



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**DESCRIPCIÓN DE PÉPTIDOS ANTICANCERÍGENOS
PROVENIENTES DE SUERO DE *CROCODYLUS POROSUS*
MEDIANTE APROXIMACIONES BIOINFORMÁTICAS**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor

Alonso Guillermo Quispe Larrea

Asesor

Dra. Claudia Ines Gloria Machicado Rivero

Lima, Perú

2025

Jurado calificador

Presidente: Dra. Maria Lisseth Eguiluz Moya

Vocal: Dr. Felipe Carlos Yon Torres

Secretario: Dr. Rodolfo Martin Salas Gismondi

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

Nº	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	QUISPE LARREA ALONSO GUILLERMO

Pertencientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**, autores del trabajo titulado: **DESCRIPCIÓN DE PÉPTIDOS ANTICANCERÍGENOS PROVENIENTES DE SUERO DE CROCODYLUS POROSUS MEDIANTE APROXIMACIONES BIOINFORMÁTICAS**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

Nº	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	MACHICADO RIVERO CLAUDIA INES GLORIA	FACI	ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **19%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3461837799**; fecha de entrega: **21/01/2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 21 de enero de 2026**



Firma del asesor

Nº DNI: 10281611

ORCID: 0000-0001-6140-2423

Índice

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1. Péptidos anticancerígenos (ACPS).....	3
1.1.1. Descripción general de los ACPs	3
1.1.2. Propiedades fisicoquímicas	3
1.1.3. Propiedades estructurales	4
1.2. Mecanismos de acción anticancerígena de los ACPs.....	5
1.2.1. Interacción con la membrana.....	5
1.2.2. Estimulación de las vías apoptóticas por los ACPs	8
1.2.3. Efecto anticancerígeno de los residuos de aminoácidos en ACPs.....	9
1.3. Estudios computacionales en ACPs	9
1.4. Presencia de AMPs/ACPs en cocodrilos	11
1.5. Nuevos ACPs encontrados en cocodrilo... ..	11
II. HIPÓTESIS, PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS	12
2.1. Planteamiento del problema	12
2.2. Pregunta de investigación.....	14
2.3. Objetivos	14
2.3.1. Objetivo general	15
2.3.2. Objetivos específicos.....	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1. Diseño del estudio... ..	15

3.2. Recursos bioinformáticos	16
3.3. Obtención de las secuencias de ACPs candidatos	18
3.4. Predicción de la actividad anticancerígena.....	18
3.5. Confirmación del origen de los ACPs.....	19
3.6. Predicción de las propiedades fisicoquímicas de los ACPs	19
3.7. Predicción de la estructura secundaria de los ACPs.....	20
3.8. Análisis de internalización de la membrana.....	20
3.9. Predicción de dianas biológicas	20
3.10. Predicción de propiedades ADMET	21
3.11. Predicción de la agregación de los ACPs	22
IV. CUESTIONES ÉTICAS	23
V. RESULTADOS.....	23
5.1. Predicción de la actividad anticancerígena.....	23
5.2. Verificación del origen de los ACPs	23
5.3. Predicción de las propiedades fisicoquímicas	24
5.4. Predicción de las propiedades estructurales y agregación	28
5.5. Predicción de la interacción con la membrana.....	33
5.6. Interacción de los péptidos con dianas biológicas.....	36
5.7. Evaluación de las propiedades ADMET	70
VI. DISCUSIÓN.....	74
6.1. Identificación y posible origen de los ACPs predichos	74
6.2. Péptidos con posible mecanismo de interrupción de la membrana.....	75
6.3. Péptidos con potencial interacción con dianas moleculares	76
6.4. Propiedades ADMET de los ACPs predichos	78

VII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	80
VIII. CONCLUSIONES.....	80
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ANEXOS.....	88

