SRAA se convierte en un factor clave para la perpetuación del estado hipertensivo, particularmente en la hipertensión esencial. Dentro de este contexto, el bloqueo farmacológico de la ECA ha demostrado ser una estrategia terapéutica eficaz, ya que reduce la formación de angiotensina II y, simultáneamente, favorece la acumulación de bradicinina, un potente vasodilatador cuya degradación también depende de esta enzima. Por consiguiente, el SRAA no solo actúa como un sistema de respuesta rápida para el control de la presión arterial, sino que también se comporta como un amplificador de daño cardiovascular crónico cuando su regulación se ve alterada (37).

3.1.5 Diagnóstico

Según la ISH 2020 (2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines), se establece el diagnóstico de hipertensión arterial cuando, en mediciones clínicas repetidas, se observa:

- Presión arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mmHg y/o
- Presión arterial diastólica (PAD) ≥ 90 mmHg

Estas mediciones deben realizarse con técnica estandarizada y confirmarse en al menos dos o tres visitas diferentes. Cuando exista duda diagnóstica o sospecha de hipertensión de bata blanca, se recomienda el uso de medición ambulatoria o domiciliaria (5).

3.1.6 Clasificación de la Presión Arterial

La ISH 2020 propone la siguiente clasificación de la presión arterial en adultos (5).

Tabla 2
Clasificación de la presión arterial según la ISH 2020

| Categoría | PAS (mmHg) | PAD (mmHg) |
|------------------------------|------------|------------|
| Normal | <130 | <85 |
| Presión arterial normal-alta | 130–139 | 85–89 |
| Hipertensión grado 1 | 140–159 | 90–99 |
| Hipertensión grado 2 | ≥160 | ≥100 |

* Unger et al (5).

Asimismo, se reconocen dos patrones especiales:

- **Hipertensión sistólica aislada:** PAS ≥ 140 mmHg y PAD < 90 mmHg
- **Hipertensión diastólica aislada:** PAS < 140 mmHg y PAD ≥ 90 mmHg (5).

3.1.7 Prevención

Diversos estudios han identificado estrategias no farmacológicas altamente efectivas para prevenir la hipertensión arterial:

3.1.7.1 Pérdida de peso

Según la American Heart Association (AHA) y el American College of Cardiology (ACC) reducir incluso 4.5 kg de peso puede disminuir significativamente la presión arterial. Se estima que por cada kilogramo perdido, la presión arterial sistólica (PAS) se reduce en promedio 1 mm Hg, lo que representa un impacto clínico relevante (9).

3.1.7.2 Alimentación saludable – Dieta DASH

Esta dieta, respaldada por múltiples sociedades científicas internacionales (38,39), se basa en el consumo elevado de frutas, verduras, cereales integrales y lácteos bajos en grasa. Puede reducir la PAS en hasta 6.97 mm Hg y la presión arterial diastólica (PAD) en 3.54 mm Hg (40).

3.1.7.3 Reducción del sodio y aumento del potasio

Limitar la ingesta de sodio por debajo de 2400 mg/día puede reducir la PAS entre 5 y 6 mm Hg. Simultáneamente, aumentar el consumo de potasio (3500–5000 mg/día) mediante alimentos naturales ayuda a neutralizar el efecto hipertensivo del sodio (9).

3.1.7.4 Actividad física regular

Se recomienda realizar entre 90 y 150 minutos semanales de ejercicios aeróbicos moderados (caminar, trotar, ciclismo), además de ejercicios de resistencia o isométricos, para lograr reducciones sostenidas en los valores tensionales (9).

3.1.7.5 Moderación del alcohol

La ingesta no debe exceder una bebida estándar diaria en mujeres y dos en hombres. Su reducción progresiva tiene un impacto positivo en el control de la hipertensión (38).

3.1.7.6 Manejo del estrés y calidad del sueño

La incorporación de prácticas como meditación, respiración profunda o relajación guiada, junto a un sueño adecuado, disminuye la activación simpática y contribuye a la regulación de la presión arterial (41).

3.1.7.7 Cese del tabaquismo

Abandonar el hábito de fumar reduce significativamente el riesgo de desarrollar hipertensión y enfermedades cardiovasculares asociadas. Es una recomendación universal en todas las guías de práctica clínica. Estas intervenciones han demostrado ser eficaces no solo en la prevención, sino también como complemento en el manejo de la hipertensión ya diagnosticada, facilitando el control tensional y la reducción del riesgo de complicaciones cardiovasculares (38).

3.1.8 Tratamiento

Las modificaciones del estilo de vida representan la primera línea de intervención terapéutica para todos los pacientes con hipertensión, independientemente de si requieren tratamiento farmacológico. Su implementación sostenida puede reducir significativamente las cifras tensionales y postergar o incluso evitar la necesidad de medicación. El inicio de tratamiento con medicamentos antihipertensivos está indicado cuando las intervenciones sobre el estilo de vida no son suficientes para alcanzar las metas terapéuticas, o cuando el paciente presenta hipertensión grado 1 o 2 de forma confirmada, en especial si existe compromiso de órganos blanco o un riesgo cardiovascular elevado (5).

Tabla 3
Fármacos utilizados en el manejo de la hipertensión arterial

| Grupo farmacológico | Mecanismo y utilidad clínica | Ejemplos |
|---|--|--|
| IECA (Inhibidores de la ECA) | Inhiben la conversión de angiotensina I en II, reduciendo vasoconstricción y retención de sodio. Protegen riñón y corazón. | Enalapril, Lisinopril, Captopril, Ramipril, entre otros. |
| ARA II (Antagonistas del receptor de angiotensina II) | Bloquean la acción de angiotensina II sobre su receptor. Buena tolerancia y menor riesgo de tos o angioedema vs. IECA. | Irbesartán, Losartán, Valsartán, Telmisartán, entre otros. |
| BCC (Bloqueadores de canales de calcio, tipo dihidropiridinas) | Relajan el músculo liso vascular, promoviendo vasodilatación. | Amlodipino, Nifedipino, entre otros. |
| Diuréticos tiazídicos | Eliminan sodio y agua, disminuyendo el volumen plasmático. | Hidroclorotiazida, Indapamida |
| Betabloqueadores | Indicados en cardiopatía isquémica, arritmias o insuficiencia cardíaca. No son de primera línea general. | Metoprolol, Atenolol, Carvedilol, entre otros. |
| Antagonistas de aldosterona | Útiles en hipertensión resistente o hiperaldosteronismo. | Espironolactona, Eplerenona |

* Unger et al (5).

Según la ISH 2020, los objetivos de control tensional son los siguientes:

- Para la mayoría de pacientes: PAS \leq 140 mmHg y PAD \leq 90 mmHg.
- En adultos jóvenes, diabéticos, o aquellos con evidencia de daño a órgano blanco: se puede considerar PAS \leq 130 mmHg y PAD \leq 80 mmHg, siempre que la reducción sea bien tolerada (5).

3.2 Fitocompuestos: plantas fuente

3.2.1 Hibiscus Sabdariffa

Hibiscus sabdariffa, comúnmente conocida como flor de Jamaica o roselle, es una planta herbácea de la familia Malvaceae ampliamente cultivada en regiones tropicales y subtropicales. Su uso tradicional en infusiones y remedios naturales ha sido documentado en diversas culturas debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, diuréticas y antihipertensivas. Estas propiedades han sido atribuidas a su alta concentración de compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos orgánicos y antocianinas, los cuales han demostrado una capacidad significativa para modular la ECA. Desde una perspectiva fitoquímica, se ha caracterizado un amplio rango de metabolitos bioactivos en *H. sabdariffa* mediante técnicas de espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida de ultra-alta eficiencia (UPLC-HRMS), entre los que se incluyen flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, esteroides y triterpenos, muchos de los cuales presentan estructuras compatibles con la inhibición de enzimas como la ECA (42,43,44,45,46,47).

3.2.2 Allium Sativum

Comúnmente conocido como ajo, es una planta herbácea de la familia Amaryllidaceae ampliamente utilizada tanto en la gastronomía como en la medicina tradicional. Su empleo en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, incluyendo la hipertensión arterial, ha sido respaldado por numerosos estudios fitoquímicos y farmacológicos. El interés científico en esta especie radica principalmente en su perfil fitoquímico rico en compuestos organosulfurados, los cuales han demostrado efectos cardioprotectores e hipotensores. Además, el ajo también posee efectos antioxidantes, que contribuyen a la protección del endotelio vascular y a la reducción del estrés oxidativo, otro factor involucrado en la hipertensión (48,49,50). Un metaanálisis de estudios aleatorizados controlados indicó que el consumo de suplementos de ajo durante un periodo de al menos 8 semanas puede reducir la presión sistólica en promedio 8–10 mmHg y la diastólica en 5–6 mmHg, efectos comparables a los observados con fármacos antihipertensivos de primera línea (51).

3.2.3 **Curcuma Longa**

Conocida comúnmente como cúrcuma, es una planta rizomatosa de la familia Zingiberaceae ampliamente utilizada tradicionalmente en la medicina ayurvédica y china por sus propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y hepatoprotectoras. Su principal componente bioactivo, la curcumina (diferuloilmetano), ha sido objeto de numerosos estudios científicos por su potencial terapéutico en enfermedades crónicas, incluido su efecto modulador sobre la ECA I.

Desde una perspectiva fisiopatológica, esta planta también contribuye a la reducción de la presión arterial al modular vías relacionadas con el estrés oxidativo y la inflamación vascular. Actúa inhibiendo factores de transcripción proinflamatorios como NF-Kappa Beta y reduciendo la expresión de citocinas como Interleucina-6 y TNF-alfa, lo cual disminuye la disfunción endotelial y el remodelado vascular asociados a la hipertensión. (52,53,54,55,56).

3.2.4 **Moringa Oleifera**

También conocida como árbol de la vida o moringa, es una planta originaria del noroeste de la India. Actualmente se cultiva ampliamente en diversas regiones tropicales y subtropicales del mundo, incluyendo países de América Latina como Perú. Esta especie ha captado la atención científica internacional debido a su notable densidad nutricional y su diversidad fitoquímica, la cual incluye flavonoides, isotiocianatos, ácidos fenólicos, esteroides vegetales y otros metabolitos secundarios de interés biomédico. Su uso tradicional como planta medicinal ha sido respaldado por evidencia moderna, particularmente en el contexto de enfermedades cardiovasculares, donde sus compuestos bioactivos han demostrado efectos hipotensores y antioxidantes. Su efecto hipotensor parece ser multifactorial, combinando mecanismos de inhibición enzimática, modulación del estrés oxidativo, actividad antiinflamatoria y mejora de la función endotelial (52,57,58,59,60).

3.3 **Fitocompuestos seleccionados**

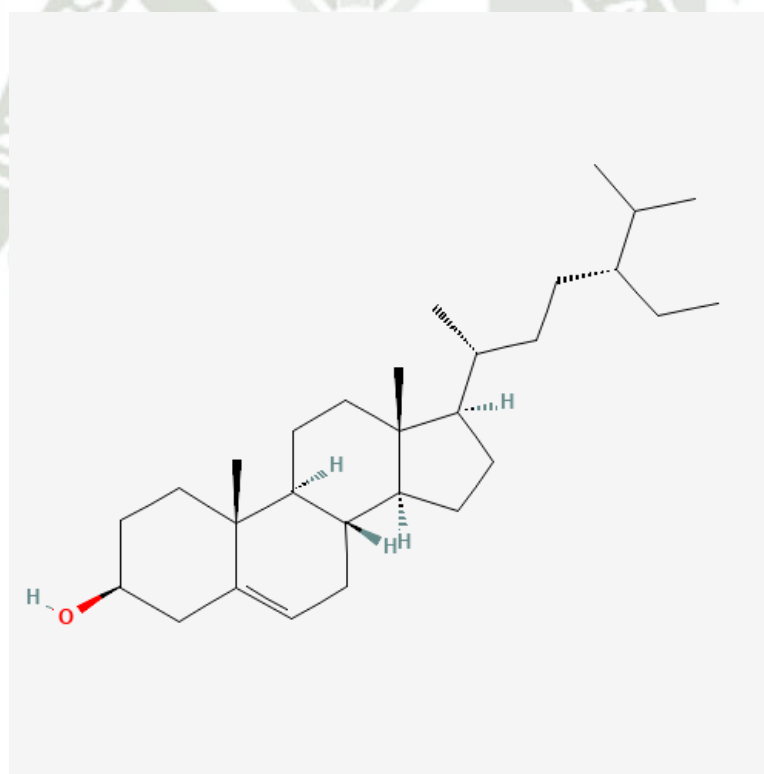
En esta sección se presentan los fitocompuestos seleccionados a partir del estudio de acoplamiento molecular inicial, realizado con diversos compuestos bioactivos provenientes de las plantas previamente mencionadas. Como resultado de este análisis, se seleccionaron diez fitocompuestos que evidenciaron los valores de

afinidad más favorables. Los detalles y la discusión de los valores obtenidos serán desarrollados en el capítulo de resultados.

3.3.1 Beta-sitosterol (SIT)

Es un fitocompuesto de origen natural, ampliamente distribuido en alimentos vegetales. También conocido como sitosterol, este fitosterol posee la fórmula molecular $C_{29}H_{50}O$ y un peso molecular de 414.7 g/mol, según los datos estructurales reportados en PubChem (ID: 222284) (61). Se clasifica como un derivado del estigmastano, estructuralmente análogo al colesterol, diferenciándose por una cadena lateral etilada en la posición C24, lo cual influye directamente en sus propiedades fisicoquímicas y funcionales.

Figura 1
Beta-Sitosterol.

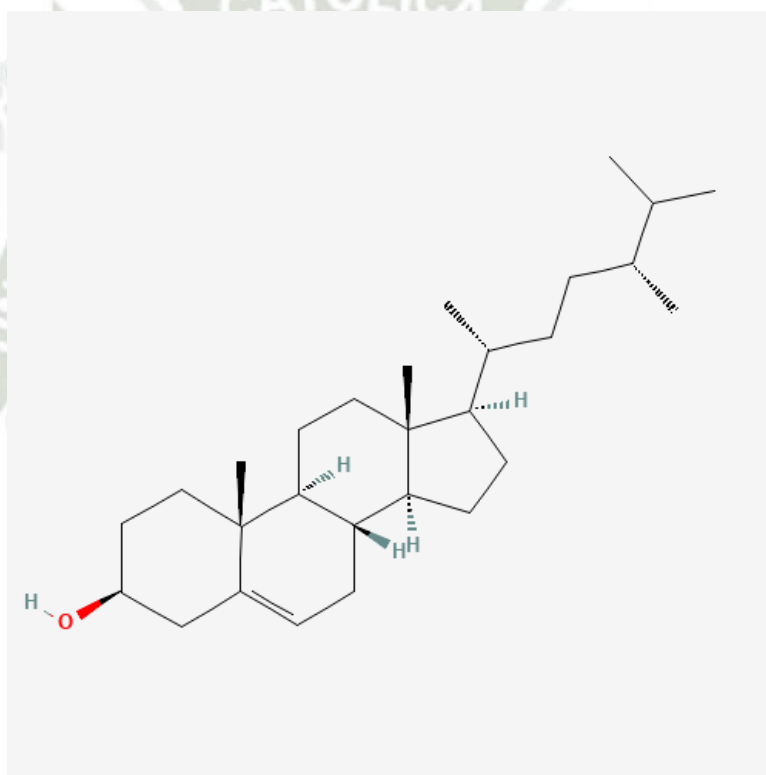


* National Center for Biotechnology Information (61).

3.3.2 Campesterol (CAM)

El campesterol es un fitosterol de origen vegetal, estructuralmente relacionado con el sitosterol, pero con una diferencia clave: la presencia de un grupo metilo ($-\text{CH}_3$) en la posición C24 de su cadena lateral. Se clasifica dentro de los esteroides, con fórmula molecular $\text{C}_{28}\text{H}_{48}\text{O}$ y un peso molecular de 400.7 g/mol, según los datos estructurales reportados en PubChem (CID: 173183) (62). Está presente de forma natural en una amplia variedad de fuentes vegetales.

Figura 2
Campesterol.

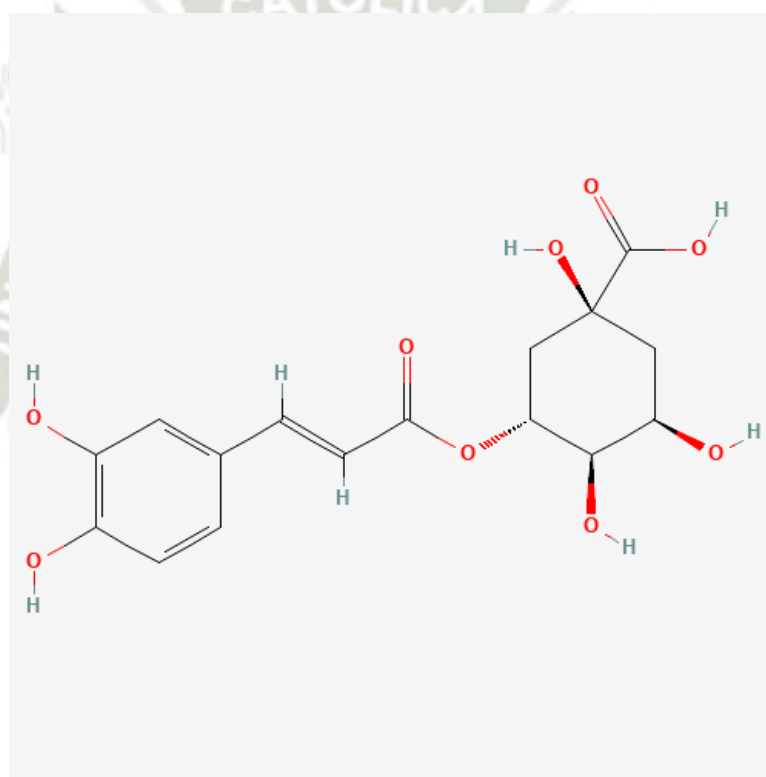


* National Center for Biotechnology Information (62).

3.3.3 Ácido Clorogénico

Es un ácido fenólico de origen natural, ampliamente distribuido en distintas fuentes vegetales. Se trata de un éster entre el ácido cafeico y el ácido quínico, clasificado dentro de los ácidos hidroxicinámicos. Su estructura le otorga una fuerte capacidad para donar electrones y estabilizar radicales libres. Presenta la fórmula molecular $C_{16}H_{18}O_9$ y un peso molecular de 354.31 g/mol, de acuerdo con los datos estructurales disponibles en PubChem (CID: 1794427) (63).

Figura 3
Ácido clorogénico.

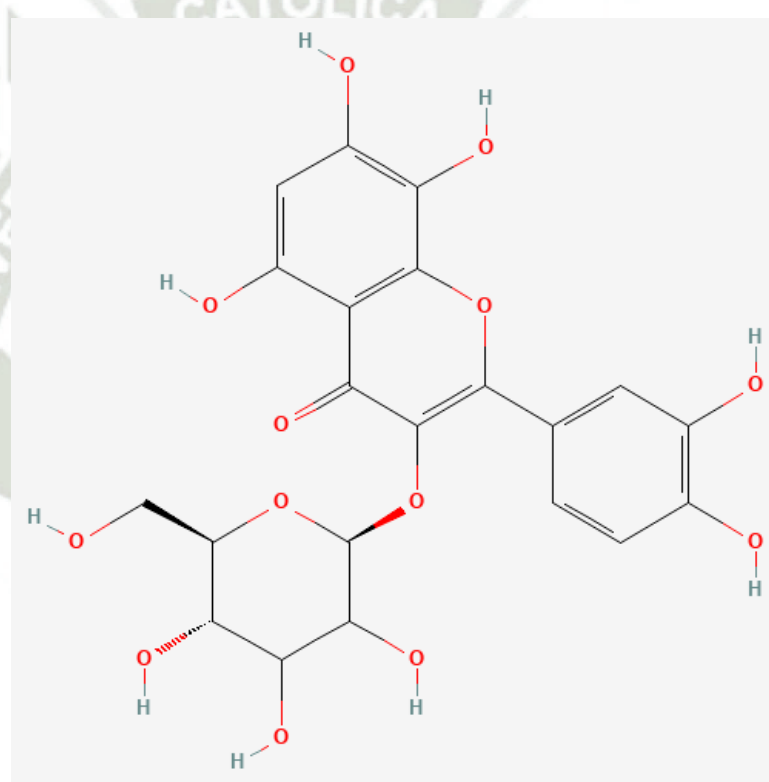


* National Center for Biotechnology Information (63).

3.3.4 Gossipetina-3-glucósido (GOG)

Se trata de un flavonol glicosilado de origen natural, perteneciente a la subclase de los flavonoides. Su fórmula molecular es $C_{21}H_{20}O_{13}$ y presenta un peso molecular de 480.4 g/mol, según los datos estructurales del identificador PubChem CID: 44259979 (64). Estructuralmente, consistió en una molécula de gossipetina unida mediante un enlace glicosídico en la posición 3 a una unidad de glucosa.

Figura 4
Gossipetina 3 glucósido.

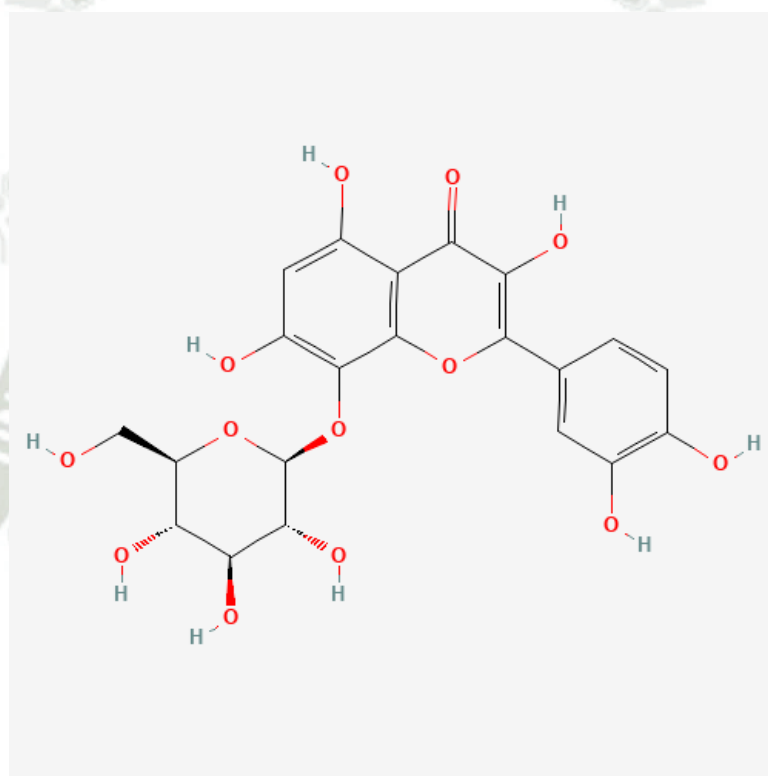


* National center for biotechnology information (64).

3.3.5 Gossypina (GOT)

También conocido como *Gossipetina-8-'glucósido* es un flavonol glicosilado de origen natural, perteneciente a la subclase de los flavonoides. Su estructura química consistió en un núcleo de flavonol altamente hidroxilado, con una unidad de glucosa unida en la posición 8 del anillo A (64).

Figura 5
Gossypina

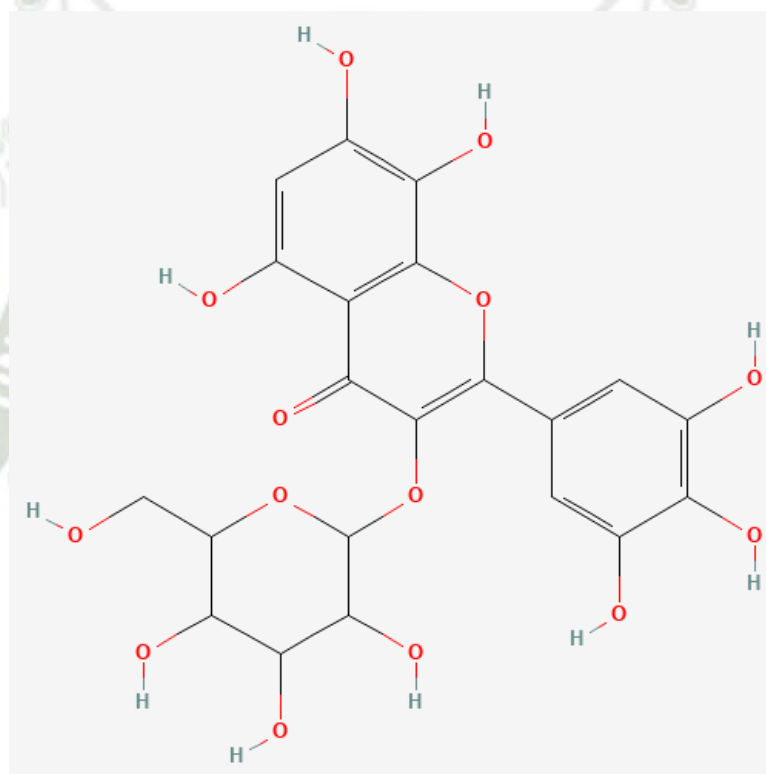


* National center for biotechnology information (64).

3.3.6 Hibiscitrina (CIT)

Es un flavonoide glucosilado de origen natural, característico de *Hibiscus sabdariffa* y otras especies del género *Hibiscus*. Se clasifica estructuralmente como un flavonol derivado de la quercetina. Su fórmula molecular es $C_{21}H_{20}O_{14}$ y su peso molecular es de 496.4 g/mol, de acuerdo con los datos estructurales registrados en PubChem (CID: 15559736) (65).

Figura 6
Hibiscitrina

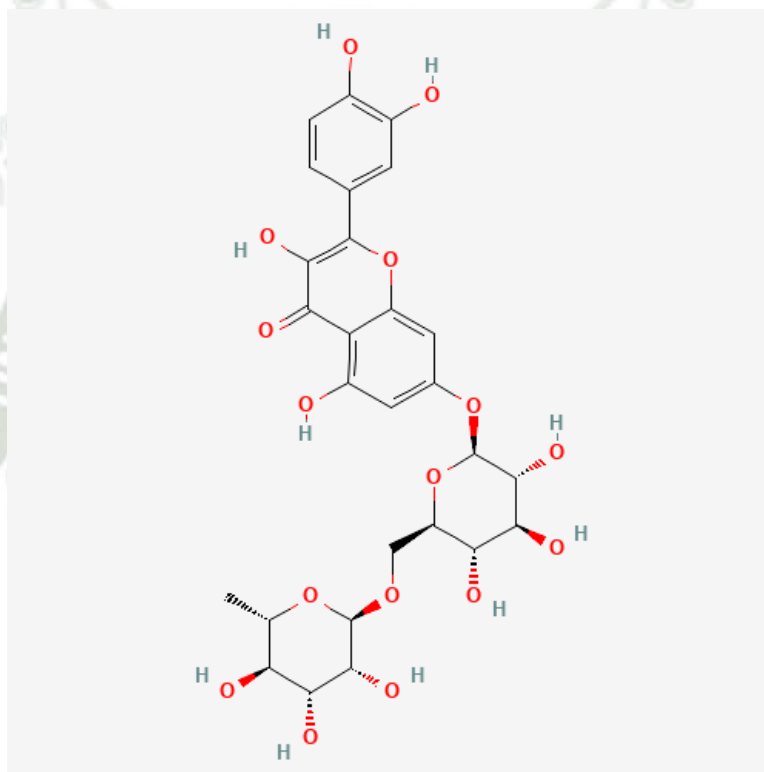


* National center for biotechnology information (65).

3.3.7 Quercetina 7-O-Rutinósido

Es un glucósido flavonoide de origen natural, perteneciente a la subclase de los flavonoles. Su estructura consistió en un esqueleto de quercetina unido en la posición 7-hidroxilo a un disacárido tipo rutinoso (ramnosa + glucosa), lo cual le confiere buena estabilidad (65).

Figura 7
Quercetina 7-O- rutinósido.



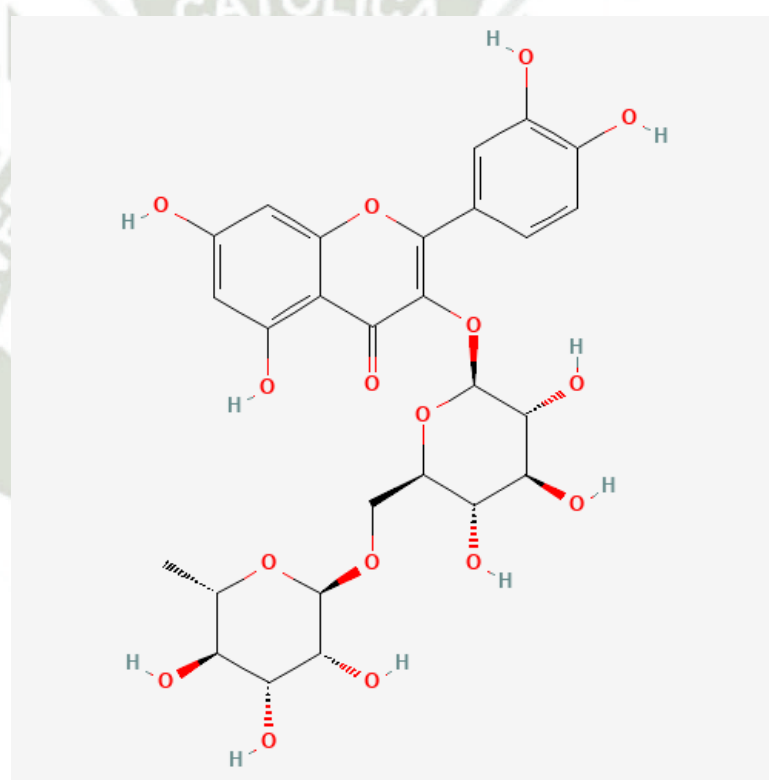
* National center for biotechnology information (65).

3.3.8 Rutina

También conocida como *quercetina-3-O-rutinósido* es un flavonoide glucósido de origen natural, ampliamente distribuido en plantas, frutas y vegetales. Desde el punto de vista estructural, se trata de un flavonol constituido por una molécula de quercetina unida a un disacárido rutinoso (ramnosa + glucosa) en la posición 3 del anillo C. De acuerdo con los datos registrados en PubChem (CID: 5280805) (66), su fórmula molecular es $C_{28}H_{34}O_{17}$ y su peso molecular es de 610.5 g/mol.

Figura 8

Rutina.

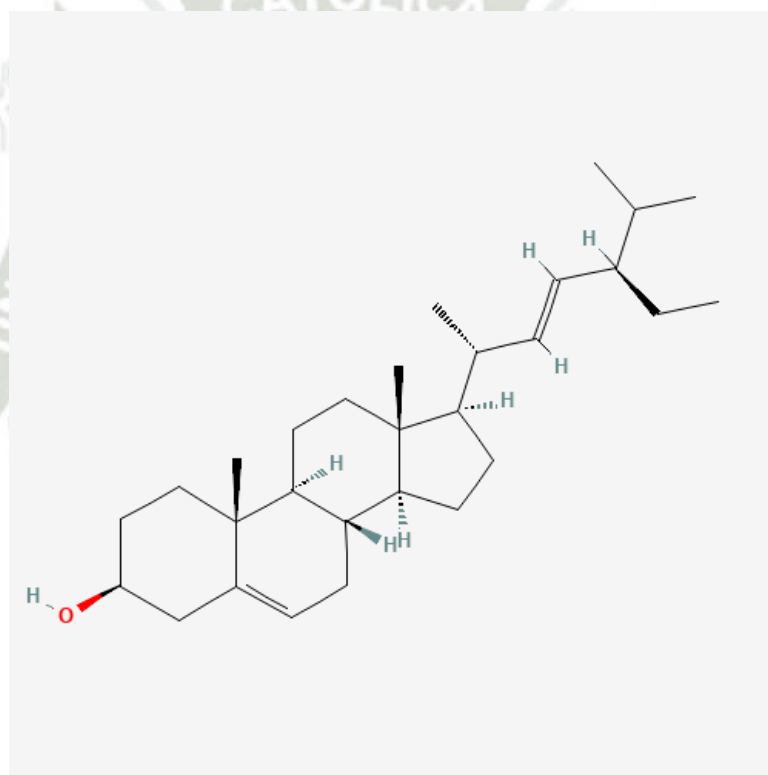


* National center for biotechnology information (66).

3.3.9 Estigmasterol (STG)

El estigmasterol es un fitoesterol perteneciente al grupo de los esteroides vegetales de tipo estigmastano, cuya fórmula molecular es $C_{29}H_{48}O$ y cuyo peso molecular alcanza los 412.7 g/mol, según la base de datos PubChem (CID: 5280794). Estructuralmente, se trata de un derivado del estigmastano con insaturaciones características en las posiciones 5,6 y 22,23, así como un grupo hidroxilo en la posición 3 beta del esqueleto esteroideo.

Figura 9
Estigmasterol.

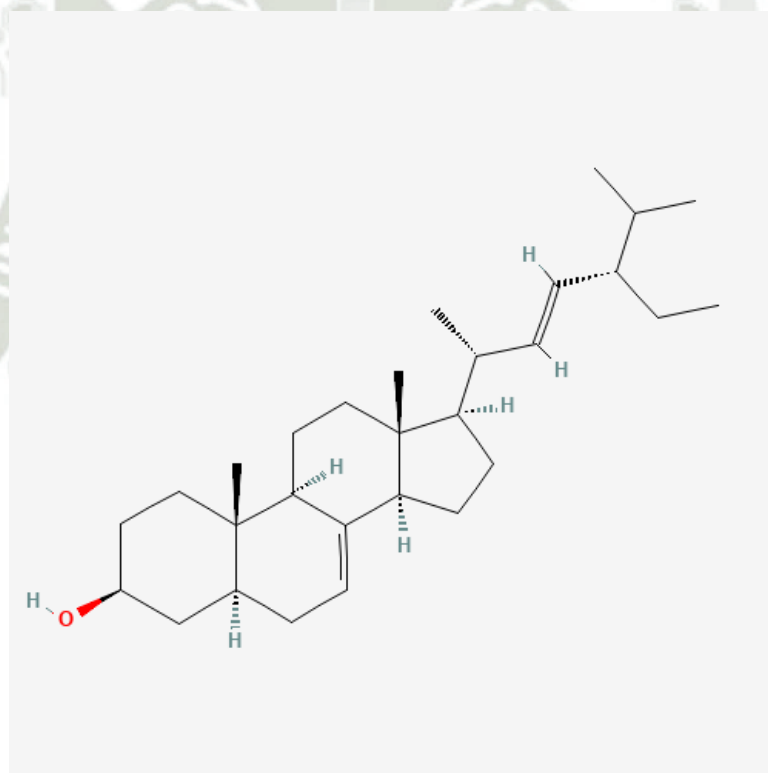


* National center for biotechnology information (66).

3.3.10 Alfa-Espinasterol (SPI)

Es un fitosterol de origen natural perteneciente a la clase de los esteroides insaturados. Este compuesto presenta la fórmula molecular $C_{29}H_{48}O$ y un peso molecular de 412.7 g/mol, según los datos estructurales disponibles en PubChem (CID: 5281331) (67). Se clasifica como un derivado del estigmastano, con un núcleo esteroideo tetracíclico, un doble enlace adicional en la posición C22–C23 y una cadena lateral metilada, lo que lo distingue estructuralmente de otros fitosteroles como el beta-sitosterol o el campesterol.

Figura 10
Alfa-Espinasterol.



* National center for biotechnology information (67).

Tabla 4
Presencia reportada en la literatura de fitocompuestos bioactivos en plantas seleccionadas

| Fitocompuesto | Abrev. | Planta | Presencia según literatura |
|---------------------------|---------------|----------------------|-----------------------------------|
| Beta-sitosterol | SIT | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (68,69,70). |
| | | <i>C. longa</i> | Sí (71,72). |
| | | <i>M. oleifera</i> | Sí (73,74,75). |
| | | <i>A. sativum</i> | No |
| Campesterol | CAM | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (69,76). |
| | | <i>C. longa</i> | Sí (71,77). |
| | | <i>M. oleifera</i> | Sí (73,74) |
| | | <i>A. sativum</i> | Sí (78). |
| Ácido clorogénico | CLO | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (69,76). |
| | | <i>C. longa</i> | Sí (79). |
| | | <i>M. oleifera</i> | Sí (73,80,81,82,83,84). |
| | | <i>A. sativum</i> | Sí (85). |
| Gossipetina-3-glucósido | GOG | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (68,70,69). |
| | | <i>C. longa</i> | No |
| | | <i>M. oleifera</i> | No |
| | | <i>A. sativum</i> | No |
| Gossipetina-8-glucósido | GOT | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (68,70,69). |
| | | <i>C. longa</i> | No |
| | | <i>M. oleifera</i> | No |
| | | <i>A. sativum</i> | No |
| Hibiscitrina | CIT | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (68,70). |
| | | <i>C. longa</i> | No |
| | | <i>M. oleifera</i> | No |
| | | <i>A. sativum</i> | No |
| Quercetina-7-O-rutinósido | RU7 | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (86). |
| | | <i>C. longa</i> | No |
| | | <i>M. oleifera</i> | No |
| | | <i>A. sativum</i> | No |
| Rutina | RU3 | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (70,69). |
| | | <i>C. longa</i> | Sí (87). |
| | | <i>M. oleifera</i> | Sí (74,81,82,83,84). |
| | | <i>A. sativum</i> | Sí (78,85,86,87,88). |
| Espinasterol | SPI | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (69). |
| | | <i>C. longa</i> | No |
| | | <i>M. oleifera</i> | No |
| | | <i>A. sativum</i> | No |
| Estigmasterol | STG | <i>H. sabdariffa</i> | Sí (69,76). |
| | | <i>C. longa</i> | Sí (72,71,77,89). |
| | | <i>M. oleifera</i> | Sí (73,74,75,81). |
| | | <i>A. sativum</i> | No |

3.4 Química computacional

Es una rama de la ciencia que aplica modelos físicos, matemáticos y principios de mecánica cuántica y molecular para simular y predecir el comportamiento de sistemas químicos. Esta disciplina permite explorar fenómenos como la reactividad química, la estabilidad conformacional y las interacciones moleculares sin necesidad de experimentación física directa (90). En el desarrollo de fármacos, se utiliza para modelar compuestos bioactivos, analizar su comportamiento frente a dianas terapéuticas y optimizar moléculas candidatas antes de estudios *in vitro* o *in vivo* (91). Dependiendo de la escala y precisión requerida, se emplean métodos cuánticos, mecánicos clásicos, o enfoques híbridos (QM/MM), lo que permite combinar exactitud y eficiencia computacional (92).

3.4.1 Caracterización estructural de la ECA

La enzima convertidora de angiotensina, clasificada como una dipeptidil-carboxipeptidasa, es una metaloproteasa dependiente de Zn. Esta enzima desempeña un papel clave en la regulación de la presión arterial, catalizando la conversión del decapeptido angiotensina I en el octapéptido angiotensina II, un potente vasoconstrictor. Estructuralmente, la ECA es una proteína transmembrana compuesta por dos dominios catalíticos homólogos (N y C), cada uno con capacidad enzimática independiente. El dominio C es el responsable principal de la conversión de angiotensina I. El centro activo del dominio C coordina con un ion de zinc, esencial para la actividad catalítica de la enzima. El modelo tridimensional más utilizado para estudios estructurales y computacionales de la ECA es el obtenido mediante cristalografía de rayos X con número de acceso PDB: 1O8A, el cual corresponde a la enzima en su forma nativa. Esta estructura presenta una resolución de 2.0 Å y revela una arquitectura globular compuesta por una mezcla de hélices alfa, con un surco profundo que constituye el sitio de unión al sustrato. El sitio activo presenta una región hidrofóbica que permite el anclaje del grupo terminal del ligando, y una cavidad polar donde se produce la coordinación del zinc y la hidrólisis del enlace peptídico. Su estructura glicosilada contribuye a la estabilidad y al anclaje en la membrana plasmática de células endoteliales. A pesar de que la ECA completa presenta regiones transmembrana, la mayoría de los estudios computacionales se enfocan en su dominio extracelular soluble, que contiene la actividad catalítica y es adecuado para estudios *in silico* de acoplamiento molecular y dinámica (37).

3.4.2 Docking molecular

El docking molecular, o acoplamiento molecular, es una técnica computacional clave en el campo de la química medicinal y la biología estructural. Su propósito principal es predecir la orientación óptima de un ligando al unirse al sitio activo de una macromolécula receptora, como una enzima o un receptor proteico. Esta predicción permite estimar la afinidad de unión y, por tanto, el potencial inhibitorio o modulador del ligando sobre la diana molecular. El principio fundamental del docking se basa en la complementariedad estructural y energética entre el ligando y el receptor. Para ello, se consideran múltiples factores: interacciones no covalentes como enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, hidrofobicidad, y coordinación con iones metálicos si están presentes en el sitio activo. El objetivo del algoritmo de docking es identificar la conformación del complejo proteína-ligando que presenta la energía libre de unión más baja, lo cual sugiere mayor estabilidad y, en consecuencia, mayor afinidad. La metodología del docking puede dividirse en dos componentes esenciales: el muestreo conformacional y la evaluación de afinidad. El muestreo explora diversas orientaciones y posiciones del ligando dentro del sitio activo del receptor. Este proceso puede ser rígido o flexible, dependiendo de si se permite o no la rotación de enlaces internos del ligando y/o de residuos del receptor. Posteriormente, cada pose generada se somete a una función de puntuación (scoring function) que estima su energía de interacción, permitiendo seleccionar la conformación con la menor energía libre como la más probable (93,94,95).

3.4.3 Simulación de Dinámica Molecular (DM)

Es una técnica computacional avanzada que permite modelar y predecir el comportamiento temporal de sistemas biomoleculares. Basada en las leyes de la mecánica clásica, esta metodología resuelve numéricamente las ecuaciones de movimiento de Newton para cada átomo de un sistema, proporcionando información detallada sobre la evolución estructural, energética y dinámica de proteínas, ligandos, complejos moleculares y solventes a lo largo del tiempo. A diferencia de los métodos estructurales estáticos, como el docking molecular convencional, la dinámica molecular incorpora la dimensión temporal, permitiendo explorar los grados de libertad conformacionales de las biomoléculas bajo condiciones fisiológicas simuladas. De este modo, se pueden observar fenómenos como fluctuaciones locales, reorganización de interacciones intermoleculares, formación y ruptura de puentes de hidrógeno, cambios en el radio de giro, exposición de residuos hidrofóbicos y eventos de unión/desunión de ligandos. En el estudio de interacciones proteína-ligando, la dinámica molecular nos sirve para validar los resultados obtenidos por acoplamiento ó docking, al evaluar si la conformación predicha del complejo se mantiene estable en un entorno acuoso y termodinámicamente realista. Además, permite calcular propiedades relevantes como la desviación cuadrática media (RMSD), la fluctuación media por residuo (RMSF) y el radio de giro (Radius of gyration). Adicionalmente, la dinámica molecular es fundamental para posteriores cálculos de energía libre de unión mediante métodos como MM-PBSA el cual combina los resultados estructurales de la simulación con modelos electrostáticos para estimar cuantitativamente la afinidad del ligando hacia su blanco molecular (96,97).

3.4.3.1 Minimización de energía

Este es el primer paso crítico en las simulaciones moleculares, diseñado para eliminar tensiones internas y arreglos atómicos inestables que puedan surgir durante la preparación de las estructuras. El objetivo es encontrar una conformación de menor energía potencial, reduciendo las fuerzas de repulsión y optimizando los ángulos de enlace, lo que estabiliza la estructura antes de las simulaciones dinámicas (96,97).

3.4.3.2 Equilibración NVT (Ensamble canónico)

En esta etapa, se mantienen constantes el número de partículas (N), el volumen (V) y la temperatura (T) del sistema. Este tipo de ensamble es fundamental para estabilizar el sistema a temperatura fisiológica (309 K), permitiendo que las moléculas se distribuyan alcanzando un equilibrio térmico adecuado antes de las simulaciones (96,97).

3.4.3.3 Equilibración NPT (Ensamble Isotérmico-Isobárico)

Posterior al ensamble NVT, se procede a equilibrar el sistema bajo condiciones de presión y temperatura constantes, manteniendo el número de partículas (N), la presión (P) y la temperatura (T) constantes. Este paso es crucial para simular un entorno biológico más realista, donde las fluctuaciones de volumen son permitidas, ajustando la densidad del sistema para reflejar condiciones fisiológicas (96,97).