RESUMEN

Ciertas moléculas presentes en los tejidos de cocodrilos, asociadas a su potente sistema inmune, muestran actividad antimicrobiana y anticancerígena, incluyendo péptidos bioactivos con potencial terapéutico. En este contexto, los cocodrilos poseen Péptidos Antimicrobianos (AMPs), algunos con actividad anticancerígena (ACPs), por ejemplo, los péptidos catiónicos KT2 y RT2, derivados de un péptido natural llamado leucocin. Recientemente, se observó que un extracto de órganos de *Crocodylus porosus* tenía actividad anticancerígena *in vitro*, la cual hipotéticamente se vinculó a ciertos ACPs novedosos predichos en el suero de *C. Porosus*. A pesar de ello, las propiedades fisicoquímicas y biológicas de esos ACPs predichos en tejidos de cocodrilo no fueron estudiadas. En tal sentido, la presente tesis busca caracterizar, de forma teórica, los ACPs derivados de *C. porosus*, incluyendo sus propiedades fisicoquímicas, estructurales, perfiles de Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad (ADMET) y posibles dianas biológicas. Para ello se emplearon tanto herramientas bioinformáticas en línea como *softwares* locales, tomando en cuenta las secuencias peptídicas de suero de *C. porosus* disponibles en la literatura. Como resultado se encontró que, a pesar de que la muestra provenía de tejidos de cocodrilo, la mayoría de los péptidos fueron de origen bacteriano o microbiano, destacando cinco péptidos (HFSLLMGSLFK, FMWAAMYSR, DLALHVHK, TYNAKFYK y LVDKLK) por su cationicidad y estructura secundaria de α -hélice, característicos de los ACPs con actividad anticancerígena comprobada. Además, otros seis péptidos con actividad anticancerígena (EPPEPRR, GFWESR, RPSVHK, YQFPPR, FEYGR y SSWKK) mostraron afinidad con dianas involucradas en la regulación de la muerte celular. Se predijo que estos péptidos podrían ejercer un efecto anticancerígeno mediante su interacción con proteínas clave de la vía apoptótica, incluyendo dianas proapoptóticas y antiapoptóticas. Estos péptidos podrían ser investigados en futuros estudios experimentales que validan los hallazgos de esta tesis, encaminados a descubrir ACPs prometedores para el desarrollo de nuevas terapias anticancerígenas.

Palabras clave: *Crocodylus porosus*, Péptidos antimicrobianos, anticancerígeno, *in silico*.

ABSTRACT

Certain molecules present in crocodile tissues, associated with their potent immune system, exhibit antimicrobial and anticancer activities, including bioactive peptides with therapeutic potential. In this context, crocodiles possess Antimicrobial Peptides (AMPs), some of which also display anticancer activity (ACPs), such as the cationic peptides KT2 and RT2, derived from a natural peptide known as leucrocin. Recently, an extract from *Crocodylus porosus* organs was observed to exert anticancer activity *in vitro*, which was hypothetically linked to certain novel ACPs predicted in *C. porosus* serum. However, the physicochemical and biological properties of these predicted ACPs from crocodile tissues had not been investigated. Therefore, the present thesis aims to theoretically characterize ACPs derived from *C. porosus*, including their physicochemical and structural properties, Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity (ADMET) profiles, and potential biological targets. To this end, both online bioinformatic tools and local software were employed, using peptide sequences from *C. porosus* serum reported in the literature. The results revealed that, although the sample originated from crocodile tissues, most of the peptides were of bacterial or microbial origin. Five peptides (HFSLLMGSLFK, FMWAAMYSR, DLALHVHK, TYNAKFYK, and LVDKLLK) were notable for their cationicity and α -helical secondary structure, features characteristic of ACPs with proven anticancer activity. In addition, other six anticancer peptides (EPPEPRR, GFWESR, RPSVHK, YQFPPR, FEYGR, and SSWKK) showed affinity for targets involved in the regulation of cell death. It was predicted that these peptides may exert anticancer effects through interactions with key proteins of the apoptotic pathway, including both pro- apoptotic and anti-apoptotic targets. These peptides could be evaluated in future experimental studies to validate the findings of this thesis, with the goal of identifying promising ACPs for the development of novel anticancer therapies.

Keywords: *Crocodylus porosus*, antimicrobial peptides, anticancer, *in silico*.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Péptidos anticancerígenos (ACPs)

1.1.1. Descripción general de los ACPs

Los AMP (péptidos antimicrobianos) son oligopéptidos compuestos por entre 5 y 100 aminoácidos, los cuales pueden ser sintetizados naturalmente de dos formas: síntesis ribosomal y no ribosomal (1). Los péptidos ribosomales, son aquellos que son sintetizados por ribosomas. Por otro lado, los péptidos de origen no ribosomal son sintetizados a través de sistemas enzimáticos multifuncionales, como las sintetetas de péptidos no ribosómicos (NRP) y las sintetetas de policétidos (PK). Estas enzimas modifican los péptidos a través de acilación, heterociclación, N-metilación, ciclización y glicosilación para producir antimicrobianos activos(1). Los AMPs se encuentran de manera natural en el sistema inmunitario innato de diversas especies, incluyendo bacterias, plantas, vertebrados e invertebrados(2–4). Dichos péptidos, especialmente catiónicos, son capaces de matar las células bacterianas debido a la interacción con la carga negativa en las membranas(5).