3.4.3.4 Cálculo de MM-PBSA

El método MM-PBSA (Molecular Mechanics/Poisson-Boltzmann Surface Area) es una técnica ampliamente utilizada en biofísica computacional para estimar la energía libre de unión entre una enzima y un ligando. Este cálculo se realiza a partir de las trayectorias obtenidas mediante simulaciones de dinámica molecular, proporcionando así una evaluación más realista de la estabilidad y afinidad de los complejos biomoleculares en un entorno simulado que imita condiciones fisiológicas (98). La estimación de la energía libre de unión (ΔG_{bind}) se obtiene como la diferencia entre las energías medias de la proteína-ligando (complejo) y las de sus componentes individuales (proteína libre y ligando libre) a lo largo de la simulación:

$$\Delta G_{\text{bind}} = G_{\text{complejo}} - (G_{\text{proteína}} + G_{\text{ligando}})$$

Cada término energético se descompone en componentes fundamentales.

1. Energía mecánica molecular (MM): incluye energía de enlaces, ángulos, torsiones, así como interacciones de Van der Waals y electrostáticas entre átomos
2. Energía de solvatación polar: calculada mediante la resolución numérica de la ecuación de Poisson-Boltzmann (PB), que modela la interacción electrostática entre las cargas del sistema y el medio circundante.
3. Energía de solvatación apolar: estimada en función del área superficial accesible al solvente, representando contribuciones hidrofóbicas.

En términos sencillos, un valor más negativo de ΔG_{bind} implica una unión más fuerte y específica, lo que sugiere un mayor potencial farmacológico del ligando. Esta evaluación permite discriminar entre múltiples candidatos obtenidos en el docking, priorizando aquellos con mayor estabilidad en condiciones dinámicas simuladas (99).

4 Hipótesis

Existen fitocompuestos naturales que, mediante parámetros computacionales como la afinidad de unión y la estabilidad conformacional, presentan un potencial inhibitorio frente a la enzima convertidora de angiotensina I , comparable o superior al de fármacos sintéticos de referencia (controles positivos).





CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1 Técnicas, instrumentos y materiales

1.1 Técnicas

1.1.1 Obtención y Preparación de Estructuras

1.1.1.1 Preparación de la Enzima

- La estructura inicial de la ECA se descargó desde el Protein Data Bank (PDB) (ID: 1O8A) en formato .pdb, seleccionando una conformación que representara con mayor fidelidad el estado funcional de la proteína en condiciones fisiológicas.
- Para corregir posibles deficiencias estructurales, como regiones faltantes, se utilizó el software MODELLER, que permitió reconstruir segmentos ausentes y generar un modelo más completo y estable, optimizando así la precisión del sistema molecular.

1.1.1.2 Preparación estructural de fitocompuestos

- Las moléculas de interés se obtuvieron desde la base de datos PubChem en formato .sdf, el cual proporciona una representación tridimensional precisa de los ligandos.
- Posteriormente, los archivos fueron convertidos a formato .pdb mediante el uso de OpenBabel.
- Se realizó una depuración de los modelos moleculares generados para cada fitocompuesto y control positivo, eliminando estructuras redundantes o incorrectas mediante el software LigParGen. Los archivos en formato .pdbqt se reconvirtieron a .pdb para poder ser procesados correctamente en las etapas siguientes. Se utilizó la versión nativa del software LigParGen para la generación de archivos topológicos, incluyendo los archivos .gro e .itp, esenciales para la parametrización precisa de los sistemas moleculares en las simulaciones de dinámica molecular. Esta elección evitó la dependencia de servidores externos y garantizó un control más preciso sobre los parámetros utilizados.

- Se empleó el software Gaussian 16 para que las cargas asignadas por LigParGen tras el docking, se optimizaran para las simulaciones. (cargas de Hirshfeld) empleando el funcional CAM-B3LYP en Gaussian 16.

1.1.1.3 Preparación de controles positivos

- Los inhibidores estándar utilizados como controles positivos (Enalaprilato, Captopril y Lisinopril) se descargaron desde DrugBank en formato .sdf, garantizando una representación estructural precisa.
- El resto del procedimiento se llevó a cabo siguiendo el mismo protocolo previamente aplicado para los ligandos de origen vegetal.

1.1.2 Simulación de DM para Proteína APO

- Dado que la ECA contiene un ion zinc esencial para su actividad catalítica, se modificó el campo de fuerza OPLS siguiendo las recomendaciones del manual de GROMACS, para garantizar que el ion metálico fuera reconocido correctamente durante las simulaciones.
- Se realizó una minimización de energía inicial para ajustar las posiciones atómicas y eliminar tensiones internas en la estructura, alcanzando una conformación de menor energía y más cercana al estado nativo de la proteína.
- Se procedió con las etapas de equilibración NVT (número de partículas, volumen y temperatura constantes) y equilibración NPT (número de partículas, presión y temperatura constantes) para estabilizar el sistema a condiciones fisiológicas, simulando de manera precisa el entorno celular.
- A continuación, se llevó a cabo una simulación extendida de dinámica molecular (MD) de 500 nanosegundos (ns) para permitir que la proteína alcanzara un estado de equilibrio estructural, reflejando de forma precisa las interacciones moleculares y la flexibilidad intrínseca de la ECA.
- Finalmente, para facilitar el procesamiento posterior, se purificó la estructura eliminando moléculas de solvente (agua) e iones como Cl⁻ y Na⁺, asegurando que la proteína se encontrara en su forma APO (sin ligandos ni cofactores) antes de las siguientes etapas del análisis (2).

1.1.3 Docking Molecular

- Las proteínas y ligandos fueron procesados con MGLTools para generar los archivos .pdbqt necesarios para el docking, asegurando que las conformaciones moleculares fueran precisas y compatibles.
- Se llevó a cabo un proceso de screening virtual con múltiples fitocompuestos para identificar las conformaciones más favorables en términos de afinidad de unión.
- Se seleccionaron los 10 ligandos con mayor afinidad para análisis detallados mediante simulaciones de dinámica molecular.
- Los 10 ligandos preseleccionados fueron sometidos a una optimización estructural avanzada utilizando Gaussian 16, con el objetivo de refinar sus conformación y ajustar las distribuciones electrónicas antes de ser sometidos a estudios de dinámica molecular (2).

1.1.4 Simulación de DM Enzima-Ligando

- Se llevaron a cabo simulaciones de dinámica molecular para evaluar la estabilidad estructural y conformacional de los complejos proteína-ligando bajo condiciones fisiológicas simuladas.
- Durante estas simulaciones, se analizaron métricas críticas como desplazamiento cuadrático medio (RMSD), fluctuación cuadrática media (RMSF) y radio de giro para caracterizar los cambios conformacionales y la estabilidad global del sistema.
- Las visualizaciones moleculares y representaciones gráficas se realizaron con UCSF ChimeraX, proporcionando imágenes de alta calidad para la interpretación estructural detallada.

1.1.5 Cálculo de Energía Libre de Unión

- Se estimaron las energías libres de unión de los complejos proteína-ligando utilizando el método MMPBSA (Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area), que permite una evaluación precisa de la afinidad de interacción entre las moléculas involucradas. Este enfoque se utiliza para cuantificar la estabilidad de los complejos formados, lo que permite identificar ligandos con alta afinidad sin necesidad de datos experimentales adicionales (2).

1.2 Instrumentos

1.2.1 Software

1.2.1.1 GROMACS 2024.4

Esta versión avanzada de GROMACS (GRONingen MACHine for Chemical Simulations) fue utilizada para ejecutar simulaciones de dinámica molecular (SDM) con alta precisión. Este software de código abierto es ampliamente reconocido por su eficiencia en el modelado de sistemas biomoleculares, permitiendo realizar procesos esenciales como minimización de energía, equilibración NVT y NPT, así como simulaciones de producción prolongadas para estudiar el comportamiento dinámico de complejos proteína-ligando. Además, su arquitectura optimizada para cálculos paralelos maximiza el uso de recursos computacionales, mejorando significativamente los tiempos de simulación (100).

1.2.1.2 UCSF Chimera y ChimeraX

Estos programas fueron utilizados para la visualización tridimensional, análisis estructural y manipulación interactiva de moléculas biológicas. UCSF Chimera y ChimeraX son herramientas fundamentales en bioinformática estructural, proporcionando una amplia gama de funciones para preparar estructuras para simulaciones moleculares y análisis estructurales detallados (101,102). Estas plataformas permitieron explorar estructuras, facilitando la inspección de interacciones proteína-ligando, el análisis de sitios activos y la evaluación de cambios conformacionales, aspectos críticos para identificar posibles errores estructurales antes de las simulaciones. Además, ChimeraX, como la versión

más avanzada, incluyó mejoras significativas en rendimiento gráfico y calidad, permitiendo crear representaciones visuales de alta calidad para publicaciones científicas, incluyendo trayectorias moleculares y análisis dinámicos. Esta herramienta también ofreció integración con tecnologías de realidad virtual, proporcionando capacidades para análisis inmersivos de estructuras complejas, optimizando la interpretación de datos estructurales y mejorando la precisión en los estudios de interacción molecular.

1.2.1.3 **CUDA (Compute Unified Device Architecture)**

Se utilizó la plataforma CUDA de NVIDIA para acelerar los cálculos paralelos en simulaciones moleculares. Esta tecnología aprovecha la arquitectura masivamente paralela de las unidades de procesamiento gráfico (GPUs), lo que incrementa significativamente el rendimiento de programas como GROMACS y Uni-Dock (103).

1.2.1.4 **Uni-Dock**

Este software de alto rendimiento fue usado para realizar estudios de acoplamiento molecular (docking), permitiendo evaluar la afinidad de unión entre ligandos y proteínas mediante análisis exhaustivos de múltiples poses conformacionales. Uni-Dock está diseñado para optimizar el proceso de identificación de candidatos terapéuticos en screenings virtuales a gran escala, mejorando tanto la precisión como la velocidad de cálculo en comparación con métodos tradicionales (104).

1.2.1.5 **gmx_MMPBSA**

Esta herramienta fue utilizada para calcular las energías libres de unión tras las simulaciones de dinámica molecular realizadas en GROMACS. El método combina mecánica molecular (MM) con análisis de superficie de Poisson-Boltzmann (PBSA) para proporcionar una evaluación precisa de la afinidad de unión entre los complejos proteína-ligando, sin requerir datos experimentales adicionales (105,98). Esta aproximación permitió identificar ligandos con alta afinidad de unión, fundamentales para la selección de los mejores candidatos terapéuticos en esta investigación.

1.2.1.6 Gaussian 16 y Gaussian View

Gaussian 16 se utilizó para llevar a cabo cálculos de química cuántica, esenciales para optimizar las geometrías moleculares, predecir energías electrónicas y corregir distribuciones de carga antes de las simulaciones de dinámica molecular (106). GaussView, la interfaz gráfica asociada, facilitó la creación y visualización de estructuras moleculares, así como la preparación de archivos de entrada y análisis de resultados, permitiendo una interpretación más eficiente de los datos computacionales (107). Esta herramienta fue especialmente útil para revisar estructuras complejas y confirmar la orientación adecuada de los ligandos antes de los cálculos de energía libre de unión (108).

1.2.1.7 AmberTools

Este conjunto de herramientas fue utilizado para la preparación de topologías moleculares y la generación de parámetros para sistemas biomoleculares. Incluye utilidades como Antechamber, que facilita la parametrización de ligandos para simulaciones de dinámica molecular, complementando los resultados obtenidos con GROMACS.

1.2.1.8 Molecular Graphics Laboratory Tools (MGLTools)

Se utilizó para la conversión de estructuras a formatos .pdbqt, esenciales para el docking molecular. Además nos permitió la corrección estructural previa a los análisis de docking. El uso de este sistema fue fundamental para minimizar errores estructurales y mejorar la precisión de los cálculos energéticos, asegurando resultados más confiables.

1.2.1.9 LigParGen

Esta herramienta se utilizó para generar automáticamente parámetros topológicos y cargas parciales para los fitocompuestos seleccionados, permitiendo su integración precisa en simulaciones de dinámica molecular con GROMACS. LigParGen, desarrollado por el grupo de Jorgensen en Yale, está diseñado para producir archivos compatibles con el campo de fuerza OPLS-AA, lo que garantiza una representación precisa de las interacciones en sistemas biomoleculares complejos. Esta parametrización precisa fue fundamental para garantizar la estabilidad estructural de los complejos proteína-ligando durante las simulaciones de dinámica molecular, evitando errores en los cálculos de energía libre de unión y permitiendo una evaluación más precisa de las interacciones moleculares (109).

1.2.2 Servidores

1.2.2.1 National Center for Biotechnology Information (NCBI)

Constituyó un recurso clave al proporcionar acceso a múltiples bases de datos biomoleculares fundamentales para este estudio (110). Las siguientes bases de datos específicas fueron empleadas:

1.2.2.1.1 Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB-PDB)

Esta base de datos pública suministró la estructura tridimensional cristalográfica validada de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), identificada con el código PDB 1O8A, utilizada para realizar simulaciones precisas (111,112).

1.2.2.1.2 PubChem

Plataforma que permitió acceder a datos químicos validados sobre fitocompuestos naturales, incluyendo representaciones moleculares tridimensionales y propiedades fisicoquímicas. Estas estructuras fueron esenciales para las evaluaciones computacionales de su potencial como inhibidores de la ECA (113).

1.2.2.2 DrugBank

Es una base de datos integral que combina información detallada sobre fármacos y sus blancos moleculares, incluyendo estructuras químicas, datos farmacocinéticos, mecanismos de acción y perfiles de interacción fármaco-proteína. Esta herramienta se utilizó para identificar los controles positivos utilizados en los análisis comparativos de acoplamiento molecular y dinámica molecular, tales como enalaprilato, lisinopril y captopril. Estos compuestos fueron seleccionados debido a su conocida actividad inhibidora sobre la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y su amplia validación clínica como fármacos antihipertensivos (114)

1.2.2.3 UniProt

Universal Protein Resource es una base de datos de acceso libre que proporciona información completa y curada sobre secuencias de proteínas y sus anotaciones funcionales. Fue utilizada para obtener las características funcionales y la secuencia primaria de la enzima ECA, complementando así los datos estructurales obtenidos desde RCSB-PDB. Además, permitirá corroborar la ausencia de mutaciones relevantes en la secuencia de la estructura 1O8A, garantizando así la validez del modelo estructural empleado (115).

1.2.2.4 APBSA (Adaptive Poisson–Boltzmann Solver)

Es un paquete computacional que fue usado para resolver numéricamente las ecuaciones de Poisson–Boltzmann en ensamblajes biomoleculares de gran tamaño (116). Generó mapas de potencial electrostático permitiendo así identificar regiones de unión preferenciales para iones, ligandos o cofactores. Además, calculó la energía de solvatación, proporcionando estimaciones cuantitativas de solubilidad, estabilidad conformacional y afinidad de unión en condiciones fisiológicas.

1.3 Materiales

El entorno computacional utilizado en este trabajo consistió en un sistema operativo Ubuntu 24.04.2 LTS (64 bits), ejecutado sobre una estación de trabajo con un procesador AMD Ryzen 9 5950X de 32 hilos a 5.08 GHz, 64 GB de memoria RAM y dos unidades gráficas NVIDIA (GeForce RTX 4070 TI SUPER y RTX 3080 TI). El sistema operó con el kernel Linux 6.11.0-21-generic y la shell Bash 5.2.21. Se dispuso de aproximadamente 23 terabytes de almacenamiento, distribuidos entre unidades de estado sólido y discos duros de alta capacidad, lo que permitió manejar eficientemente grandes volúmenes de datos (115).

2 Campo de verificación

2.1 Ubicación Espacial

Centro de Investigación en Ingeniería Molecular (CIIM) – UCSM, Arequipa, Perú.

2.2 Ubicación Temporal

Periodo comprendido entre el segundo semestre académico del año 2024 y el primer semestre del 2025.

2.3 Unidades de Estudio

Complejos ECA-ligando.

3 Criterios de selección

3.1 Inclusión de Ligandos

- Fitocompuestos documentados en PubChem
- Origen vegetal
- Estructura 3D disponible

3.2 Exclusión de Ligandos

- Estructura incompleta
- Origen no vegetal
- Sin referencias científicas verificables

3.3 Inclusión de ECA

- Estructura tridimensional con sitio activo completo
- Conformación activa funcional

3.4 Exclusión de ECA

- Estructuras truncadas
- Mutaciones en sitio activo

4 Estrategia de recolección de datos

4.1 Organización

- Se descargó la estructura de la enzima convertidora de angiotensina 1 (ECA) desde la base de datos Protein Data Bank (PDB), seleccionando conformaciones representativas del estado catalíticamente activo.
- Las regiones faltantes fueron corregidas mediante el software MODELLER, optimizando la estructura para simulaciones posteriores.
- Los fitocompuestos seleccionados fueron obtenidos desde PubChem, convertidos con Open Babel, y optimizados estructuralmente con Gaussian 16.
- Los inhibidores estándar (captopril, enalaprilato, lisinopril) se descargaron desde DrugBank y fueron tratados bajo el mismo protocolo.
- Se realizó el acoplamiento molecular con AutoDock Vina, utilizando archivos preparados con MGLTools y seleccionando las mejores poses para simulaciones avanzadas.
- Las simulaciones de dinámica molecular se llevaron a cabo en GROMACS v2023, bajo condiciones fisiológicas, utilizando el campo de fuerza OPLS-AA.
- Se calculó la energía libre de unión mediante el método MM-PBSA, empleando el módulo gmx_MMPBSA.
- La calidad estructural y las visualizaciones fueron generadas en UCSF ChimeraX (2).

4.2 Recursos

4.2.1 Humanos

- Investigadora responsable
- Asesores

4.2.2 Materiales

- Workstations
- Software especializado

4.2.3 Institucionales

- CIIM - UCSM

4.2.4 Financieros

- Autofinanciado

4.3 Validación de Instrumentos

No se requirió validación de instrumentos, al tratarse de una simulación computacional (2).

4.4 Aspectos Éticos

Este estudio no implicó el uso de sujetos humanos, animales ni muestras biológicas, por lo que no requirió aprobación por comité de ética (2).



CAPÍTULO III
RESULTADOS

1 Resultados docking molecular

Luego de realizar el análisis de acoplamiento molecular entre la ECA I y múltiples fitocompuestos seleccionados, se identificaron los 10 ligandos con mayor afinidad teórica, cuyos resultados se visualizan en la tabla 5. Estos fueron seleccionados en función de sus valores de energía de unión más negativos, lo cual sugiere una mayor estabilidad potencial del complejo proteína-ligando. El resto de los valores obtenidos para los demás compuestos evaluados se encuentra disponible en el Anexo 1, donde se detallan sus respectivas energías de unión

Entre los compuestos seleccionados, destacó el valor de energía de unión más negativo de RU7, con -10.343 kcal/mol, lo que sugiere un potencial de interacción particularmente estable con la ECA I en comparación con el resto de las moléculas. Le siguieron RU3, SPI y CIT, todos ellos con energías de unión cercanas a -9 kcal/mol o superiores, indicando una posible buena afinidad inicial. En el rango de -8.2 a -8.9 kcal/mol se ubicaron otros fitocompuestos como GOG, GOT, STG, CAM y SIT. Estos datos sugieren que estos compuestos también podrían tener un grado moderado de afinidad por la enzima, aunque inferior al de los primeros ligandos mencionados. El compuesto con menor afinidad en este análisis fue el CLO, con un valor de -8.165 kcal/mol, situándose en el límite inferior del grupo de fitocompuestos evaluados.

Tabla 5
Docking de ligandos de origen vegetal con ECA I

| Fitocompuesto | Docking (kcal/mol) |
|---------------------------------|-------------------------------|
| Quercetina 7-o-rutinósido (RU7) | -10.343 |
| Rutina (RU3) | -9.934 |
| Espinasterol (SPI) | -9.001 |
| Hibiscitrina (CIT) | -8.981 |
| Gossipetina-3-glucósido (GOG) | -8.834 |
| Gossipetina-8-glucósido (GOT) | -8.63 |
| Estigmasterol (STG) | -8.594 |
| Campesterol (CAM) | -8.264 |
| Beta-sitosterol (SIT) | -8.255 |
| Ácido clorógeno (CLO) | -8.165 |

En la tabla 6 los fármacos de referencia utilizados como controles positivos lisinopril, enalaprilato y captopril presentaron valores de *docking* menos negativos, de -7.345, -7.319 y -5.114 kcal/mol respectivamente. Es relevante mencionar que en el caso de enalapril se utilizó su forma activa, enalaprilato, dado que el enalapril es un profármaco que requiere metabolismo hepático para adquirir actividad.

Tabla 6**Docking de controles positivos con ECA I**

| Fármaco control | Docking (kcal/mol) |
|------------------------|---------------------------|
| Lisinopril (LIS) | -7.345 |
| Enalaprilato (ENA) | -7.319 |
| Captopril (CAP) | -5.114 |

La menor magnitud en la energía de unión de estos fármacos en comparación con ciertos fitocompuestos no debe interpretarse como una superioridad directa de estos últimos, ya que el *docking* por sí solo carece de consideraciones dinámicas que afecten directamente la estabilidad y la afinidad real del complejo. Por lo tanto, este método predice la orientación y posición más probable de un ligando en el sitio activo, pero no incluye la flexibilidad proteica completa ni la dinámica conformacional que caracteriza al entorno celular real.

2 Resultados dinámica molecular

2.1 Estructuras moleculares

2.1.1 Complejos Fitocompuestos-Proteína

A partir del análisis estructural de los 10 complejos formados entre la enzima convertidora de angiotensina I (ECA I) y los ligandos naturales seleccionados, se observó de manera consistente que todos los ligandos se posicionaron de forma profunda y estable dentro del canal catalítico de la enzima. La orientación adoptada por cada ligando fue compatible con la geometría tridimensional del surco activo, lo cual sugiere una alta afinidad topológica. En todos los casos, los ligandos se localizaron en estrecha proximidad al centro metálico (Zn^{2+}), lo que permite inferir un posible efecto inhibitorio directo mediante interacción con el sitio catalítico. Además, durante las simulaciones de dinámica molecular, se verificó que la estructura terciaria de la ECA se mantuvo estable en todos los complejos, sin evidencia de expansión, colapso ni alteraciones significativas en su plegamiento nativo. Dado que los diez complejos compartieron un comportamiento estructural altamente similar (tanto en su modo de unión como en la preservación de la arquitectura proteica), en este apartado se presentan únicamente las representaciones 3D de los tres complejos con mayor afinidad energética, seleccionados a partir del análisis de la energía libre de unión (MM-PBSA) que se explicará más adelante en este capítulo. Las imágenes correspondientes a los demás complejos han sido incluidas en el Anexo 2, dado que presentan características estructurales análogas que refuerzan, lo descrito aquí.

Figura 11

Representación estructural del complejo Gossipetina 3 glucósido–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando GOG acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha).

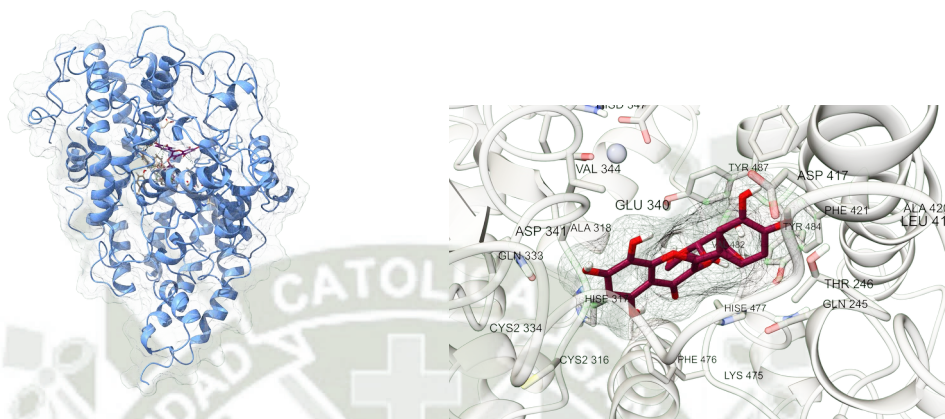


Figura 12

Representación estructural del complejo Quercetina 7-O- Rutinósido–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la proteína con el ligando RU7 acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)

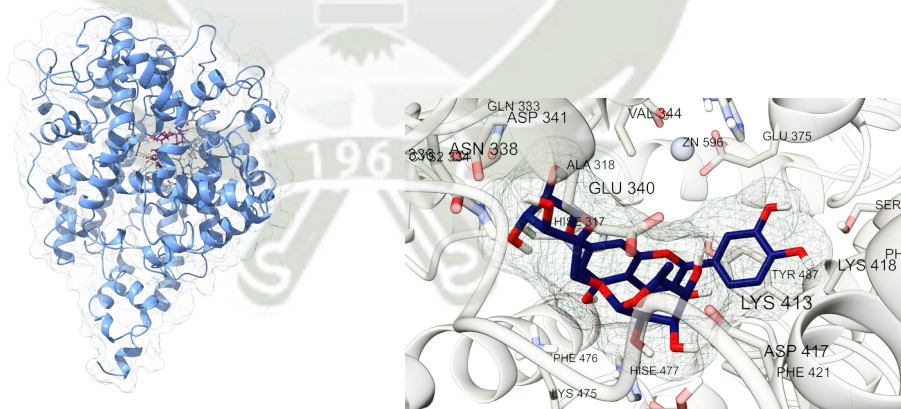
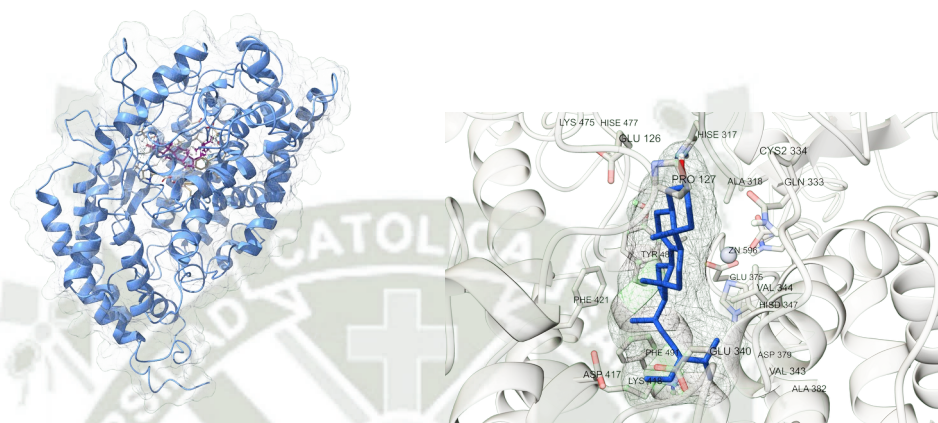


Figura 13

Representación estructural del complejo Espinasterol–ACE I tras dinámica molecular. Vista global de la enzima con el ligando SPI acoplado (izquierda) y ampliación del sitio activo con detalle del ligando anclado (derecha)



2.1.2 Complejos Fármaco-Proteína

Tras una revisión de los complejos formados entre ACE I y los fármacos control captopril, lisinopril y enalaprilato se constató que los tres compuestos se alojaron de manera profunda dentro de la zona catalítica de la enzima. En todos los casos, la orientación adoptada por los fármacos resultó coherente con la forma interna del sitio activo, lo que refleja una notable afinidad. Asimismo, los ligandos se ubicaron en proximidad inmediata al ion Zn, lo que explica su efecto inhibitor. Por otro lado, la conformación terciaria de la enzima se conservó intacta en todos los complejos analizados, sin manifestarse signos de expansión estructural, colapso ni alteraciones relevantes en su plegamiento nativo.

Figura 14

**Representación estructural del complejo Captopril–ACE I tras dinámica molecular.
Vista global de la enzima con el ligando CAP acoplado (izquierda) y ampliación del sitio
activo con detalle del ligando anclado (derecha).**

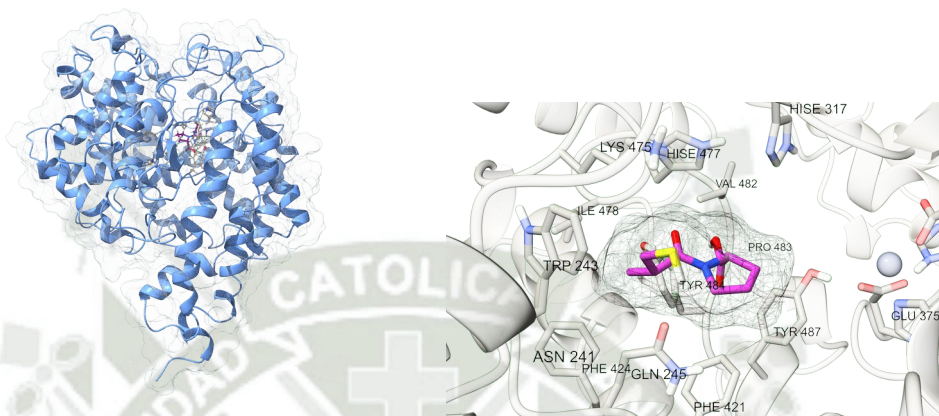


Figura 15

**Representación estructural del complejo Enalaprilato–ACE I tras dinámica molecular.
Vista global de la enzima con el ligando ENA acoplado (izquierda) y ampliación del sitio
activo con detalle del ligando anclado (derecha).**

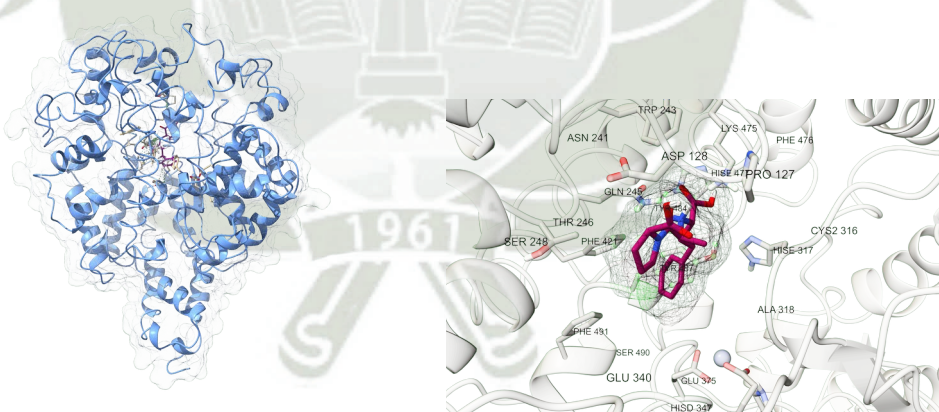
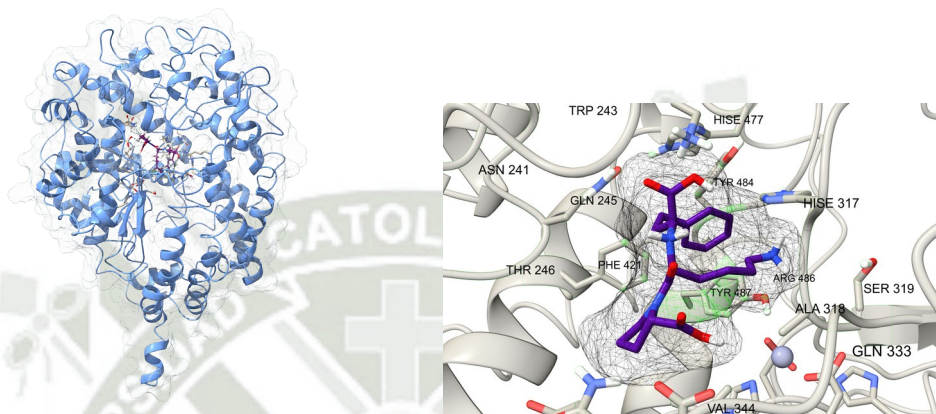


Figura 16

**Representación estructural del complejo Lisinopril–ACE I tras dinámica molecular.
Vista global de la enzima con el ligando LIS acoplado (izquierda) y ampliación del sitio
activo con detalle del ligando anclado (derecha).**

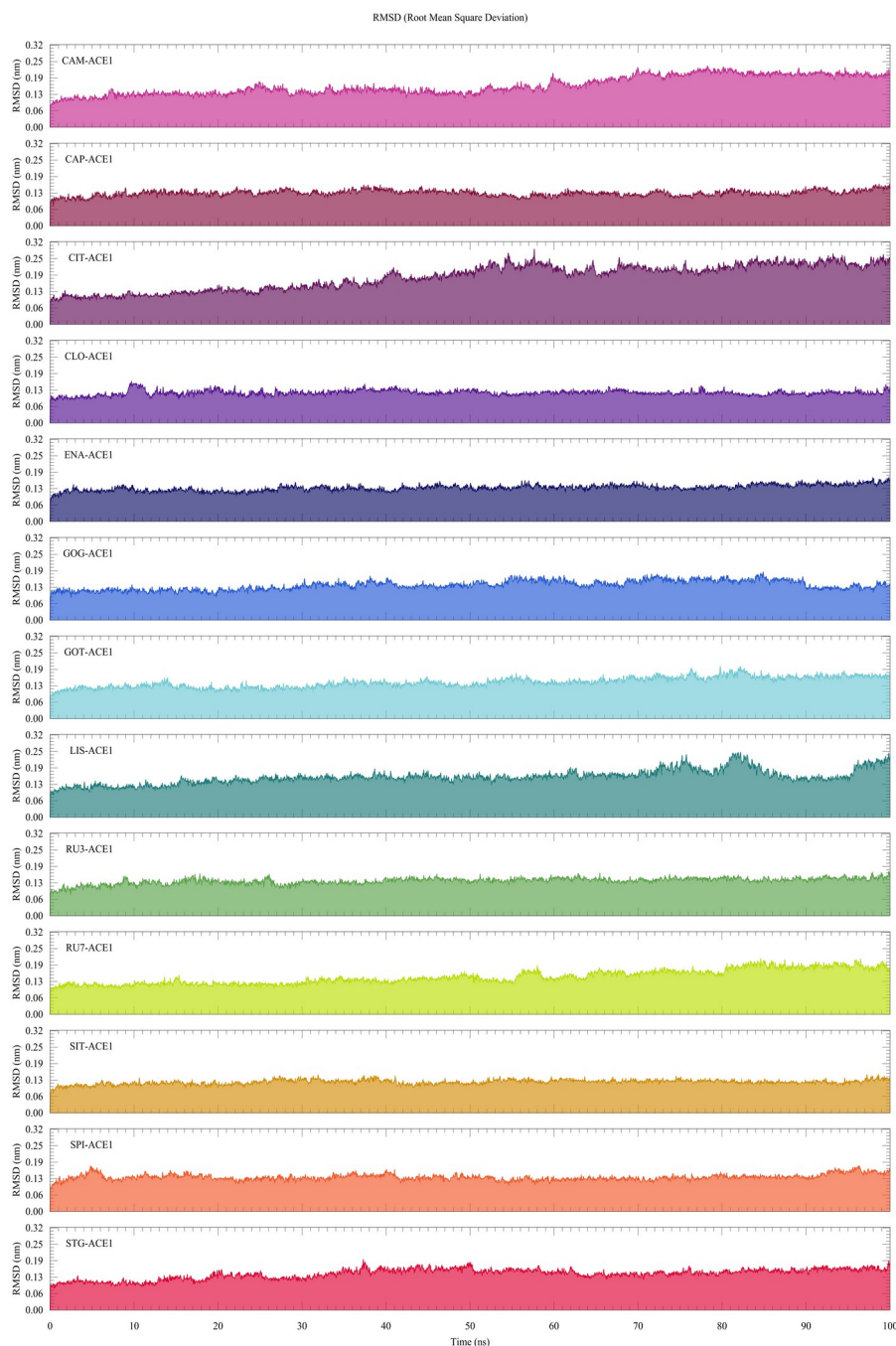


2.2 Estabilidad y flexibilidad del complejo

2.2.1 Análisis de RMSD

El análisis del *Root Mean Square Deviation* (RMSD) permitió evaluar la estabilidad conformacional de los complejos proteína–ligando a lo largo de una simulación de dinámica molecular de 100 ns. La evaluación de la evolución del RMSD durante los 100 ns de simulación permitió determinar si los complejos alcanzaron una conformación estable y sostenida, lo cual constituye un criterio esencial para inferir la viabilidad estructural de un ligando como inhibidor potencial. En este estudio, se consideró que un complejo había alcanzado el equilibrio estructural cuando el RMSD mostró una meseta prolongada, es decir, una fase donde las fluctuaciones se mantuvieron dentro de un rango estrecho y constante. Se estableció como umbral de estabilidad una variación inferior a 0.2 nm, criterio que fue aplicado de forma uniforme para todos los sistemas analizados.

Figura 17
Comportamiento del RMSD de la enzima en complejos formados con diferentes compuestos.



El análisis comparativo de las trayectorias de RMSD correspondientes a los trece complejos formados entre la enzima convertidora de angiotensina 1 (ACE1) y los distintos ligandos reveló un comportamiento estructural predominantemente estable a lo largo de los 100 ns de simulación. Los fármacos de referencia

captopril (CAP), enalaprilato (ENA) y lisinopril (LIS) exhibieron trayectorias de RMSD consistentes, con valores comprendidos entre 0.11 y 0.17 nm, caracterizados por mesetas definidas y ausencia de fluctuaciones sostenidas. Estos resultados confirmaron la estabilidad esperada de los controles positivos, reflejando una buena adaptación conformacional al sitio catalítico de la enzima. En cuanto a los fitocompuestos estudiados, la mayoría presentó perfiles de RMSD altamente comparables con los fármacos estándar. Compuestos como SIT, SPI, RU3, GOG, GOT, CLO, RU7 y STG mostraron trayectorias contenidas, con variaciones entre 0.08 y 0.18 nm, mesetas claramente visibles y ausencia de picos abruptos, lo que evidencia una conservación estructural sostenida. En el caso de CAM y CIT, si bien se identificaron ligeras tendencias ascendentes hacia el final de la simulación, la magnitud de dichas variaciones permaneció dentro del rango considerado estable, sin evidenciar procesos de desorganización significativa. Estos resultados sugieren la conservación de la conformación global durante 100 ns de simulación lo que refuerza el potencial de varios compuestos como candidatos inhibitorios viables, desde el punto de vista de la estabilidad conformacional.

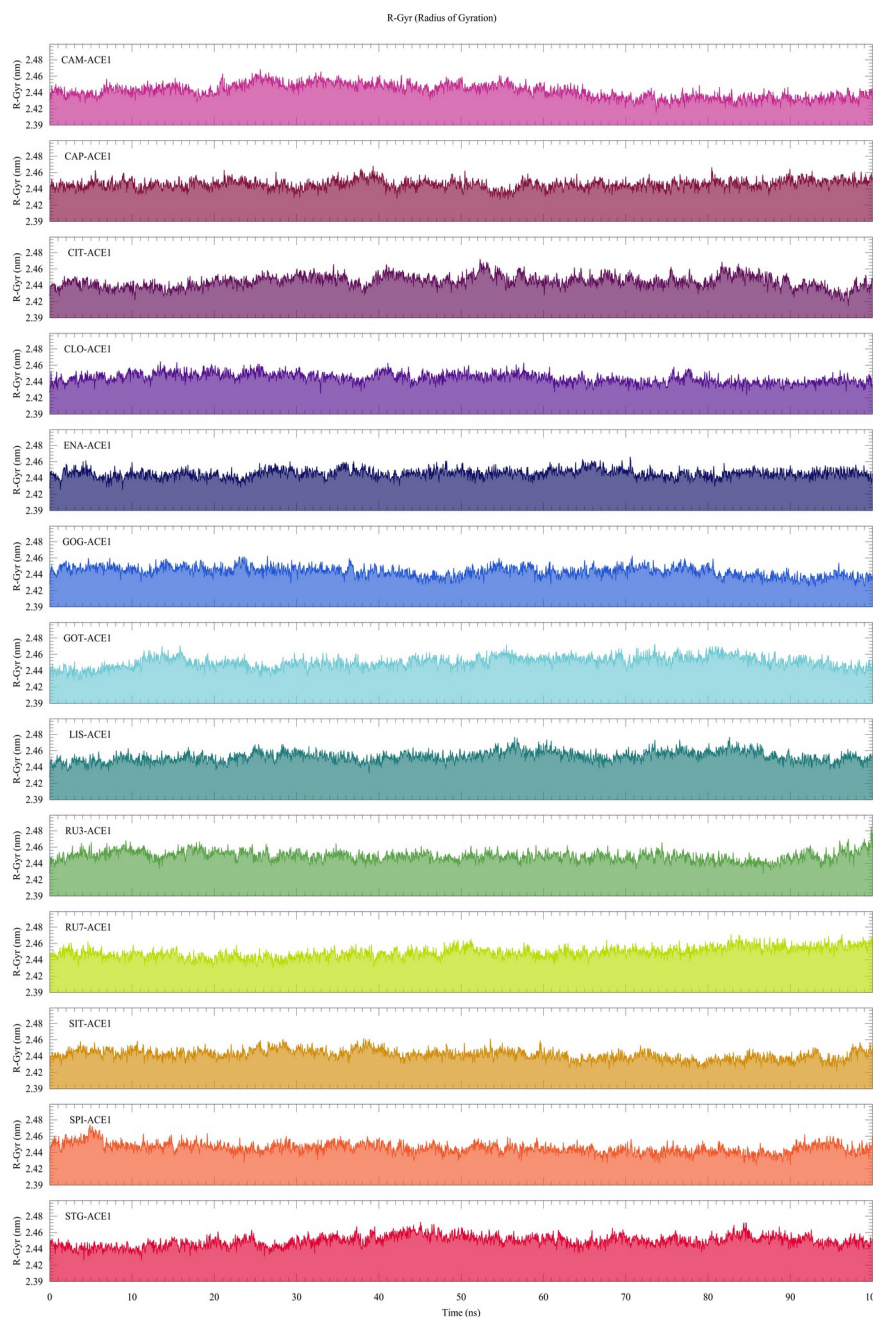
2.2.2 Radio de Giro

El análisis del *Radio de Giro* (Rg) proporciona una visión clara sobre el estado de compactación de los complejos proteína–ligando, lo cual se relaciona directamente con procesos de naturalización o desnaturalización estructural. Una disminución progresiva del Rg suele indicar una tendencia hacia una forma compacta y organizada. Por el contrario, un incremento sostenido o fluctuaciones amplias en los valores de Rg pueden evidenciar un proceso de desnaturalización, caracterizado por la pérdida de compactación y el posible deterioro de la estructura secundaria. Durante la simulación de 100 ns, se utilizó el Rg como criterio para evaluar la integridad estructural de la proteína al interactuar con los ligandos. Se consideró que una estructura mantenía su estabilidad cuando el Rg presentaba una meseta sostenida, es decir, un intervalo prolongado de tiempo en el que los valores se mantuvieron dentro de un rango estrecho y sin mostrar tendencia creciente. Para este estudio, se definió como umbral de estabilidad estructural una variación inferior a ± 0.05 nm, criterio más estricto que permitió

identificar con mayor precisión los complejos que conservaron su conformación compacta a lo largo del tiempo.

Figura 18

Comportamiento del radio de giro (R_g) de la enzima ECA I en complejos formados con diferentes compuestos.



En todos los casos, los valores de R_g oscilaron dentro de un rango estrecho, comprendido entre 2.41 y 2.46 nm, y sin superar el umbral de variación de ± 0.05 nm definido como criterio de estabilidad. Este comportamiento fue consistente

con la presencia de mesetas prolongadas en la mayoría de las trayectorias, sin evidencia de picos sostenidos ni expansiones progresivas que pudieran indicar procesos de desorganización conformacional. Los complejos formados con los fármacos de referencia CAP, ENA y LIS presentaron perfiles de Rg altamente estables, con oscilaciones mínimas a lo largo de toda la simulación. De forma equivalente, los fitocompuestos mostraron mantener a la ECA I de forma compacta mediante la representación de fluctuaciones contenidas. En general, los resultados de Rg evidencian que todos los sistemas conservaron su integridad conformacional. La interpretación de los perfiles de Rg se vio reforzada por su correlación con los resultados obtenidos mediante RMSD. En efecto, los complejos que mostraron mesetas estables en Rg coincidieron con trayectorias de RMSD contenidas, sin fluctuaciones significativas ni reorganizaciones estructurales. Esta convergencia entre ambas métricas estructurales confirma que los ligandos analizados no alteraron la compactación ni la conformación global de la enzima.