Algunos AMPs han demostrado que tienen como objetivo células tumorales, los cuales reciben el nombre de Péptidos anticancerígenos (ACPs). La explicación de su actividad anticancerígena se atribuye a que al igual que las células bacterianas, las células cancerosas contienen componentes lipídicos y proteicos con carga negativa en su superficie celular. Al ser reconocidas por los ACPs, la membrana, se desestabiliza, desencadenando un efecto de citotoxicidad y lisis de las células cancerosas. Dicho reconocimiento entre los ACPs y la membrana de células tumorales obedece al hecho de que los ACPs poseen habilidad para enlazarse a la fosfatidilserina (PS), que en las células cancerosas se encuentran localizadas en la parte externa de la membrana(4,5). Un ejemplo de ACPs en los humanos son las Catelicidinas LL37 provenientes de la saliva, las cuales presentan actividad anticancerígena por medio de la permeabilización de la membrana e inducción de la apoptosis(4).

1.1.2. Propiedades fisicoquímicas

Los ACP a menudo poseen menos de 100 aminoácidos, pero en su mayoría se encuentran

entre 20 a 30 aminoácidos. Estos son usualmente anfipáticos, catiónicos y altamente hidrofóbicos a pH fisiológico de 7, con un peso molecular menor a 10 kDa(5). En particular, los ACPs poseen un elevado punto isoeléctrico (pI), especialmente en el extremo C-terminal, lo que indica que son péptidos altamente catiónicos a pH neutro, facilitando la interacción electrostática con las membranas cargadas negativamente como las de las células cancerosas(6). La principal fuerza impulsora para las interacciones entre los péptidos y la membrana en células sanas son las interacciones hidrofóbicas, mientras que entre los ACPs y la membrana de las células cancerosas serían las interacciones electrostáticas (7).

Otro parámetro importante descrito en los ACPs es el índice de Boman, el cual se calcula mediante la suma de las energías libres de las cadenas laterales de los aminoácidos dividido entre el número total de residuos del péptido(8). Si bien esta no es una propiedad fisicoquímica, es un parámetro que ayuda a describir y clasificar a los ACPs. El índice de Boman fue propuesto por Boman para calcular el potencial de los péptidos para unirse a otras proteínas (como receptores) o membranas. Se supone que un péptido con un valor de índice de Boman calculado $>2,48$ kcal/mol tiene un alto potencial de unión. Además, los péptidos que tienen un alto índice de Boman sugieren sus múltiples funciones en la célula debido a su tendencia a interactuar con diferentes tipos de proteínas(9). Así, ACPs con alto índice de Boman, se espera que interactúen con proteínas receptoras que, por ejemplo, podrían ser promotoras de mecanismos de muerte celular.

1.1.3 Propiedades estructurales

Se han descrito 4 tipos de conformaciones en los AMPs/ACPs que incluyen la β - plegada, α - hélices, extendidas y cíclicas (Fig. 1) (10). De las conformaciones mencionadas, las α - hélices son las más estudiadas debido a las propiedades catiónicas y anfipáticas que aumentan la actividad anticancerígena. Según la estructura de la membrana celular, excluyendo la cabeza polar de los fosfolípidos, la cola apolar de los fosfolípidos forma un ambiente hidrófobo; por lo tanto, las interacciones hidrofóbicas entre los ACPs de hélice α y el núcleo hidrofóbico de la membrana celular deberían desempeñar un papel clave en la actividad biológica (11). Las magaininas y cecropinas son algunos ejemplos de ACPs con este tipo de conformación.

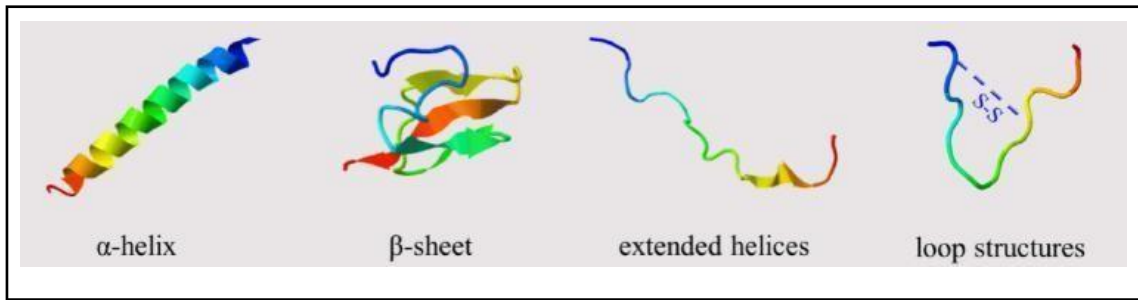


Figura 1. Representación gráfica de las diferentes conformaciones espaciales que pueden presentar los ACPs. a) Péptido con estructura alfa helicoidal, b) Péptido con estructura beta plegada, c) Péptido con estructura hélices extendidas, d) Péptido con estructura cíclica. Tomado de Ziyi Dong et.al., 2024.

Por otro lado, los ACPs de conformación β - plegadas presentan 2 o más enlaces disulfuro, dándoles una buena estabilidad. Por ejemplo, en las defensinas, los puentes disulfuro proveen estabilidad estructural y minimizan la degradación por proteasas (3). En general, la actividad antitumoral de las ACPs β -plegadas es más baja que las α -helicoidales, sin embargo, las ACPs plegadas en β presentan una menor toxicidad en células sanas (10). Por otra parte, la capacidad de oligomerización es otra característica importante en estos péptidos. La interacción entre dímeros o trímeros de ACPs despliega un mayor efecto citotóxico en la célula cancerosa objetivo (12).

También están las estructuras de hélices extendidas, que generalmente se presenta en un péptido lineal rico en residuos de prolina y arginina o triptófano, como el AMP derivado de bovino (indolicidina) y el AMP derivado de *Drosophila* (drosocina) y las estructuras en bucle o estructura cíclica, con la que los AMP a menudo contienen un enlace disulfuro intramolecular en el extremo C para formar un bucle, mientras que el extremo N es una estructura lineal, que forma una estructura de cadena cíclica, como el AMP derivado de neutrófilos bovinos (bactenecina) y el AMP derivado de piel de rana (brevininas)(13) .

1.2. Mecanismos de acción anticancerígena de los ACPs

1.2.1. Interacción con la membrana

La unión de los ACPs con la membrana plasmática ocurre a través de interacciones

electrostáticas con la superficie de las células cancerosas o también con receptores de muerte celular (4,12) . Además y como se mencionó antes, los ACPs reconocen con mayor afinidad a las células cancerosas que a las células normales, lo cual tendría su explicación en los cambios de los componentes lipídicos en la célula neoplásica (2). La membrana de las células cancerosas posee una naturaleza fuertemente aniónica debido a la abundancia de ciertos fosfolípidos como la fosfatidilserina y de otras moléculas de naturaleza aniónica como las mucinas O-glicosiladas, los gangliósidos sialilados y el sulfato de heparina. Dichos componentes normalmente se encuentran en la parte interna de la membrana, pero son trasladados a la superficie celular en las células cancerosas (2). Se han identificado cuatro modelos para explicar cómo los ACPs interactúan con la membrana celular (Fig. 2). El primero es el modelo “*barrel-stave*”, donde los péptidos catiónicos de α -hélice (como cecropina B y el péptido de veneno de abeja) empiezan uniéndose a la membrana por atracción electrostática. Luego, la conformación de los AMP cambia, es decir, los AMP insertan perpendicularmente su región hidrofóbica en el núcleo hidrofóbico de la membrana celular. A partir de entonces, los monómeros de AMP se auto agregarán en el polímero de hélice α con su lado hidrofílico constituyendo el canal hueco en forma de barril y se insertarán en los núcleos de membrana hidrofóbica más profundamente, formando poros transmembrana transitorios que pueden alterar los gradientes de iones y el potencial transmembrana y eventualmente conducir a la muerte celular. Vale la pena señalar que el modelo de “*barrel-stave*” no puede explicar el efecto de disrupción de la membrana de los AMP con menos de 23 aminoácidos, ya que los AMP deben ser lo suficientemente largos para pasar a través de la membrana celular en este modelo (13).

El segundo modelo es el tipo “*carpet*”, en el cual una gran cantidad de ACPs, generalmente α -helicoidales, se agrupan de manera paralela a la membrana sin penetrar en las bicapas lipídicas. Cuando la concentración de péptidos alcanza un nivel elevado, los monómeros giran y se reorientan hacia la zona hidrofóbica de la membrana, lo que provoca la formación de micelas y la desintegración de la membrana (4).

El tercer modelo, conocido como modelo de “*toroidal pore*”, describe cómo los ACPs se disponen inicialmente de manera paralela a la membrana. A medida que su concentración aumenta, se orientan perpendicularmente a la membrana, lo que facilita la formación de un complejo dinámico supramolecular entre péptidos y lípidos. Este complejo genera poros transmembrana, donde la parte exterior del poro está formada por los residuos

hidrofílicos del péptido y las cabezas hidrofílicas de los fosfolípidos (4). A diferencia del modelo de “*barrel-stave*”, las partes hidrófilas de los AMP y las cabezas hidrofílicas de los lípidos superior e inferior siempre miran juntas hacia el centro de los poros y los AMP no son necesarios para pasar a través de toda la bicapa de fosfolípidos; por lo tanto, este modelo puede explicar el efecto de algunos AMP cortos. Los estudios han demostrado que los AMP como la melitina y la protegrina-1 funcionan a través del modelo de “poro toroidal” (13).