2.2.3 Fluctuaciones RMSF

El análisis del *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF) permitió caracterizar la flexibilidad de los residuos de la enzima en presencia de los distintos ligandos evaluados. Esta herramienta resultó esencial para identificar qué regiones de la ECA I experimentaron mayor o menor movilidad a lo largo del tiempo de simulación. En particular, los residuos con valores bajos de RMSF fueron interpretados como segmentos con una fluctuación reducida, lo que sugiere una conformación relativamente estable en esas zonas. Al correlacionar estos resultados con los mapas de interacciones moleculares, se pudo verificar si los residuos involucrados en el anclaje del ligando conservaron una disposición estructural constante, lo cual constituye un indicio de una interacción persistente. En contraste, los picos elevados en la curva de RMSF, podrían reflejar una unión menos estable o transitoria, asociada a una mayor flexibilidad estructural local.

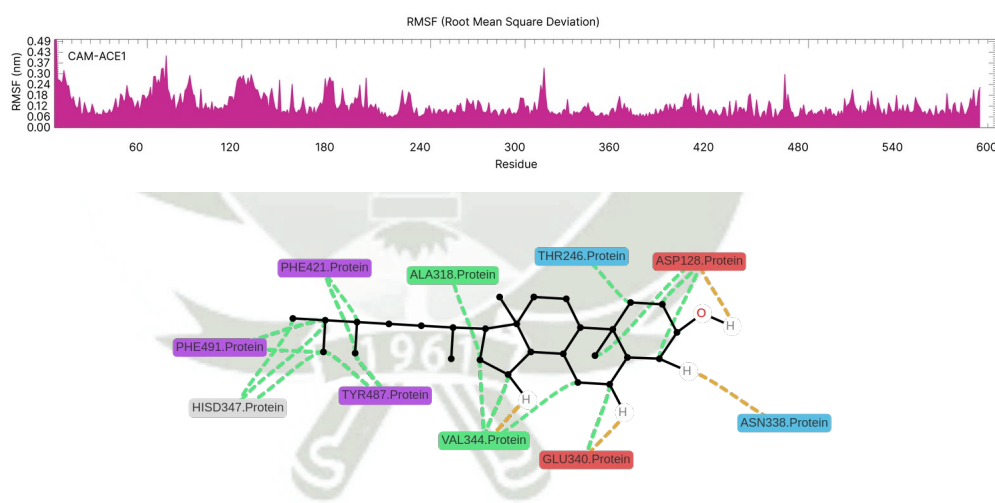
2.2.4 RMSF Fitocompuestos-ACE I

2.2.4.1 RMSF CAM-ECA I

El perfil de fluctuación del complejo CAM-ECA I mostró un patrón mixto en cuanto a estabilidad conformacional. Se identificó un extenso tramo comprendido aproximadamente entre los residuos **318 y 491** exhibió valores de RMSF consistentemente bajos, en su mayoría inferiores a 0.15 nm, lo que indica una alta rigidez local. Este rango abarca la mayoría de los residuos implicados en las interacciones clave con el ligando, según el análisis 2D, incluyendo a ALA328, GLU340, HISD347, VAL344, PHE421, TYR487 y PHE491.

Figura 19

Análisis del complejo CAM-ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre campesterol y residuos de la enzima ECA.

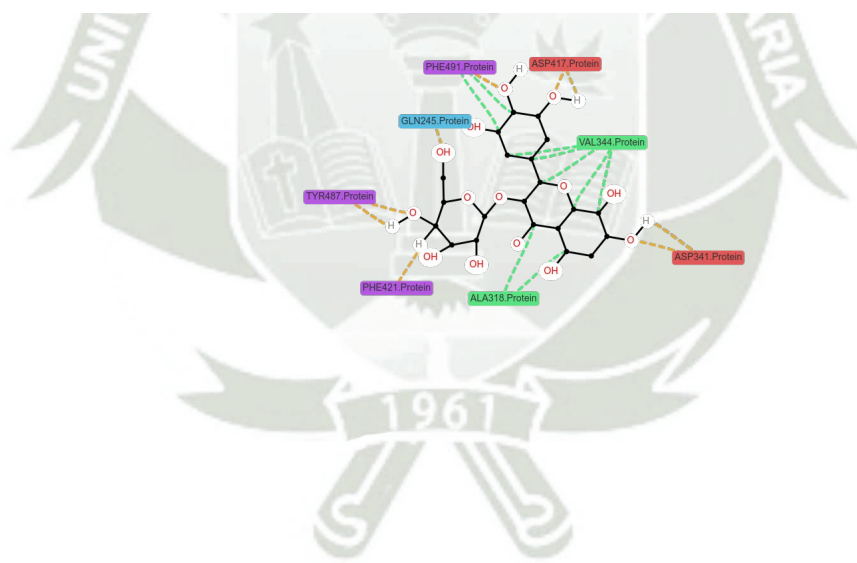
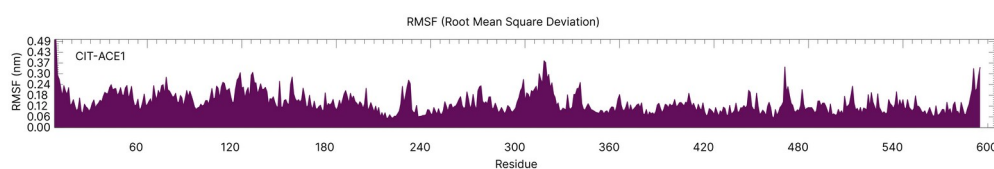


2.2.4.2 RMSF CIT–ECA I

El perfil de fluctuación del complejo CIT–ECA I mostró que entre los residuos 318 y 491 la mayoría de valores de RMSF se mantuvieron en su mayoría por debajo de 0.15 nm. Dentro de este segmento se localizaron prácticamente todos los residuos clave identificados en el mapa 2D de interacciones: ALA318, ASP341, VAL344, ASP417, PHE421, TYR487 y PHE491.

Figura 20

Análisis del complejo CIT–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre hibiscitrina y residuos de la ECA.

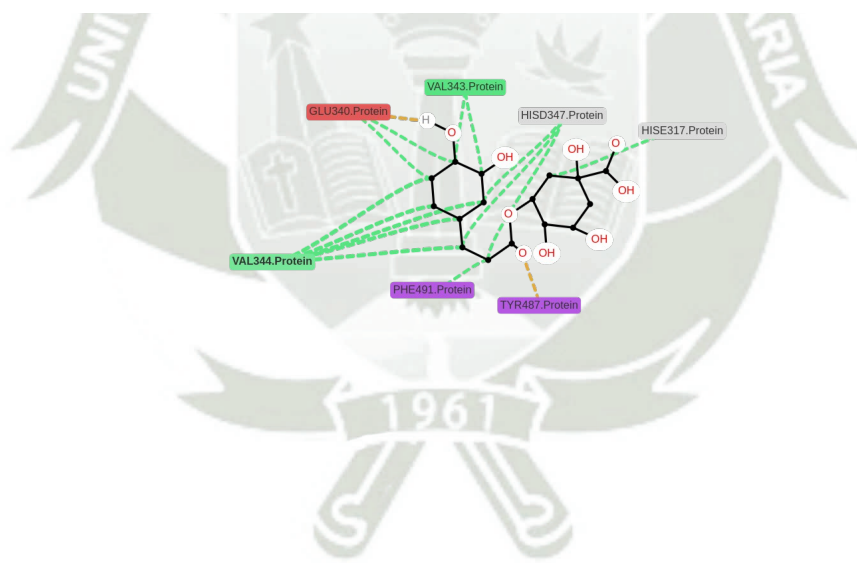
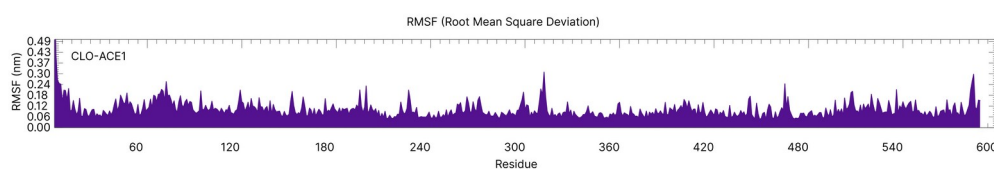


2.2.4.3 RMSF CLO–ECA I

Se observó un extenso segmento, entre los residuos 317 y 491, con valores de RMSF predominantemente entre 0.10 y 0.15 nm, lo cual corresponde a una región de rigidez moderada. Dentro de este rango se ubicaron la mayoría de los residuos identificados como puntos de contacto con el ligando: HISE317, GLU340, VAL343, VAL344, HISD347, TYR487 y PHE491.

Figura 21

Análisis del complejo CLO–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre ácido clorogénico y residuos del sitio activo ECA.

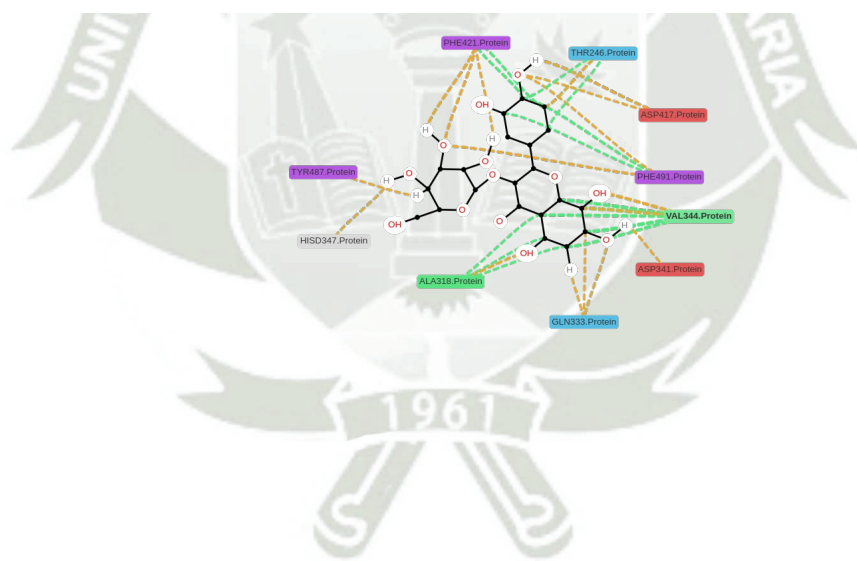
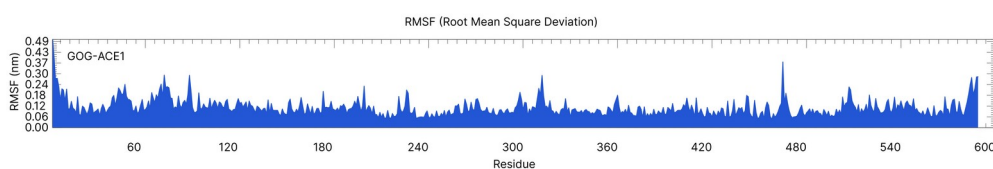


2.2.4.4 RMSF GOG-ECA I

Se vio un tramo, entre los residuos 318 y 491, con valores por debajo de 0.15 nm. Dentro de este rango se localizaron los residuos ALA318, GLN333, ASP341, VAL344, HISD347, ASP417, PHE421, TYR487 y PHE491, todos ellos involucrados en interacciones clave según el análisis 2D. La mayoría de estos residuos coincidieron con valles pronunciados en el perfil de fluctuación.

Figura 22

Análisis del complejo GOG-ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre gossipetina 3 glucósido y residuos de la enzima ECA.

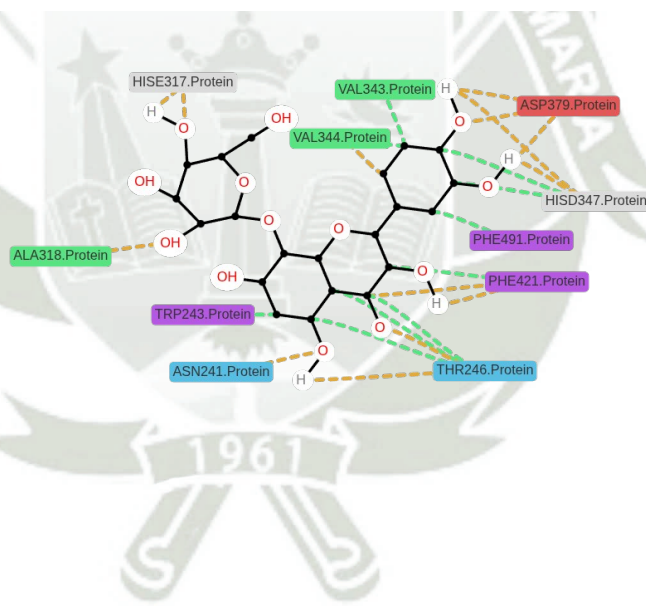
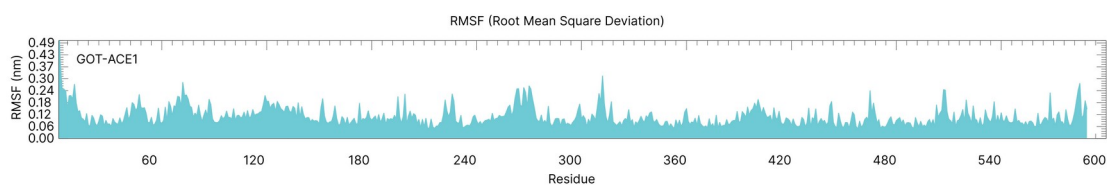


2.2.4.5 RMSF GOT-ECA I

Se observó un tramo estable entre los residuos 318 y 491, con valores de RMSF por debajo de 0.15 nm. En este intervalo se localizaron ALA318, HISE317, VAL343, VAL344, HISE347, ASP379, PHE421, PHE491.

Figura 23

Análisis del complejo GOT-ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre Gossipetina 8 glucósido y residuos de la enzima ECA

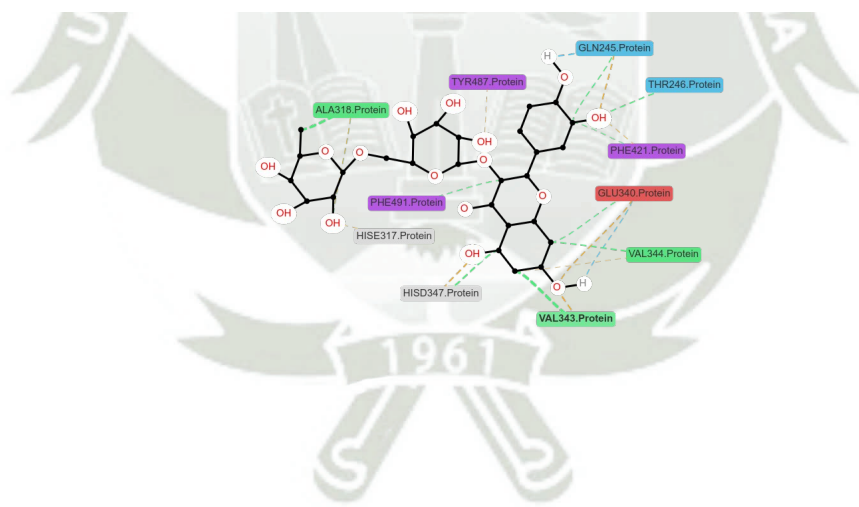
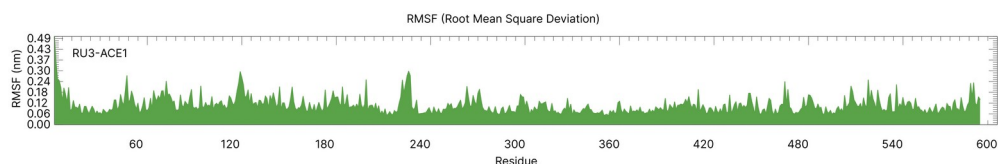


2.2.4.6 RMSF RU3–ECA I

Entre los residuos 318 y 491 se identificó un tramo con valores de RMSF consistentemente bajos, en torno a 0.10 nm. En este intervalo se ubicaron ALA318, GLU340, HISD347, VAL343, VAL344, PHE421, TYR487 y PHE491. La mayoría de estos residuos se alineó con regiones de mínima fluctuación, lo que sugiere un entorno estructuralmente restringido y estabilizado.

Figura 24

Análisis del complejo RU3–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre rutina y residuos de la enzima ECA

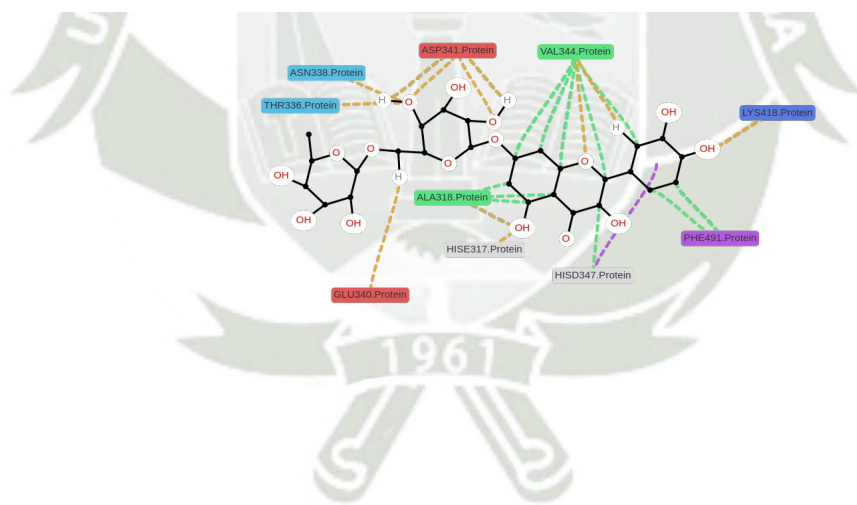
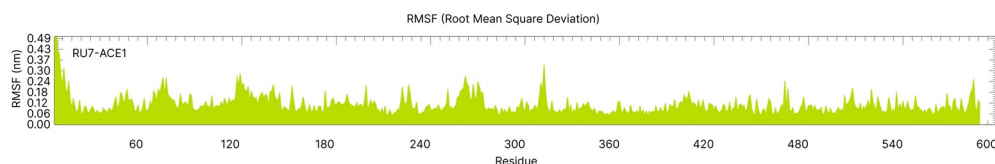


2.2.4.7 RMSF RU7–ECA I

Se identificó un segmento comprendido entre los residuos 318 y 491 con valores de RMSF predominantemente por debajo de 0.15 nm. En este tramo se encontraron ALA318, THR336, ASN338, ASP341, GLU340, VAL343, VAL344, HISD347, LYS418 y PHE491, todos ellos involucrados en interacciones relevantes según el análisis 2D. La mayoría de estos residuos se correspondió con zonas de menor oscilación.

Figura 25

Análisis del complejo RU7–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre quercetina 7 O rutinósido y residuos del sitio activo de la enzima ECA.

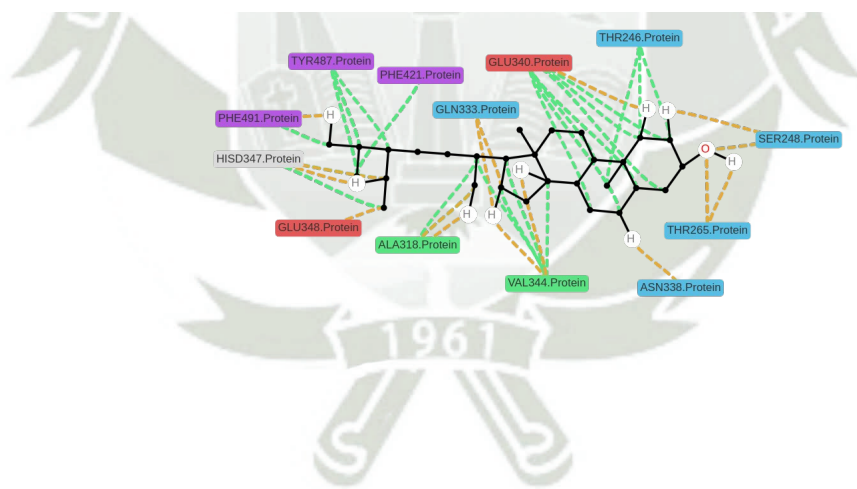
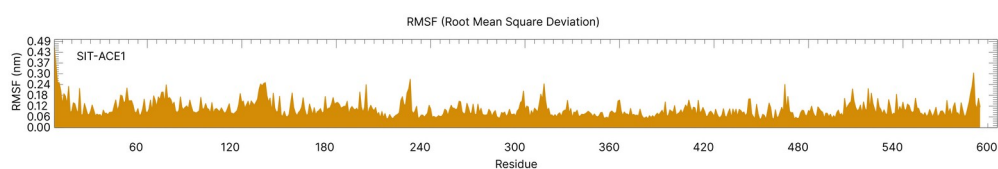


2.2.4.8 RMSF SIT-ECA I

Se evidenció un segmento predominantemente rígido entre los residuos 318 y 491, con valores de RMSF por debajo de 0.15 nm. Este tramo incluyó a ALA318, GLN333, ASN338, GLU340, GLU348, HISD347, VAL344, PHE421, TYR487 y PHE491. La mayoría de estos residuos se ubicó en zonas de baja fluctuación.

Figura 26

Análisis del complejo SIT-ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre sitosterol y residuos del sitio activo de la enzima ACE1.

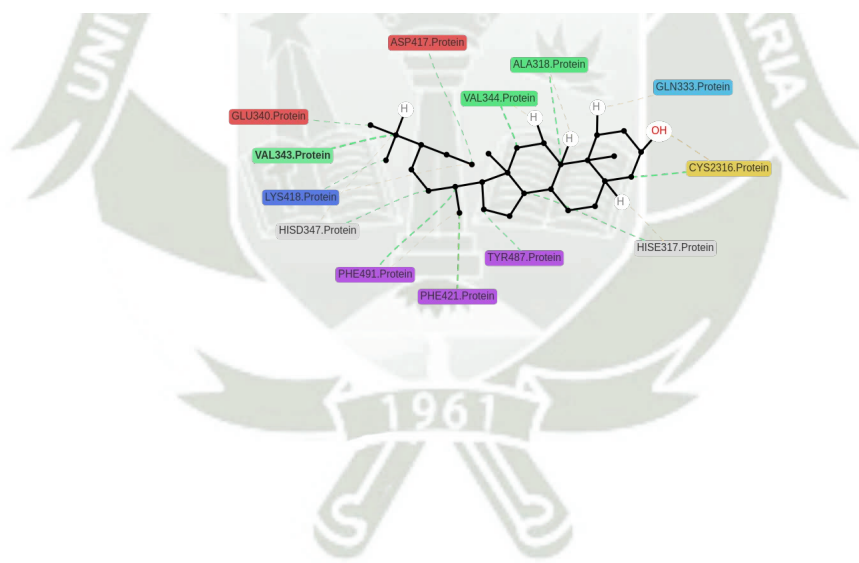
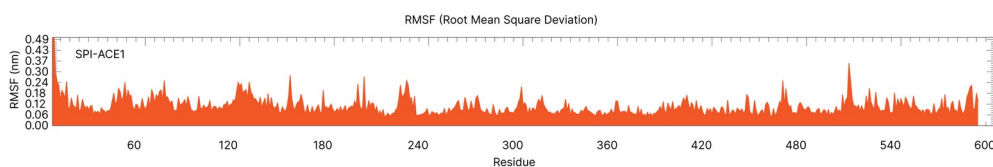


2.2.4.9 RMSF SPI-ECA I

El segmento comprendido entre los residuos 318 y 491 mostró valores de RMSF mayoritariamente inferiores a 0.15 nm. En ese tramo se encontraron ALA318, HISE317, GLN333, GLU340, VAL343, VAL344, HISD347, ASP417, PHE421, TYR487 y PHE491. Este conjunto de residuos se alineó con zonas de baja fluctuación.