De manera similar al modelo de “*toroidal pore*”, en el modelo de “*agregate*”, los AMP primero son atraídos electrostáticamente a la membrana de la célula tumoral. Luego, los AMP se combinan con lípidos para formar complejos micelares, y los agregados se insertan en la membrana celular, formando poros transmembrana dinámicos. La diferencia con el modelo de “*toroidal pore*” es que los AMP que funcionan a través del modelo de “*agregate*” no tienen una orientación específica y, por lo general, solo hay un AMP ubicado en el centro del agregado (13).

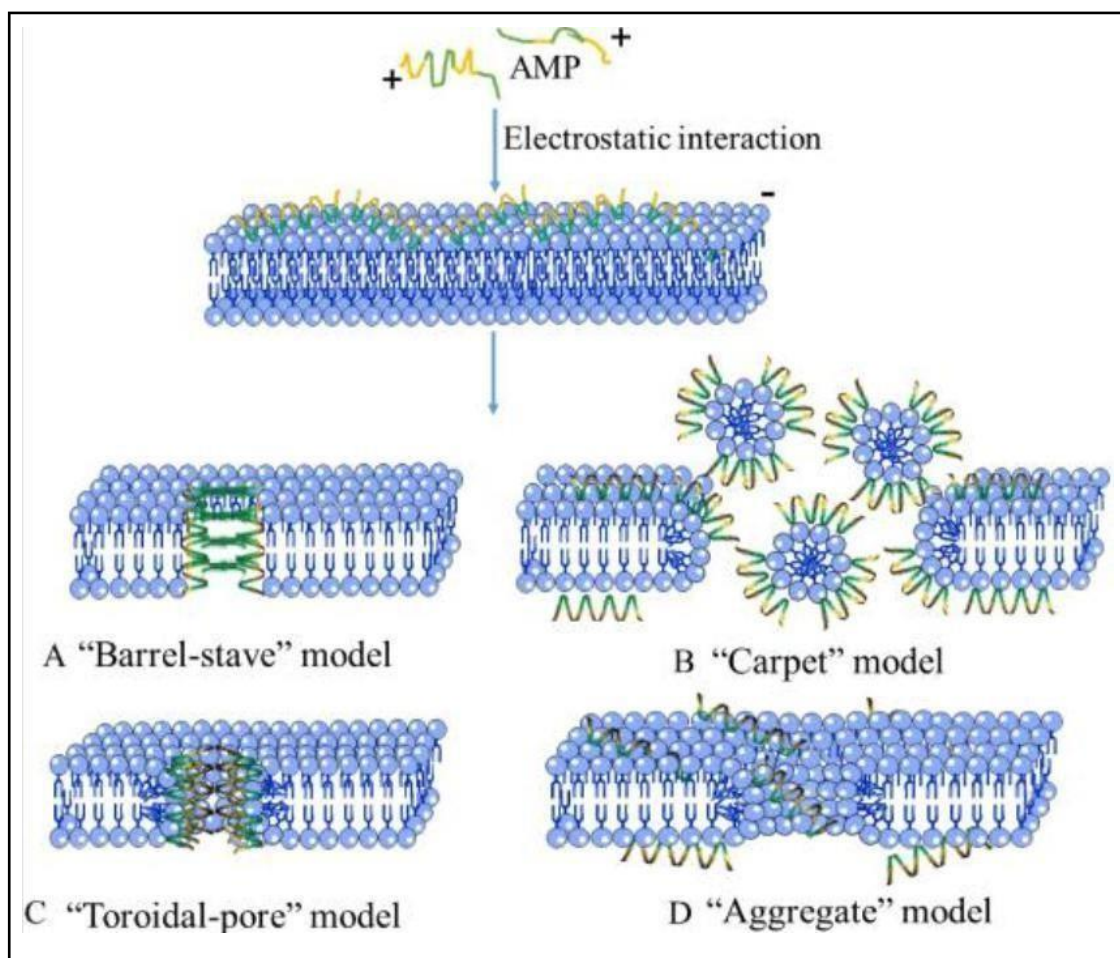


Figura 2. Representación gráfica de los modelos más significativos de interacción electrostática de los AMPs catiónicos con la membrana en células cancerosas. Donde las cargas están representadas como carga positiva (+) y negativa (-). A) modelo “*barrel-stave*”, B) modelo de “*carpet*”, C) modelo de “*toroidal-pore*”, D) modelo “*aggregate*”. Tomado de Ziyi Dong et.al 2024.

1.2.2. Estimulación de vías apoptóticas por los ACPs

Las células cancerosas, sin importar su origen o tipo, suelen ser resistentes a la apoptosis, lo cual resulta en un retraso en la muerte celular y un crecimiento descontrolado (14). En este sentido, algunos ACPs pueden afectar a los factores reguladores de la apoptosis en las células cancerosas, activando así la muerte celular. Ello sucede en los KT2 y RT2, que son dos variantes de la Leucrocina I (NGVQPKY), un ACP proveniente de la sangre de *Crocodylus siamensis* (15). Tanto KT2 y RT2 pueden actuar como ligandos de receptores de muerte (como TNFR1, Fas o TRAIL R2) al interactuar con la membrana de la célula cancerosa, induciendo así la vía extrínseca de la apoptosis (12).

Así mismo, otros ACPs pueden activar la vía intrínseca de la apoptosis siendo principalmente aquellos que siguen el modelo de poro toroidal, el cual les permite a los péptidos ingresar al interior de la célula e interactuar con la membrana mitocondrial, activando la muerte celular programada (4). Normalmente, la vía intrínseca es regulada por las proteínas de la familia Bcl-2 y promueve la permeabilización de la membrana externa mitocondrial, efecto conocido como MOMP. Ello permite la liberación de factores proapoptóticos como el citocromo-c y el segundo activador de caspasa derivado de la mitocondria (SMAC) y Omi (también conocida como HtrA2, una proteasa serina mitocondrial que favorece la apoptosis al inhibir a las proteínas antiapoptóticas de la familia IAP), que en consecuencia permiten la formación del apoptosoma que conduce a la muerte celular (14). Uno de los péptidos que estimula la mencionada vía intrínseca de la apoptosis es CecropinXJ (WKIFKKIEKMGRNIRDGIVKAGPAIEVLGSAKAIGK), proveniente de gusanos de seda *Bombyx mori* (4). Específicamente, cecropin XJ ha reportado actividad contra distintos tipos de cáncer como leucemia, estómago, esófago y hepático a través de la interacción con la membrana mitocondrial (12). Otro ejemplo, es la buforina IIB (RAGLQFPVG[RLLR]3), un ACP derivado de la histona H2A, capaz de

atravesar la membrana de la célula tumoral sin sufrir daño, actuar sobre las mitocondrias, liberar citocromo-c y activar la proteína de apoptosis caspasa-9 e inducir la apoptosis en células de cáncer de cuello uterino (Hela) por la vía mitocondrial (13,15).

1.2.3. Efecto anticancerígeno de los residuos de aminoácidos en ACPs

Estudios previos han demostrado que ciertos residuos de aminoácidos presentan diferentes acciones anticancerígenas en los ACPs (5,7). Así, los residuos catiónicos como la lisina, arginina e histidina tienen características polares e hidrofílicas, por lo que causan un efecto de disrupción de la integridad de la membrana celular, conduciendo a citotoxicidad en las células cancerosas (5). En tanto, residuos aniónicos como el ácido glutámico y el ácido aspártico han mostrado tener un efecto antiproliferativo en células tumorales hepatocelulares (HepG2, Huh-7), y células tumorales pulmonares (HLE) (16). Así mismo, los residuos de cisteína en ACPs, no tienen un rol de selectividad o citotoxicidad en células cancerígenas, pero pueden estabilizar y mantener estructuras de dominios o motivos (5). Por ejemplo, en las defensinas, los enlaces disulfuro le otorgan una estructura estable y minimiza la degradación del ACP por proteasas (3). En particular, los ACPs de hojas beta plegadas, como la lactoferrina bovina, suelen presentar dos o más puentes disulfuros que estabilizan su estructura (10). En tanto, las prolinas y glicinas, son residuos alifáticos no polares que son clave para la flexibilidad conformacional de los péptidos, lo que permitiría una mejor interacción con la membrana y una mayor actividad citotóxica (6,10). Por otro lado, los dominios de triptófano en péptidos bioactivos son importantes para la penetración de dichas moléculas a través de la membrana (17). La biodisponibilidad y estabilidad fisiológica de los ACPs también es influenciada por la cantidad y secuencia de los aminoácidos del péptido, por lo que en algunos estudios se han modificado las secuencias de los ACPs para mejorar su actividad anticancerígena. (4,6)

1.3. Estudios computacionales en ACPs

Los estudios *in silico* en los ACPs se han conducido para descifrar el mecanismo de acción o el tipo de interacciones establecidas por estos péptidos ya sea con la membrana o con diferentes dianas celulares, usando simulaciones en computadora. Por ejemplo, según Ramos-Martin (18), se caracterizó la interacción entre las membranas celulares y

la Cecropina XJ, un ACP de la familia de Cecropinas B, presente en las larvas de los gusanos de seda (*Bombyx mori*) (18). Mediante simulaciones de dinámica molecular se describió la conformación de Cecropina XJ en complejo con componentes de la membrana celular, incluidas la fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina. Además, se reportó la presencia de 3 dominios conservados que serían determinantes en el reconocimiento de las membranas celulares (18). Así también según Quemé-Peña (19), usando vesículas endocíticas y simulaciones computacionales, revelaron la forma de interacción de 5 ACPs helicoidales con componentes de la membrana. Los autores concluyeron que su estructura helicoidal, orientación y área de interacción con la superficie celular es determinante para su acción anticancerígena (19).