Figura 27

Análisis del complejo SPI-ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre espinaesterol y residuos del sitio activo de la enzima ECA.

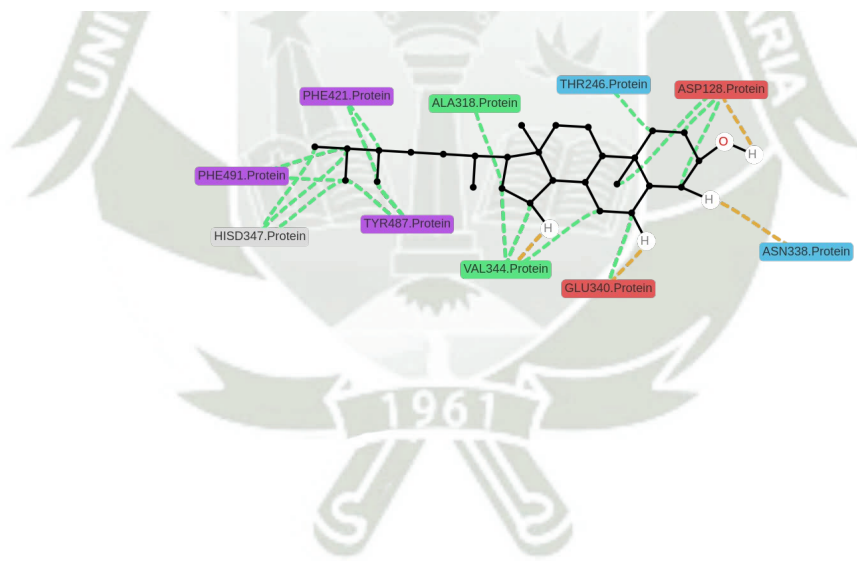
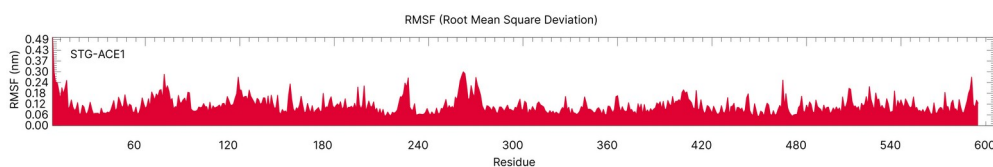


2.2.4.10 RMSF STG–ECA I

En el intervalo comprendido entre los residuos 318 y 491 se observaron valores de RMSF por debajo de 0.15 nm de forma predominante. Dentro de este tramo se localizaron ALA318, HISE317, GLN333, GLU340, VAL343, VAL344, HISD347, ASP341, LYS418, PHE421, TYR487 y PHE491. La mayoría de estos residuos se situó en zonas de mínima fluctuación.

Figura 28

Análisis del complejo STG–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre estigmasterol y residuos del sitio activo de la enzima ACE1.



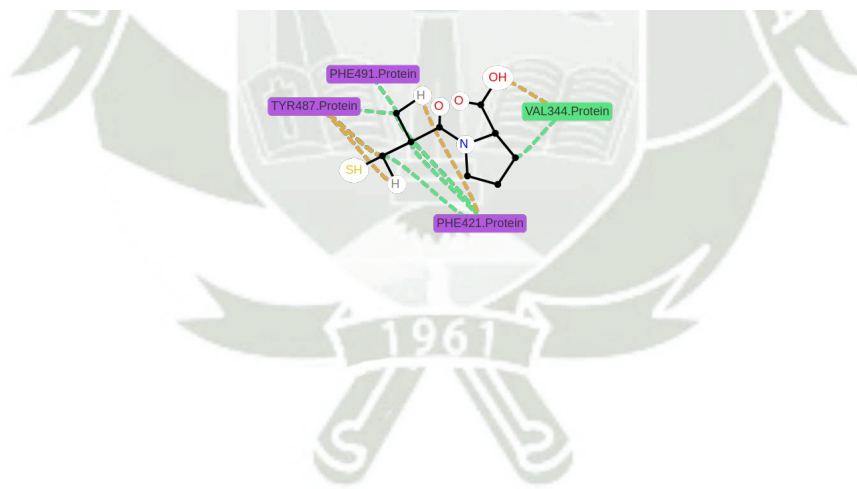
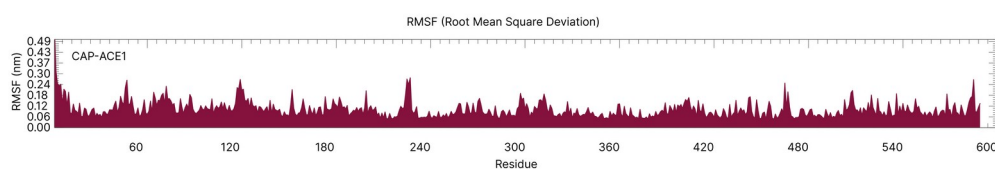
2.2.5 RMSF Controles-ACE I

2.2.5.1 RMSF CAP-ECA I

En el tramo comprendido entre los residuos 344 y 491 se observaron valores de RMSF consistentemente bajos, en torno a 0.10 nm. En este intervalo se localizaron VAL344, PHE421, TYR487 y PHE491. Estos residuos coincidieron con regiones de escasa fluctuación, lo que favoreció la estabilización del complejo.

Figura 29

Análisis del complejo CAP-ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre captopril y residuos de la enzima.

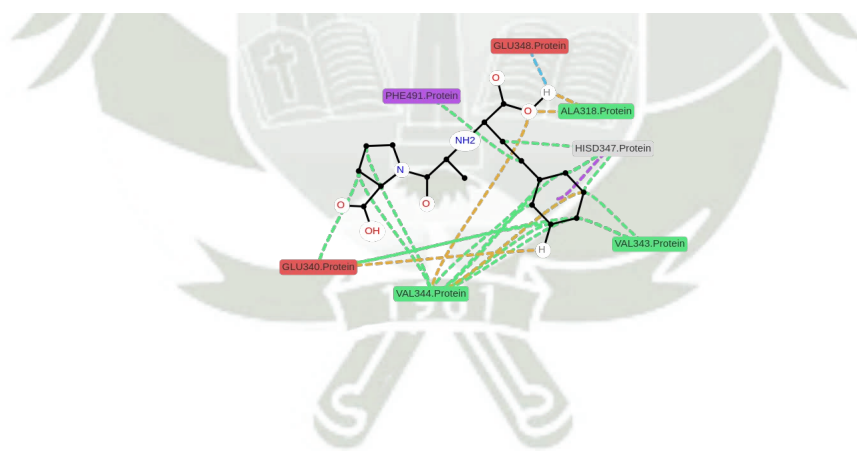
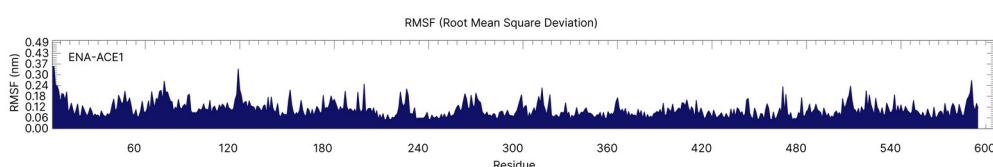


2.2.5.2 RMSF ENA–ECA I

Se identificó un segmento estructuralmente estable entre los residuos 318 y 491, con valores de RMSF predominantemente inferiores a 0.15 nm. En este intervalo se ubicaron ALA318, GLU340, VAL343, VAL344, GLU348, HISD347 y PHE491, todos ellos involucrados en interacciones clave con el ligando enalaprilato. Estos residuos se concentraron en regiones de baja fluctuación, lo cual refuerza la presencia de un entorno rígido que habría favorecido el anclaje sostenido del fármaco en el sitio activo.

Figura 30

Análisis del complejo ENA–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre enalaprilato y residuos del sitio activo de la enzima ECA.

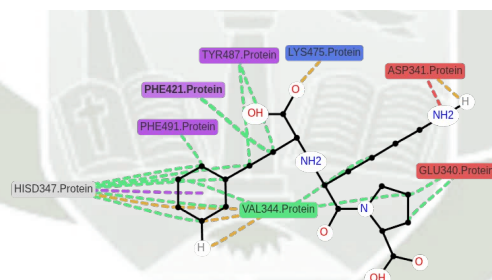
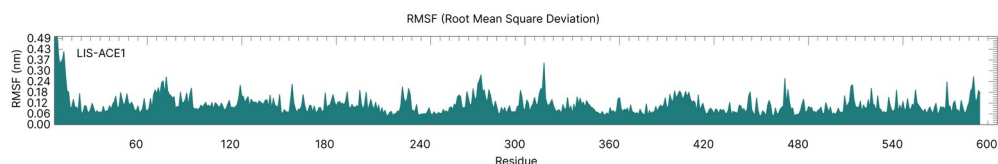


2.2.5.3 RMSF LIS–ECA I

El tramo entre los residuos 340 y 491 presentó valores de RMSF por debajo de 0.15 nm en la mayor parte de su extensión. En este intervalo se identificaron GLU340, VAL344, HISD347, LYS475, PHE421, TYR487 y PHE491. Todos se alinearon con zonas de mínima oscilación, reflejando una región estructuralmente rígida que habría favorecido un anclaje estable del fármaco en el entorno catalítico de la enzima.

Figura 31

Análisis del complejo LIS–ACE1: (arriba) gráfico de fluctuación cuadrática media por residuo (RMSF); (abajo) mapa bidimensional de interacciones entre campesterol y residuos del sitio activo de la enzima ECA I.



El análisis del perfil de fluctuación cuadrática media (RMSF) reveló que la mayoría de los valores mínimos se concentraron entre los residuos 318 al 491 de la enzima. Este comportamiento indica que dicha región se presentó una movilidad reducida a lo largo de toda la simulación, lo cual puede interpretarse como un indicador de bajo movimiento local con potencial funcional y estructural.

3 Resultados MMPBSA

Tabla 7

Energía libre de unión por MMPBSA de los ligandos naturales

| Fitocompuesto | MMPBSA kcal/mol |
|---------------------------------|------------------------|
| Gossipetina-3-glucósido (GOG) | -30.63 |
| Quercetina 7-o-rutinósido (RU7) | -30.18 |
| Espinasterol (SPI) | -28.45 |
| Hibiscitrina (CIT) | -25.98 |
| Estigmasterol (STG) | -24.78 |
| Beta-sitosterol (SIT) | -22.34 |
| Campesterol (CAM) | -22.24 |
| Gossipetina-8-glucósido (GOT) | -22.04 |
| Rutina (RU3) | -26.43 |
| Ácido Clorogénico (CLO) | -19.04 |

Tabla 8

Energía libre de unión por MMPBSA de los controles positivos

| Fármaco | MMPBSA kcal/mol |
|--------------------|------------------------|
| Enalaprilato (ENA) | -12.82 |
| Lisinopril (LIS) | -16.12 |
| Captopril (CAP) | -14.77 |

Los resultados presentados en la tabla 7 y tabla 8 corresponden a los cálculos de energía libre de unión obtenidos mediante el método MM-PBSA (Molecular Mechanics Poisson–Boltzmann Surface Area), aplicado a los *fitocompuestos* seleccionados y a los fármacos de referencia (controles positivos). Esta técnica, a diferencia del *docking* estático, incorpora la dinámica conformacional de los complejos proteína-ligando y considera efectos de solvatación y flexibilidad estructural, proporcionando así una estimación más realista de la afinidad de unión.

En la tabla 7 se observa que GOG y RU7 presentaron las energías libres de unión más negativas, con valores de -30.63 y -30.18 kcal/mol, respectivamente. Estos resultados sugieren que ambos compuestos poseen una alta afinidad teórica por la ECA, ya que energías más negativas en MM-PBSA se asocian con una mayor estabilidad

termodinámica del complejo formado. Les siguen SPI y CIT, con valores de -28.45 y -25.98kcal/mol, respectivamente, indicando también un notable potencial de interacción.

Otros fitocompuestos como STG, SIT, CAM, GOT y RU3 mostraron valores intermedios, en el rango de -22.04 a -26.43kcal/mol. Estos resultados sugieren afinidades moderadas, aunque todavía relevantes en términos de estabilidad del complejo y, potencialmente, en eficacia farmacológica.

Por último, (CLO) fue el fitocompuesto con la energía libre de unión menos negativa (-19.04 kcal/mol), lo cual sugiere que, si bien interactúa con la ECA1, su estabilidad en el complejo podría ser menor en comparación con los demás fitocompuestos.

En cuanto a los controles positivos analizados en la tabla 8, se aprecia que LIS alcanzó la energía libre de unión más negativa (-16.12kcal/mol), seguido de CAP con -14.77kcal/mol y ENA con -12.82kcal/mol.

Al comparar los resultados de MM-PBSA entre los fitocompuestos y los controles positivos, se evidencia que la mayoría de los fitocompuestos presentaron energías más negativas que los inhibidores farmacológicos tradicionales. Este hallazgo sugiere que algunos de estos compuestos naturales podrían tener una interacción más estable y, por ende, son candidatos para estudios más profundos como posibles inhibidores. Es importante recalcar que el análisis de MM-PBSA complementó la etapa inicial de *docking* y permitió refinar la selección de los ligandos más prometedores. Este paso resulta clave para establecer una base sólida en la identificación de nuevos candidatos terapéuticos con posible acción antihipertensiva, como se propone en el presente estudio.

DISCUSIÓN

La hipertensión arterial constituye un problema de salud pública a nivel global, caracterizado por su alta prevalencia, evolución silenciosa y fuerte asociación con eventos cardiovasculares mayores como infarto agudo de miocardio, accidente cerebrovascular y enfermedad renal crónica. Su fisiopatología multifactorial incluye componentes genéticos, ambientales, inflamatorios y humorales, entre los que destaca de forma central la hiperactividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). En este eje, la enzima convertidora de angiotensina I cumple un papel clave al promover la conversión de angiotensina I en angiotensina II, la cual tiene una potente acción vasoconstrictora, proinflamatoria y profibrótica. Por lo tanto, representa una diana terapéutica consolidada y validada para el manejo farmacológico de la hipertensión. Desde finales del siglo XX, el desarrollo de inhibidores de ECA ha permitido reducir eficazmente la presión arterial y prevenir complicaciones cardiovasculares. Sin embargo, estos medicamentos no están exentos de efectos adversos, lo que motiva la búsqueda constante de nuevos agentes. En ese sentido, los compuestos de origen natural han emergido como una alternativa prometedora. La presente investigación se inscribió dentro de esta línea de búsqueda racional de inhibidores naturales, utilizando como base un enfoque moderno de química computacional. Esta disciplina permite analizar con alta resolución las interacciones entre una proteína blanco y un conjunto diverso de ligandos, modelando no solo la afinidad inicial (mediante docking), sino también la estabilidad del complejo en condiciones dinámicas (a través de simulaciones de dinámica molecular) (1).

La aplicación secuencial de estas metodologías proporciona una visión integral del potencial inhibitorio de cada compuesto, antes de pasar a fases experimentales costosas y prolongadas. El uso de técnicas *in silico* en el presente trabajo permitió evaluar con precisión la interacción entre ECA y una serie de fitocompuestos. Inicialmente, el docking permitió identificar a la *Quercetina 7-O-rutinósido* (RU7), *Rutina* (RU3) y *Espinasterol* (SPI) como los ligandos con mayor afinidad teórica, poseían valores de energía de unión comparables, e incluso superiores, a los de los fármacos de referencia. Sin embargo, la rigidez de los modelos de docking limita su capacidad de predecir con realismo el comportamiento molecular en un entorno biológico, lo cual motivó la incorporación de simulaciones de dinámica molecular. Esta técnica reproduce el movimiento molecular del sistema en función del tiempo y permite observar si la orientación inicial del ligando se conserva, se optimiza o se pierde a lo largo de la trayectoria simulada. Al incorporar la dinámica molecular y aplicar el protocolo MM-

PBSA, los resultados ofrecieron una visión más realista del comportamiento de cada complejo en el tiempo. Destacó notablemente el caso de GOG, que no había figurado entre los primeros puestos en el análisis de docking, pero que, tras la simulación, presentó la energía libre de unión más favorable de todo el conjunto (-30.63 kcal/mol). Por otro lado, los controles positivos (enalaprilato, lisinopril y captopril) presentaron en ambos análisis energías de unión menos negativas que los principales fitocompuestos. Este resultado sugiere que los 10 compuestos naturales podrían formar complejos más estables con la ECA en términos energéticos, al menos bajo las condiciones del modelo aplicado. No obstante, es fundamental precisar que una mayor afinidad de unión *in silico* no implica una mayor eficacia clínica. Los valores obtenidos reflejan únicamente una tendencia teórica de estabilidad conformacional y persistencia en el sitio catalítico, sin considerar variables farmacocinéticas. Por tanto, estos resultados no deben interpretarse como una superioridad directa, sino como una evidencia preliminar que respalda el potencial de estos compuestos para ser evaluados experimentalmente como posibles inhibidores naturales de la ECA I. En el marco de esta discusión, resulta importante considerar el análisis computacional del perfil ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) para anticipar, de forma teórica, el comportamiento biofarmacéutico de los compuestos evaluados. Para ello, hablaremos de los filtros conocidos como la regla de Lipinski, filtro de Pfizer y filtro GlaxoSmithKline (GSK). Aunque no se abordaran de manera exhaustiva todos los componentes del perfil, se optó por estos ya que son considerados los más determinantes en fases tempranas de selección de candidatos terapéuticos. La regla de Lipinski, también conocida como la “Regla de los cinco”, nos permite predecir si un compuesto posee propiedades compatibles con la administración oral en humanos. Esta regla se basa en un análisis retrospectivo de medicamentos aprobados por la FDA, en el que se identificaron parámetros que favorecen la *absorción intestinal*. El cumplimiento de esta regla sugiere que una molécula tiene mayor probabilidad de ser absorbida eficientemente por difusión pasiva, sin requerir transportadores específicos o formulaciones especiales.

El filtro de Pfizer es un criterio predictivo propuesto por investigadores de la farmacéutica Pfizer con el objetivo de identificar compuestos con alta probabilidad de toxicidad en etapas clínicas tempranas. No predice un tipo específico de toxicidad, sino que actúa como una señal de alerta general asociada a perfiles fisicoquímicos que históricamente se correlacionaron con fallos clínicos por efectos adversos. Compuestos con alta lipofilia y baja polaridad superficial

tienden a presentar un mayor riesgo de toxicidad por acumulación en membranas, baja especificidad farmacológica o permeabilidad excesiva.

Finalmente, el filtro GlaxoSmithKline (GSK) permite identificar compuestos con un perfil farmacocinético deficiente en la parte de absorción y distribución, ya que evalúa parámetros como solubilidad, permeabilidad intestinal y distribución tisular. A partir del análisis estructural de miles de moléculas conocidas, la farmacéutica gsk identificó que aquellos compuestos que sobrepasaban ciertos valores fisicoquímicos presentan una mayor tasa de fracaso en fases de desarrollo, no necesariamente por toxicidad, sino por absorción limitada y distribución sistémica inadecuada.

Para esta discusión, es importante precisar que la evaluación de los filtros Lipinski, Pfizer y GSK se realizó utilizando la plataforma ADMETlab 3.0. Esta es una herramienta, basada en modelos de *machine learning* entrenados con millones de datos farmacológicos, la cual asigna un valor de 0 cuando el compuesto cumple con los criterios del filtro y 1 cuando no los cumple. Esta automatización permite una evaluación rápida y estandarizada. Adicionalmente esta plataforma ofrece un modelo identificado como GASA la cual muestra la facilidad de síntesis química de un compuesto según su estructura molecular. Genera automáticamente una puntuación de 0, que indica alta accesibilidad sintética (*Easy to Synthesize*) ó 1 que indica elevada complejidad estructural y, por ende, una *mayor dificultad sintética (Hard to Synthesize)*.