La amplia variedad de dianas que son atacadas y destruidas por los AMPs/ACPs ha despertado gran interés por estos péptidos y varios están siendo investigados en ensayos clínicos (5). Dicho logro ha sido posible, entre otras cosas, gracias a la predicción de las propiedades ADMET (Absorción química, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) de dichos péptidos bioactivos. Dichas propiedades se determinan computacionalmente durante el diseño de fármacos y cualquier compuesto que vaya a ser evaluado en ensayos preclínicos y clínicos (20). Así, un fármaco ideal, debe ser absorbido en el cuerpo, tener una distribución que permita alcanzar a varios tejidos y órganos, ser metabolizado de una manera en la que no pierda inmediatamente su actividad, ser eliminado de una manera correcta y no presentar toxicidad (21). Dichas condiciones también deben ser cumplidas por los AMPs/ACPs para ser testeados en pacientes, para lo cual se emplean programas computacionales como primera aproximación, que siguen diferentes métodos de *Machine Learning* incluídos *Support vector Machine* (SVM), *artificial neural network* (ANN), *recursive partitioning* (RP), o *bayesian naive* (BN) (20). De esta

manera los estudios *in silico* han contribuido al conocimiento y descripción de AMPs/ACPs y sus mecanismos de acción, a través de predicciones y aproximaciones de bajo costo, pero de gran eficiencia.

1.4. Presencia de AMPs/ACPs en cocodrilos

Los ACPs se encuentran en una gran variedad de organismos (10), incluyendo los cocodrilos, los cuales han sido objetivo de búsqueda como fuente de péptidos, debido a su potente sistema inmune que los protege contra infecciones por bacterias, hongos y

virus (22). Por ejemplo, se ha descrito un péptido catiónico en cocodrilos, cOT2, derivado de la ovotransferrina y presentes en los huevos de cocodrilo siamés (*Crocodylus siamensis*) (23). Esta molécula mostró una fuerte actividad antimicrobiana contra *Vibrio cholerae*. Otros péptidos de cocodrilos son las β -defensinas, que si bien no presentan actividad anticancerígena, inhiben el crecimiento bacteriano y la formación de *biofilm* (22).

Por otra parte, las leucocinas modificadas, como KT2 y RT2, han demostrado actividad anticancerígena además de su efecto antibacteriano (24–26). Estas variantes fueron diseñadas artificialmente a partir de las leucocinas originales (NGVQPKY-NH₂), añadiendo residuos catiónicos y modificando su estructura para optimizar sus propiedades fisicoquímicas y estructurales. Las leucocinas originales, aisladas de leucocitos de cocodrilos, exhiben fuerte actividad contra *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typhi* y *Vibrio cholerae*, atribuida tanto a su carga positiva (+1) como a su alto nivel de hidrofobicidad (24).

1.5. Nuevos ACPs encontrados en cocodrilo

En 2020, se analizaron lisados de distintos órganos (intestino, ojos, riñones, pulmones, estómago, tráquea y corazón) y suero de *Crocodylus porosus* con el fin de evaluar su capacidad para inhibir el crecimiento celular y determinar su

citotoxicidad en líneas celulares cancerígenas *in vitro*. Los resultados mostraron que los lisados de tejidos de cocodrilo, incluidos tiroides, vesícula biliar, riñones, suero y pulmones, presentaron una inhibición del crecimiento y una citotoxicidad significativa en las líneas celulares mencionadas. Posteriormente, con el objetivo de identificar los compuestos responsables de este efecto anticancerígeno, se sometió el suero a un proceso de separación mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) (27). Donde se encontró 749 péptidos en las muestras evaluadas de suero de *C. porosus*. Al aplicarse métodos computacionales basados en el programa *Machine Learning of Anticancer Peptides* (MLACP) se predijo que 207 de estos péptidos eran posibles péptidos anticancerígenos (ACPs), considerando su composición tanto a nivel de aminoácidos como a nivel atómico CHONS (ATC) y sus propiedades fisicoquímicas (28). Para ello, el MLACP empleó dos métodos teóricos, el de “Predicción de péptidos anticancerígenos basados en máquinas vectoriales” (SVMACP) y el de “Predicción aleatoria de péptidos anti cancerígenos basada en bosques” (RFACP) (28).

II. HIPÓTESIS, PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS

2.1. Planteamiento del problema

El cáncer es un importante problema social, de salud pública y económico, donde las estadísticas mundiales para el año 2022 indicaron que hubo casi 20 millones de casos nuevos de cáncer y cerca de 10 millones de muertes por dicha patología (29). El tratamiento anticancerígeno actual incluye más de un centenar de fármacos aprobados, a pesar de lo cual, la búsqueda de nuevos compuestos antitumorales es continua y persiste. La necesidad de contar con nuevos fármacos anticancerígenos es, en parte debido a la farmacorresistencia que surge por la administración de fármacos anticancerígenos, como los quimioterapéuticos.