Tabla 9

Cumplimiento de filtros clave: GASA, Lipinski, Pfizer y GSK por parte de los compuestos analizados. El valor 0 representa cumplimiento, y el valor 1, incumplimiento.

| Fitocompuesto | Abrev. | GASA | Lipinski | Pfizer | GSK |
|---------------------------|--------|------|----------|--------|-----|
| Gossipetina-3-glucósido | GOG | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Quercetina 7-o-rutinósido | RU7 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Espinasterol | SPI | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Hibiscitrina | CIT | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Estigmasterol | STG | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Beta-sitosterol | SIT | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Campesterol | CAM | 1 | 0 | 1 | 1 |
| Gossipetina-8-glucósido | GOT | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Rutina | RU3 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| Ácido clorogénico | CLO | 0 | 0 | 0 | 0 |

- GOG: Se ubicó dentro del modelo GASA, lo que indica una estructura químicamente accesible y de baja complejidad sintética. No obstante, violó la regla de Lipinski, lo que sugiere que sus propiedades fisicoquímicas no favorecen la absorción oral pasiva. Cumplió con la regla de Pfizer, indicando un bajo riesgo de toxicidad sistémica en fases clínicas tempranas. Finalmente, presentó violación en la regla de GSK, lo cual anticipa posibles limitaciones en su perfil farmacocinético, especialmente en términos de exposición plasmática y distribución.
- RU7: Se posicionó dentro del modelo GASA, lo que indica una alta viabilidad sintética. Sin embargo, presentó violación a la regla de Lipinski, lo que sugiere propiedades poco favorables para la absorción oral pasiva. Cumplió con la regla de Pfizer, descartando un riesgo elevado de toxicidad sistémica. Finalmente, incumplió la regla de GSK, lo que anticipa un perfil farmacocinético limitado por escasa exposición o distribución sistémica.
- SPI: No superó el modelo GASA, lo que indica una estructura de síntesis compleja con posibles barreras para su producción a gran escala. Cumplió la regla de Lipinski, sugiriendo un perfil estructural compatible con absorción intestinal. Sin embargo, violó el filtro de Pfizer, lo que podría asociarse a un comportamiento toxicológico adverso en etapas clínicas. También incumplió la regla de GSK, lo que refleja un perfil biofarmacéutico con bajo margen de éxito terapéutico oral.
- CIT: Se ubicó favorablemente en el modelo GASA, lo que indica que su síntesis es técnicamente accesible. No obstante, presentó violación a la regla de Lipinski, lo que limita su potencial de absorción por vía oral. Mostró cumplimiento en el filtro de Pfizer, descartando toxicidad sistémica temprana. Por el contrario, falló en la regla de GSK, lo que plantea dudas sobre su desempeño clínico en términos de biodisponibilidad y distribución eficaz.
- STG: Quedó fuera del modelo GASA, lo que indica una arquitectura molecular compleja que podría dificultar su síntesis práctica. Aun así, cumplió con la regla de Lipinski, lo que respalda su idoneidad para atravesar membranas intestinales por difusión pasiva. En términos de seguridad, violó la regla de Pfizer, sugiriendo susceptibilidad a efectos tóxicos relacionados con su alta lipofilia. También presentó infracción a la regla de GSK, lo que reduce su proyección de éxito clínico por limitaciones en biodisponibilidad y distribución.

- SIT: No logró posicionarse dentro del modelo GASA, lo que sugiere una estructura sintéticamente compleja y de baja accesibilidad química. Mostró cumplimiento en la regla de Lipinski, lo que favorece su potencial de absorción oral. Sin embargo, transgredió la regla de Pfizer, evidenciando un perfil lipofílico asociado a riesgo de toxicidad. Además, violó la regla de GSK, lo que limita sus probabilidades de éxito terapéutico en etapas clínicas.
- CAM: Mostró exclusión del modelo GASA, lo cual indica una estructura de difícil acceso sintético y baja viabilidad química. Cumplió con la regla de Lipinski, lo que sugiere propiedades favorables para su absorción por vía oral. No obstante, presentó infracción a la regla de Pfizer, evidenciando posible toxicidad asociada a su perfil lipofílico. Asimismo, violó la regla de GSK, lo que compromete su eficacia clínica por limitaciones en su perfil farmacocinético.
- GOT: Se ubicó favorablemente dentro del modelo GASA, lo que indica una estructura de síntesis sencilla y factible. Sin embargo, transgredió la regla de Lipinski, lo cual sugiere una capacidad limitada para atravesar barreras intestinales por difusión pasiva. Cumplió con la regla de Pfizer, lo que reduce preocupaciones sobre toxicidad sistémica temprana. Finalmente, incumplió la regla de GSK, anticipando un rendimiento farmacocinético insuficiente para alcanzar eficacia clínica oral.
- RU3: No logró superar el modelo GASA, lo que indica una elevada complejidad estructural y dificultad en su síntesis química. Presentó violación a la regla de Lipinski, lo que compromete su capacidad de absorción oral eficiente. Aun así, cumplió con la regla de Pfizer, descartando riesgos toxicológicos evidentes. Sin embargo, también falló en la regla de GSK, lo que sugiere un perfil farmacocinético con escasa probabilidad de éxito clínico.
- CLO: Se posicionó dentro del modelo GASA, lo que evidencia una estructura molecular sencilla de sintetizar. Cumplió con la regla de Lipinski, reflejando un perfil compatible con absorción oral por difusión pasiva. Superó además los filtros de Pfizer y GSK, lo que indica bajo riesgo toxicológico y una alta probabilidad de éxito clínico. En conjunto, presentó el perfil más equilibrado entre todos los compuestos evaluados.

En conjunto, los resultados evidencian que una alta afinidad de unión no implica necesariamente una buena proyección farmacocinética. El caso más destacado es el del ácido clorogénico (CLO), que aunque se presentaba con la menor afinidad de unión (-19.04

kcal/mol) entre todos los demás compuestos, fue el único compuesto que cumplió con los cuatro criterios establecidos evaluados, por lo que surge como el mejor candidato. En cambio, moléculas que además de violar múltiples reglas, presentan alta dificultad sintética (GASA desfavorable), deben ser consideradas como los menos recomendables para avanzar en fases posteriores de desarrollo.



CONCLUSIONES

- PRIMERA:** Se evaluó el potencial inhibitorio de diez fitocompuestos de origen natural y tres fármacos de referencia frente a la enzima convertidora de angiotensina I mediante técnicas de química computacional. Los resultados de acoplamiento molecular mostraron que todos los fitocompuestos presentaron energías de unión más negativas que los inhibidores clínicos captopril, enalaprilato y lisinopril, lo cual sugiere una afinidad teórica superior hacia el sitio activo catalítico de la enzima.
- SEGUNDA:** Se caracterizó la estabilidad estructural de los complejos proteína-ligando mediante simulaciones de dinámica molecular de 100 ns. El análisis de parámetros como RMSD, radio de giro (R_g) y RMSF evidenció que todos los ligandos presentados, mantuvieron trayectorias conformacionales estables y compatibles con un anclaje efectivo en el sitio activo. Estas dinámicas confirmaron que los compuestos evaluados conservaron su integridad estructural en condiciones biológicas.
- TERCERA:** Las energías libres de unión calculadas mediante el método MM-PBSA confirmaron la superioridad energética de los fitocompuestos respecto a los controles farmacológicos. En particular, Gossipetina-3-glucósido alcanzó el valor más negativo del conjunto (-30.63 kcal/mol), seguido por otros compuestos con interacciones altamente favorables.
- CUARTA:** El análisis complementario de filtros determinantes permitió destacar al ácido clorogénico como uno de los candidatos con mejor equilibrio farmacocinético. Fue el único fitocompuesto que cumplió simultáneamente con GASA, Lipinski, Pfizer y GSK, lo que sugiere una buena proyección en términos de absorción, seguridad y viabilidad sintética. Si bien su afinidad de unión no fue la más alta entre los compuestos evaluados, su perfil global lo posiciona como el candidato más prometedor para continuar con estudios posteriores.

RECOMENDACIONES

PRIMERA: Se recomienda priorizar en futuros estudios a aquellos fitocompuestos que, además de mostrar afinidad y estabilidad estructural frente a la enzima, hayan pasado filtros prioritarios de manera favorable. En particular, el Ácido clorogénico, el cual se destacó por cumplir simultáneamente con las reglas de Lipinski, Pfizer, GSK y GASA, lo cual respalda su viabilidad como candidato.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Feng Y, Zhao Y, Yang X, Li Y, Han M, Qie R, et al. Adherence to antihypertensive medication and cardiovascular disease events in hypertensive patients: a dose-response meta-analysis of 2 769 700 participants in cohort study. *QJM*. 2022 May; 115(5): 279-286 Disponible en: <https://academic.oup.com/qjmed/article/115/5/279/6103796>.
2. Hernandez et al. *Metologia de la investigación*; 2014.
3. Na Takuathung M, Sakuludomkan W, Khatsri R, Dukaew N, Kraivisitkul N, Ahmadmusa B, et al. Adverse Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Humans: A Systematic Review and Meta-Analysis of 378 Randomized Controlled Trials. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(14) Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/14/8373>.
4. Sica Domenic A.. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors Side Effects—Physiologic and Non-Physiologic Considerations. *The Journal of Clinical Hypertension*. 2005; 7(s8): 17-23 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1524-6175.2005.04556.x>.
5. Unger et al. 2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines. *Hypertension*. 2020; 75(6): 1334-1357 Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>.
6. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur. Heart J*. 2018 Sep; 39(33): 3021-3104 Disponible en: <https://academic.oup.com/eurheartj/article/39/33/3021/5079119>.
7. Murray et al. Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020 Oct; 396(10258): 1223-1249 Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30752-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30752-2/fulltext).
8. Mills KT, Stefanescu A, He J. The global epidemiology of hypertension. *Nat. Rev. Nephrol*. 2020 Apr; 16(4): 223-237 Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7998524/>.
9. Whelton PK, Carey RM, Aronow WS, Casey DE, Collins KJ, Himmelfarb CD, et al.

- 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018; 71(19): e127-e248 Disponible en: <https://www.jacc.org/doi/abs/10.1016/j.jacc.2017.11.006>.
10. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles, 2023. 2024 May; Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/inei/informes-publicaciones/5601760-peru-enfermedades-no-transmisibles-y-transmisibles-2023>.
 11. World Health Organization. Global report on hypertension: the race against a silent killer. 2023; Disponible en: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240081062>.
 12. Lip S, Padmanabhan S. Genomics of blood pressure and hypertension: Extending the mosaic theory toward stratification. *Can. J. Cardiol*. 2020 May; 36(5): 694-705 Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0828-282X\(20\)30217-8](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0828-282X(20)30217-8).
 13. Harrison DG, Coffman TM, Wilcox CS. Pathophysiology of Hypertension. *Circulation Research*. 2021; 128(7): 847-863 Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCRESAHA.121.318082>.
 14. Guyton AC, Coleman TG, Cowley Jr AW, Liard JF, Norman Jr RA, Manning Jr RD. Systems analysis of arterial pressure regulation and hypertension. *Ann. Biomed. Eng.* 1972 Dec; 1(2): 254-281 Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02584211>.
 15. Crowley SD, Gurley SB, Herrera MJ, Ruiz P, Griffiths R, Kumar AP, et al. Angiotensin II causes hypertension and cardiac hypertrophy through its receptors in the kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2006 Nov; 103(47): 17985-17990 Disponible en: https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.0605545103?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed.
 16. Castrop H, Höcherl K, Kurtz A, Schweda F, Todorov V, Wagner C. Physiology of Kidney Renin. *Physiological Reviews*. 2010; 90(2): 607-673 Disponible en: <https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2009>.
 17. Guessoum O, de Goes Martini A, Sequeira-Lopez MLS, Gomez RA. Deciphering the identity of renin cells in health and disease. *Trends Mol. Med.* 2021 Mar; 27(3): 280-292 Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471-4914\(20\)30264-1](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471-4914(20)30264-1).
 18. Banek CT, Knuepfer MM, Foss JD, Fiege JK, Asirvatham-Jeyaraj N, Van Helden D, et

- al. Resting afferent renal nerve discharge and renal inflammation: Elucidating the role of afferent and efferent renal nerves in deoxycorticosterone acetate salt hypertension. *Hypertension*. 2016 Dec; 68(6): 1415-1423 Disponible en: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07850?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub.
19. Cao W, Li A, Wang L, Zhou Z, Su Z, Bin W, et al. A salt-induced Reno-cerebral reflex activates renin-angiotensin systems and promotes CKD progression. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2015 Jul; 26(7): 1619-1633 Disponible en: https://journals.lww.com/jasn/abstract/2015/07000/a_salt_induced_reno_cerebral_reflex_activates.18.aspx.
20. Li Q, Youn JY, Cai H. Mechanisms and consequences of endothelial nitric oxide synthase dysfunction in hypertension. *J. Hypertens.* 2015 Jun; 33(6): 1128-1136 Disponible en: https://journals.lww.com/jhypertension/abstract/2015/06000/mechanisms_and_consequences_of_endothelial_nitric.3.aspx.
21. Wu J, Saleh MA, Kirabo A, Itani HA, Montaniel KRC, Xiao L, et al. Immune activation caused by vascular oxidation promotes fibrosis and hypertension. *J. Clin. Invest.* 2016 Jan; 126(1): 50-67 Disponible en: <https://www.jci.org/articles/view/80761>.
22. Kinsman BJ, Simmonds SS, Browning KN, Stocker SD. Organum Vasculosum of the Lamina Terminalis Detects NaCl to Elevate Sympathetic Nerve Activity and Blood Pressure. *Hypertension*. 2017; 69(1): 163-170 Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.08372>.
23. Cao W, Shi M, Wu L, Li J, Yang Z, Liu Y, et al. Adipocytes initiate an adipose-cerebral-peripheral sympathetic reflex to induce insulin resistance during high-fat feeding. *Clin. Sci. (Lond.)*. 2019 Sep; 133(17): 1883-1899 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31477624/>.
24. Madhur MS, Lob HE, McCann LA, Iwakura Y, Blinder Y, Guzik TJ, et al. Interleukin 17 promotes angiotensin II-induced hypertension and vascular dysfunction. *Hypertension*. 2010 Feb; 55(2): 500-507 Disponible en: https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.145094?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub.
25. Wu J, Thabet SR, Kirabo A, Trott DW, Saleh MA, Xiao L, et al. Inflammation and

- mechanical stretch promote aortic stiffening in hypertension through activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *Circ. Res.* 2014 Feb; 114(4): 616-625 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24347665/>.
26. Kirabo A, Fontana V, de Faria APC, Loperena R, Galindo CL, Wu J, et al. DC isoketal-modified proteins activate T cells and promote hypertension. *J. Clin. Invest.* 2014 Oct; 124(10): 4642-4656 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25244096/>.
27. Sun XN, Li C, Liu Y, Du LJ, Zeng MR, Zheng XJ, et al. T-cell mineralocorticoid receptor controls blood pressure by regulating interferon-gamma. *Circ. Res.* 2017 May; 120(10): 1584-1597 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28298295/>.
28. McCurley A, Pires PW, Bender SB, Aronovitz M, Zhao MJ, Metzger D, et al. Direct regulation of blood pressure by smooth muscle cell mineralocorticoid receptors. *Nat. Med.* 2012 Sep; 18(9): 1429-1433 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22922412/>.
29. Araujo M, Wilcox CS. Oxidative stress in hypertension: role of the kidney. *Antioxid. Redox Signal.* 2014 Jan; 20(1): 74-101 Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3880923/>.
30. Li J, Zhao F, Wang Y, Chen J, Tao J, Tian G, et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. *Microbiome.* 2017 Feb; 5(1): 14 Disponible en: <https://microbiomejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40168-016-0222-x>.
31. Marques FZ, Mackay CR, Kaye DM. Beyond gut feelings: how the gut microbiota regulates blood pressure. *Nat. Rev. Cardiol.* 2018 Jan; 15(1): 20-32 Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrcardio.2017.120>.
32. Vaura F, Kauko A, Suvila K, Havulinna AS, Mars N, Salomaa V, et al. Polygenic risk scores predict hypertension onset and cardiovascular risk. *Hypertension.* 2021 Apr; 77(4): 1119-1127 Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.16471>.
33. Cabrera CP, Ng FL, Nicholls HL, Gupta A, Barnes MR, Munroe PB, et al. Over 1000 genetic loci influencing blood pressure with multiple systems and tissues implicated. *Hum. Mol. Genet.* 2019 Nov; 28(R2): R151-R161 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31411675/>.
34. Paul M, Poyan Mehr A, Kreutz R. Physiology of Local Renin-Angiotensin Systems. *Physiological Reviews.* 2006; 86(3): 747-803 Disponible en:

- <https://doi.org/10.1152/physrev.00036.2005>.
35. Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, Coffman TM, Kawai T, Rizzo V, et al. Angiotensin II Signal Transduction: An Update on Mechanisms of Physiology and Pathophysiology. *Physiological Reviews*. 2018; 98(3): 1627-1738 Disponible en: <https://doi.org/10.1152/physrev.00038.2017>.
 36. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2007; 292(1): C82-C97 Disponible en: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00287.2006>.
 37. Caballero J. Considerations for Docking of Selective Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors. *Molecules*. 2020; 25(2) Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/2/295>.
 38. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42(6): 1206-1252 Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.HYP.0000107251.49515.c2>.
 39. Charchar FJ, Prestes PR, Mills C, Ching SM, Neupane D, Marques FZ, et al. Lifestyle management of hypertension: International Society of Hypertension position paper endorsed by the World Hypertension League and European Society of Hypertension. *J. Hypertens*. 2024 Jan; 42(1): 23-49 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37712135/>.
 40. Fu J, Liu Y, Zhang L, Zhou L, Li D, Quan H, et al. Nonpharmacologic Interventions for Reducing Blood Pressure in Adults With Prehypertension to Established Hypertension. *Journal of the American Heart Association*. 2020; 9(19): e016804 Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/JAHA.120.016804>.
 41. Valenzuela PL, Carrera-Bastos P, Gálvez BG, Ruiz-Hurtado G, Ordovas JM, Ruilope LM, et al. Lifestyle interventions for the prevention and treatment of hypertension. *Nat. Rev. Cardiol*. 2021 Apr; 18(4): 251-275 Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41569-020-00437-9>.

42. Martinez-Ramirez EZ, Gonzalez-Cruz L, Bernardino-Nicanor A, Silva-Martínez GA, Falfan-Cortes RN, Gonzalez-Montiel S, et al. Hibiscus acid inhibitory capacity of angiotensin converting enzyme: An in vitro and in silico study. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2024 Mar; 79(1): 234-241 Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11130-024-01142-5>.
43. Burhanuddin D, Bahtiar F, Najib A. In Silico Screening of Chemical Compounds from Roselle (Hibiscus Sabdariffa) as Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitor Used PyRx Program. *ARPN Journal of Science and Technology.* 2013 Jul; 3: 1145-1147 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/259756283_In_Silico_Screening_of_Chemical_Compounds_from_Roselle_Hibiscus_Sabdariffa_as_Angiotensin-I_Converting_Enzyme_Inhibitor_Used_PyRx_Program.
44. Nurfaradilla SA, Saputri FC, Harahap Y. Effects of Hibiscus Sabdariffa Calyces Aqueous Extract on the Antihypertensive Potency of Captopril in the Two-Kidney-One-Clip Rat Hypertension Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2019; 2019(1): 9694212 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2019/9694212>.
45. Ojeda et al. Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from Hibiscus sabdariffa. *Journal of Ethnopharmacology.* 2010; 127(1): 7-10 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874109006382>.
46. Al-Anbaki M, Cavin AL, Nogueira RC, Taslimi J, Ali H, Najem M, et al. Hibiscus sabdariffa, a Treatment for Uncontrolled Hypertension. *Pilot Comparative Intervention. Plants.* 2021; 10(5) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/5/1018>.
47. Sanou A, Konaté K, Belemnaba L, Sama H, Kaboré K, Dakuyo R, et al. In Vivo Diuretic Activity and Anti-Hypertensive Potential of Hibiscus sabdariffa Extract by Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme and Hypertension Precursor Enzymes. *Foods.* 2024; 13(4) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/13/4/534>.
48. Ajebli M, Eddouks M. Phytotherapy of Hypertension: An Updated Overview. *ENDOCRINE METABOLIC & IMMUNE DISORDERS-DRUG TARGETS.* 2020; 20(6): 812-839 Disponible en: <https://www.eurekaselect.com/article/103264>.

49. Shouk R, Abdou A, Shetty K, Sarkar D, Eid AH. Mechanisms underlying the antihypertensive effects of garlic bioactives. *Nutrition Research*. 2014; 34(2): 106-115 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0271531713002856>.
50. Limanto A, Husain E, Dewajanti A. In-silico study of the Effectiveness of *Allium sativum* L. extract as an Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) Inhibitor in Hypertension. *Majalah Kedokteran Bandung*. 2023 Jul; 55: 161-170 Disponible en: <https://journal.fk.unpad.ac.id/index.php/mkb/article/view/3287/0>.
51. Ried K. Garlic Lowers Blood Pressure in Hypertensive Individuals, Regulates Serum Cholesterol, and Stimulates Immunity: An Updated Meta-analysis and Review¹². *The Journal of Nutrition*. 2016; 146(2): 389S-396S Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022316623005199>.
52. Khaled A, Ahmed E, Mamdouh M, Saad H, Mohamed A, Sobhy M, et al. Natural angiotensin converting enzyme inhibitors: A safeguard against hypertension, respiratory distress syndrome, and chronic kidney diseases. *Phytotherapy Research*. 2023; 37(12): 5464-5472 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.7987>.
53. Fazal Y, Fatima SN, Shahid SM, Mahboob T. Effects of curcumin on angiotensin-converting enzyme gene expression, oxidative stress and anti-oxidant status in thioacetamide-induced hepatotoxicity. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*. 2015; 16(4): 1046-1051 Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1470320314545777>.
54. Ishaq M, Khan MF, Verma G, Rathi A, Adil M, Faizan M, et al. Curcumin Nanoemulsion: Unveiling Cardioprotective Effects via ACE Inhibition and Antioxidant Properties in Hypertensive Rats. *Medicina*. 2023; 59(10) Disponible en: <https://www.mdpi.com/1648-9144/59/10/1748>.
55. Zhuang XD, Liao LZ, Dong XB, Hu X, Guo Y, Du ZM, et al. Design, synthesis, and antihypertensive activity of curcumin-inspired compounds via ACE inhibition and vasodilation, along with a bioavailability study for possible benefit in cardiovascular diseases. *Drug Des. Devel. Ther.* 2016 Jan; 10: 129-139 Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4708961/>.

56. Bhullar KS, Jha A, Youssef D, Rupasinghe HPV. Curcumin and Its Carbocyclic Analogs: Structure-Activity in Relation to Antioxidant and Selected Biological Properties. *Molecules*. 2013; 18(5): 5389-5404 Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/18/5/5389>.
57. Kumolosasi E, Cheng CW, Abdullah AZ, Abd Manap NS, Lee WL, Yusuf MH, et al. Antihypertensive Activities of Standardised Moringa oleifera Lam (Merunggai) Extracts in Spontaneously Hypertensive Rats. *Sains Malays*. 2021 Mar; 50(3): 769-778 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/350971293_Antihypertensive_Activities_of_Standardised_Moringa_oleifera_Lam_Merunggai_Extracts_in_Spontaneously_Hypertensive_Rats.
58. Kumolosasi E, Cheong M, Salwanizam N, Esham N, Ayob Q, Ramasamy R, et al. Drug-Herb Interactions: Selected Antihypertensive Drugs with Moringa oleifera Leaves Extract. *Sains Malaysiana*. 2022 Jul; 51: 1143-1154 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/360289046_Drug-Herb_Interactions_Selected_Antihypertensive_Drugs_with_Moringa_oleifera_Leaves_Extract.
59. Acuram LK, Hernandez CLC. Anti-hypertensive effect of Moringa oleifera Lam. *Cogent Biology*. 2019; 5(1): 1596526 Disponible en: <https://doi.org/10.1080/23312025.2019.1596526>.
60. Khan H, Jaiswal V, Kulshreshtha S, Khan A. Potential Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors from Moringa oleifera. *Recent Pat. Biotechnol*. 2019; 13(3): 239-248 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30747089/>.
61. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 222284, Beta-Sitosterol. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Beta-Sitosterol>.
62. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 173183, Campesterol. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/173183>.
63. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 1794427, Chlorogenic Acid. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1794427>.

64. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 44259979, Gossypetin 3-glucoside. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/44259979>.
65. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 15559736, Hibiscitrin. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15559736>.
66. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5280805, Rutin. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rutin>.
67. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 5281331, alpha-Spinasterin. 2025 Jun; Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281331>.
68. Izquierdo-Vega JA, Arteaga-Badillo DA, Sánchez-Gutiérrez M, Morales-González JA, Vargas-Mendoza N, Gómez-Aldapa CA, et al. Organic Acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A Brief Review of Its Pharmacological Effects. *Biomedicines*. 2020; 8(5) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-9059/8/5/100>.
69. Villani T, Juliani H, Simon J, Wu QL. *Hibiscus sabdariffa* : Phytochemistry, Quality Control, and Health Properties. *ACS Symposium Series*. 2013 Jul; 1127: 209-230 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/286024426_Hibiscus_sabdariffa_Phytochemistry_Quality_Control_and_Health_Properties.
70. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, Heinrich M. *Hibiscus sabdariffa* L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*. 2014; 165: 424-443 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461400692X>.
71. Zeng L, Yu G, Hao W, Yang K, Chen H. The efficacy and safety of *Curcuma longa* extract and curcumin supplements on osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Bioscience Reports*. 2021 Jul; 41(6): BSR20210817 Disponible en: <https://doi.org/10.1042/BSR20210817>.
72. Zagórska J, Kukula-Koch W, Czop M, Iłowiecka K, Koch W. Impact of thermal processing on the composition of *Curcuma longa* rhizome. *Foods*. 2023; 12(16): 3086.

73. Padayachee B, Baijnath H. An updated comprehensive review of the medicinal, phytochemical and pharmacological properties of *Moringa oleifera*. *South African Journal of Botany*. 2020; 129: 304-316 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629919305277>.
74. Özcan MM. *Moringa spp*: Composition and bioactive properties. *South African Journal of Botany*. 2020; 129: 25-31 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629918312651>.
75. Gopalakrishnan L, Doriya K, Kumar DS. *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*. 2016; 5(2): 49-56 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213453016300362>.
76. Chew LY, Teng SK, Neo YP, Sim Y, Chew SC. The Potential of Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Plant in Industrial Applications: A Promising Source of Functional Compounds. *Journal of Oleo Science*. 2024 Jul; 73: 275-292 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38432993/>.
77. Segneanu AE, Vlase G, Lukinich-Gruia AT, Herea DD, Grozescu I. Untargeted Metabolomic Approach of *Curcuma longa* to Neurodegenerative Phytocarrier System Based on Silver Nanoparticles. *Antioxidants*. 2022; 11(11) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/11/2261>.
78. Ahmed M, Refaat J, Abdelmohsen U, Hamed A. Chemical and Biological Studies on *Allium sativum* L. (1952-2020): A Comprehensive Review. *Journal of advanced Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2022 Jul; 5: 1-22 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/357081912_Chemical_and_Biological_Studies_on_Allium_sativum_L_1952-2020_A_Comprehensive_Review.
79. Oliveira Filho J, de Almeida M, Sousa T, Santos D, Egea M. Bioactive Compounds of Turmeric (*Curcuma longa* L.). 2020 Jul;: 1-22 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/353335197_Bioactive_Compounds_of_Turmeric_Curcuma_longa_L.
80. Kashyap P, Kumar S, Riar CS, Jindal N, Baniwal P, Guiné RPF, et al. Recent Advances in Drumstick (*Moringa oleifera*) Leaves Bioactive Compounds: Composition, Health Benefits, Bioaccessibility, and Dietary Applications. *Antioxidants*. 2022; 11(2) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3921/11/2/402>.

81. Souza HCA, Souza MDA, Sousa CS, Viana EKA, Alves SKS, Marques AO, et al. Molecular Docking and ADME-TOX Profiling of Moringa oleifera Constituents against SARS-CoV-2. *Advances in Respiratory Medicine*. 2023; 91(6): 464-485 Disponible en: <https://www.mdpi.com/2543-6031/91/6/35>.
82. Pareek A, Pant M, Gupta MM, Kashania P, Ratan Y, Jain V, et al. Moringa oleifera: An Updated Comprehensive Review of Its Pharmacological Activities, Ethnomedicinal, Phytopharmaceutical Formulation, Clinical, Phytochemical, and Toxicological Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023; 24(3) Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/3/2098>.
83. Alia F, Putri M, Anggraeni N, Syamsunarno MRAA. The Potency of Moringa oleifera Lam. as Protective Agent in Cardiac Damage and Vascular Dysfunction. *Frontiers in Pharmacology*. 2022; Volume 12 - 2021 Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/pharmacology/articles/10.3389/fphar.2021.724439>.
84. Chis et al. Bioactive compounds in Moringa oleifera: mechanisms of action focus on their anti-inflammatory properties. *Plants*. 2023; 13: 20.
85. Recinella L, Gorica E, Chiavaroli A, Frascetti C, Filippi A, Cesa S, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects Induced by Allium sativum L. Extracts on an Ex Vivo Experimental Model of Ulcerative Colitis. *Foods*. 2022; 11(22) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/11/22/3559>.
86. Hamrita B, Emira N, Papetti A, Badraoui R, Bouslama L, Ben Tekfa MI, et al. Phytochemical Analysis, Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-Swarming Properties of Hibiscus sabdariffa L. Calyx Extracts: In Vitro and In Silico Modelling Approaches. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022; 2022(1): 1252672 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1155/2022/1252672>.
87. Kim DW, Lee SM, Woo HS, Park JY, Ko BS, Heo JD, et al. Chemical constituents and anti-inflammatory activity of the aerial parts of Curcuma longa. *Journal of Functional Foods*. 2016; 26: 485-493 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1756464616302407>.
88. Shang A, Cao SY, Xu XY, Gan RY, Tang GY, Corke H, et al. Bioactive Compounds and Biological Functions of Garlic (Allium sativum L.). *Foods*. 2019; 8(7) Disponible en: <https://www.mdpi.com/2304-8158/8/7/246>.

89. Iweala EJ, Uche ME, Dike ED, Etumnu LR, Dokunmu TM, Oluwapelumi AE, et al. Curcuma longa (Turmeric): Ethnomedicinal uses, phytochemistry, pharmacological activities and toxicity profiles—A review. *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*. 2023; 6: 100222 Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667142523000088>.
90. Senn HM, Thiel W. QM/MM Methods for Biomolecular Systems. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009; 48(7): 1198-1229 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.200802019>.
91. Yu W, MacKerell Jr AD. Computer-aided drug design methods. *Methods Mol. Biol*. 2017; 1520: 85-106 Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5248982/>.
92. Lionta E, Spyrou G, Vassilatis D, Cournia Z. Structure-based virtual screening for drug discovery: Principles, applications and recent advances. *Curr. Top. Med. Chem*. 2014 Oct; 14(16): 1923-1938 Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4443793/>.
93. Meng XY, Zhang HX, Mezei M, Cui M. Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*. 2011; 7(2): 146-157 Disponible en: <https://www.eurekaselect.com/article/19093>.
94. Forli S, Huey R, Pique ME, Sanner MF, Goodsell DS, Olson AJ. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nat. Protoc*. 2016 May; 11(5): 905-919 Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nprot.2016.051>.
95. Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat. Rev. Drug Discov*. 2004 Nov; 3(11): 935-949 Disponible en: <https://www.nature.com/articles/nrd1549>.
96. Hollingsworth SA, Dror RO. Molecular dynamics simulation for all. *Neuron*. 2018 Sep; 99(6): 1129-1143 Disponible en: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896-6273\(18\)30684-6](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896-6273(18)30684-6).
97. Lemkul J. From Proteins to Perturbed Hamiltonians: A Suite of Tutorials for the GROMACS-2018 Molecular Simulation Package [Article v1.0]. *Living Journal of Computational Molecular Science*. 2018 Jul; 1 Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/329082597_From_Proteins_to_Perturbed_Hamiltonians_A_Suite_of_Tutorials_for_the_GROMACS-2018_Molecular_Simulation_Package_Article_v10.

98. Wang C, Greene D, Xiao L, Qi R, Luo R. Recent Developments and Applications of the MMPBSA Method. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2018; Volume 4 - 2017 Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/molecular-biosciences/articles/10.3389/fmolb.2017.00087>.
99. Genheden S, Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015 May; 10(5): 449-461 Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4487606/>.
100. Abraham M, Alekseenko A, Basov V, Bergh C, Briand E, Brown A, et al. GROMACS 2024-beta Manual. 2023 Nov; Disponible en: <https://doi.org/10.5281/zenodo.10090356>.
101. Goddard TD, Huang CC, Meng EC, Pettersen EF, Couch GS, Morris JH, et al. UCSF ChimeraX: Meeting modern challenges in visualization and analysis. *Protein Science*. 2018; 27(1): 14-25 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pro.3235>.
102. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Meng EC, Couch GS, Croll TI, et al. UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. *Protein Science*. 2021; 30(1): 70-82 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pro.3943>.
103. Nickolls J, Buck I, Garland M, Skadron K. Scalable Parallel Programming with CUDA: Is CUDA the parallel programming model that application developers have been waiting for? *Queue*. 2008 Mar; 6(2): 40-53 Disponible en: <https://doi.org/10.1145/1365490.1365500>.
104. Yu Y, Cai C, Wang J, Bo Z, Zhu Z, Zheng H. Uni-Dock: GPU-Accelerated Docking Enables Ultralarge Virtual Screening. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2023; 19(11): 3336-3345 Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.2c01145>.
105. Valdés-Tresanco MS, Valdés-Tresanco ME, Valiente PA, Moreno E. gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS. *Journal of Chemical Theory and Computation*. 2021; 17(10): 6281-6291 Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.1c00645>.
106. Frisch MJ, Trucks GW. Gaussian 16 Revision C.01. 2016; Disponible en: https://gaussian.com/g09_c01/.
107. Dennington R, Keith TA, Millam JM. GaussView Version 6. 2019; Disponible en: <https://gaussian.com/gv611rn/>.

108. Foresman J, Frisch A. Exploring Chemistry With Electronic Structure Methods, 3rd edition; 2015.
109. Dodda LS, Cabeza de Vaca I, Tirado-Rives J, Jorgensen WL. LigParGen web server: an automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. *Nucleic Acids Research*. 2017 Jul; 45(W1): W331-W336 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkx312>.
110. Sayers EW, Bolton EE, Brister J, Canese K, Chan J, Comeau D, et al. Database resources of the National Center for Biotechnology Information in 2023. *Nucleic Acids Research*. 2022 Jul; 51(D1): D29-D38 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1032>.
111. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*. 2000 Jul; 28(1): 235-242 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>.
112. Burley SK, Bhikadiya C, Bi C, Bittrich S, Chao H, Chen L, et al. RCSB Protein Data Bank (RCSB.org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. *Nucleic Acids Research*. 2022 Jul; 51(D1): D488-D508 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1077>.
113. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Research*. 2022 Jul; 51(D1): D1373-D1380 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>.
114. Knox C, Wilson M, Klinger C, Franklin M, Oler E, Wilson A, et al. DrugBank 6.0: the DrugBank Knowledgebase for 2024. *Nucleic Acids Research*. 2023 Jul; 52(D1): D1265-D1275 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkad976>.
115. Consortium TU. UniProt: the Universal Protein Knowledgebase in 2025. *Nucleic Acids Research*. 2024 Jul; 53(D1): D609-D617 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1010>.
116. Jurrus E, Engel D, Star K, Monson K, Brandi J, Felberg LE, et al. Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. *Protein Science*. 2018; 27(1): 112-128 Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pro.3280>.



Anexo 1

Fitocompuesto - Docking (kcal/mol)

Tabla 10

Resultados de Docking Molecular Fitocompuestos

| Fitocompuesto | Docking (kcal/mol) |
|--|--------------------|
| Quercetina 7-o-rutinósido (RU7) | -10.343 |
| Rutina (RU3) | -9.934 |
| Espinasterol (SPI) | -9.001 |
| Hibiscitrina (CIT) | -8.981 |
| Gossipetina 3 glucósido (GOG) | -8.834 |
| Gossipetina 8 glucósido (GOT) | -8.63 |
| Estigmasterol (STG) | -8.594 |
| Campesterol (CAM) | -8.264 |
| Sitosterol (SIT) | -8.255 |
| Ácido colorogénico (CLO) | -8.165 |
| Hibiscetina (HIB) | -8.018 |
| Miricetina (MYR) | -8.001 |
| Quercetina (QET) | -7.975 |
| Luteolina (LUT) | -7.932 |
| Gossipetina (GOS) | -7.912 |
| Kaempferol (KAE) | -7.714 |
| Ácido 5 Cafeoilquínico (CAF) | -7.689 |
| Ácido 5-feruloilquínico (FER) | -7.451 |
| Moringina (MOR1) | -7.365 |
| Curcumina (CUR1) | -7.314 |
| Demethoxycurcumin (DEM1) | -7.278 |
| Niaziminina A (NIA2) | -7.156 |
| Niazicina A (NIA1) | -7.133 |
| Lactona del ácido hidroxycítrico (LAC) | -5.790 |
| Ácido Protocatehuico (PRO) | -5.764 |
| Turmerona (TUR1) | -5.762 |
| Trigonelina (TRG) | -5.734 |
| Ácido galacturónico (GAL) | -5.613 |
| Ácido de hibisco (ALO) | -5.451 |
| Ácido hidroxycítrico (XYC) | -5.447 |
| Zingibereno (ZIN1) | -5.444 |
| Eugenol (EUG) | -5.202 |
| Ácido Tartárico (TAR) | -5.048 |
| Ácido Málico (MAL) | -4.738 |
| Benzilamina (BEN1) | -4.591 |
| S-alilcisteína (SAL1) | -4.332 |
| S-alilmercapto-L-cisteína (SAL2) | -4.318 |
| Ajoeno (AJO1) | -4.195 |
| Alicina (ALL) | -3.640 |
| Betaína (BET) | -3.349 |

Anexo 2

Imágenes 3D de los distintos complejos Enzima-Ligando

Figura 32

Comparación estructural entre la vista global del complejo SIT-ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

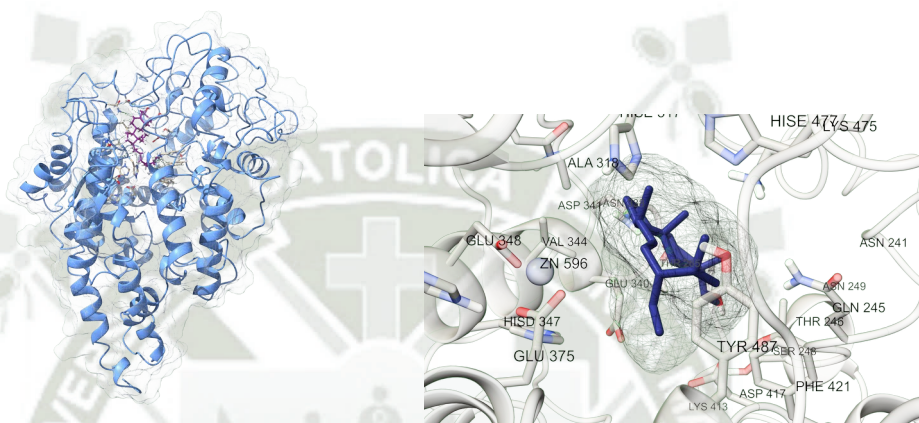


Figura 33

Comparación estructural entre la vista global del complejo CAM-ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

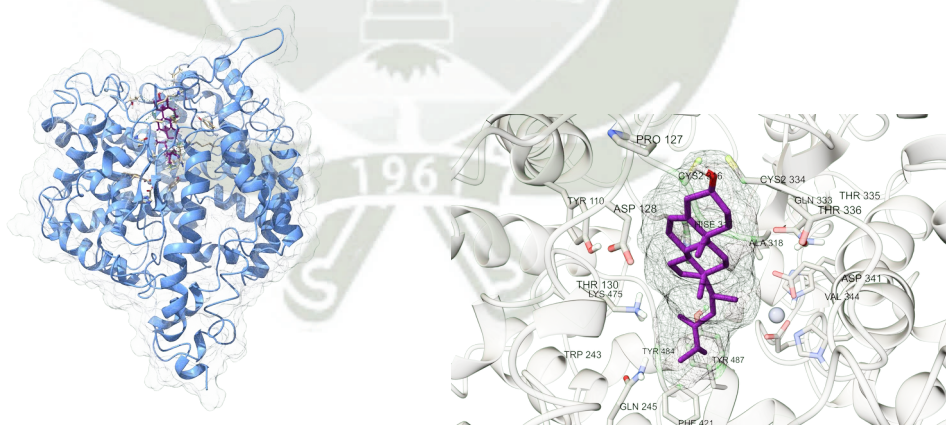


Figura 34

Comparación estructural entre la vista global del complejo CIT–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

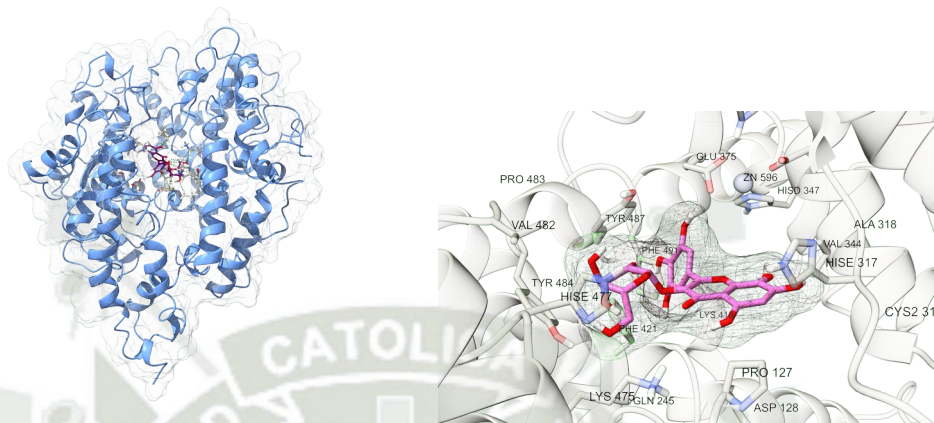


Figura 35

Comparación estructural entre la vista global del complejo CLO–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

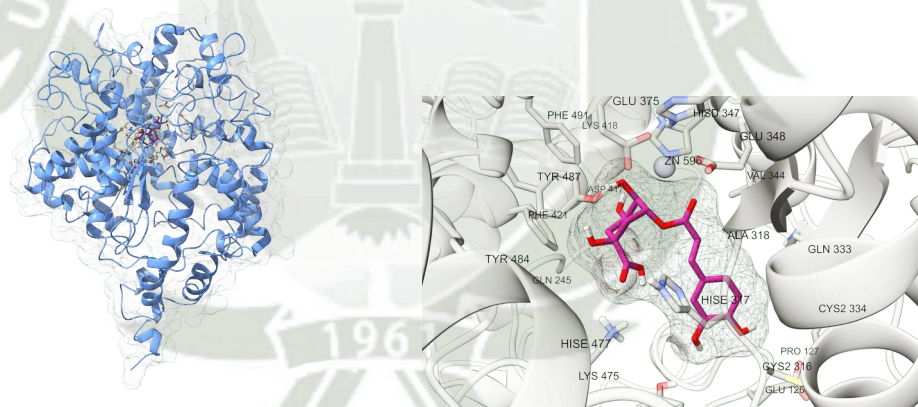


Figura 36

Comparación estructural entre la vista global del complejo GOT–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

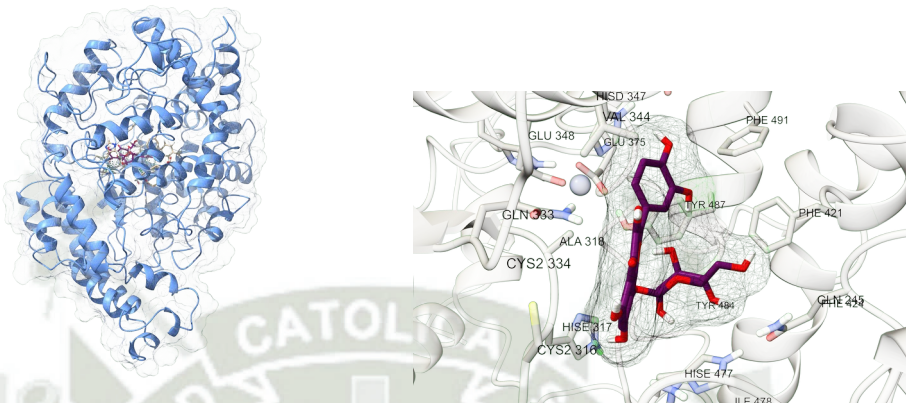


Figura 37

Comparación estructural entre la vista global del complejo RU3–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

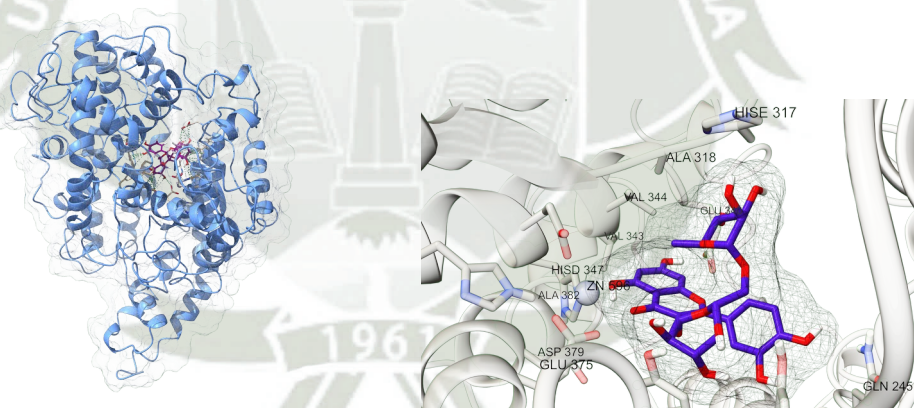


Figura 38

Comparación estructural entre la vista global del complejo STG–ACE1 (izquierda) y la vista localizada del sitio activo (derecha).