Además, los efectos secundarios ligados a la administración de drogas anticancerígenas complican el manejo medicamentoso de la enfermedad y aumentan la posibilidad de recurrencia, siendo necesarios nuevos esquemas farmacológicos incluyendo la inmunoterapia (30). Sin embargo, el descubrimiento de nuevos tratamientos no es sencillo y demanda esfuerzos multidisciplinarios. Con ese escenario, es razonable que se busquen nuevas alternativas de tratamiento, siendo de gran interés las moléculas de origen natural.

El hallazgo de que algunos péptidos antimicrobianos (AMPs) pueden destruir células neoplásicas ha abierto una nueva vía para el desarrollo de compuestos activos contra células transformadas. Recientemente se están realizando ensayos clínicos en varios medicamentos y vacunas basados en péptidos sintéticos. La librería nacional de medicina NLM (Niveles Nacionales de Medicina) de los Institutos Nacionales de Salud (NIH) proporciona y actualiza información sobre ensayos clínicos en el sitio web ClinicalTrials.gov. Se identificaron y buscaron un total de 792 estudios entre 1995 y 2019 con palabras clave como "cáncer", "péptido", "fármaco" o "biológico", excluyendo intervenciones con péptidos no anticancerígenos, como la conducta y la cirugía (5). Así también en los últimos años (2021-2023), se han aprobado 17 péptidos por parte de la FDA (*Food and drug administration*), lo que representa casi la mitad del total de péptidos aprobados durante la década anterior, que ascendió a 37 entre 2011 y 2020 (31). Este incremento refleja el creciente interés y avance en el desarrollo de terapias basadas en péptidos.

Los ACPs provienen de diversas especies entre mamíferos, plantas, aves, anfibios, peces, insectos y microbios, y varias revisiones han destacado la estructura, la actividad y el mecanismo de acción de estos (11), aunque hasta el momento ningún AMP/ACP de cocodrilo ha sido investigado en ensayos preclínicos y clínicos. Inclusive algunos ACPs de origen animal han sido modificados para mejorar sus propiedades, como es el caso del RT2, un tipo de AMP/ACP conocido como originalmente como leucrocina, que fue probado en modelos de ratón *nude mice* con injertos de cáncer de colon, mostrando actividad anticancerígena y promoviendo apoptosis a través de la activación de caspasas y p53. (32).

Sobre el mecanismo de acción, se sabe que la acción de los ACPs sobre células transformadas es mediada por su capacidad para alterar la membrana plasmática al unirse a fosfolípidos aniónicos o, en ciertos casos, a receptores de membrana. Los ACPs también poseen propiedades ventajosas como su baja toxicidad, alta penetración en tejidos, buena solubilidad, facilidad para ser modificadas, y una alta especificidad (33). Es así como los ACPs pueden convertirse en agentes terapéuticos atractivos, capaces de distinguir a células cancerígenas de células normales, a diferencia de la terapia anticancerígena convencional.

En ese sentido, un estudio determinó la presencia de 207 ACPs en suero de cocodrilo, utilizando el software MLACP que aplica algoritmos de *Machine Learning* para predecir la actividad anticancerígena. Los autores consideraron las propiedades fisicoquímicas y la secuencia de los ACPs, y los contrastaron con moléculas con demostrada actividad antineoplásica *in vitro* (27). Aunque este estudio logró identificar péptidos con actividad anticancerígena, no describió las propiedades ni el mecanismo de acción de los ACPs candidatos. Por lo tanto, no se sabe si los ACPs candidatos de cocodrilo ingresan al medio intracelular para promover la apoptosis o si despliegan su acción a nivel extracelular alterando las membranas, o si actúan a través de otros mecanismos.

En el presente estudio nos propusimos predecir las propiedades y posibles dianas de los ACPs candidatos de *Crocodylus porosus* utilizando herramientas bioinformáticas de análisis de secuencia peptídica. Recopilar esta información mejorará el conocimiento sobre los ACPs de cocodrilos y aumentará el interés en estos compuestos y su investigación como posibles candidatos anticancerígenos.

2.2. Pregunta de investigación

- ¿Cuáles son las propiedades fisicoquímicas, estructurales y las posibles dianas moleculares de los péptidos candidatos de *Crocodylus porosus* con potencial anticancerígeno?

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

Describir las características fisicoquímicas, estructurales, dianas moleculares potenciales y propiedades ADMET de ACPs candidatos de *C. porosus* aplicando métodos bioinformáticos.

2.3.2. Objetivos específicos

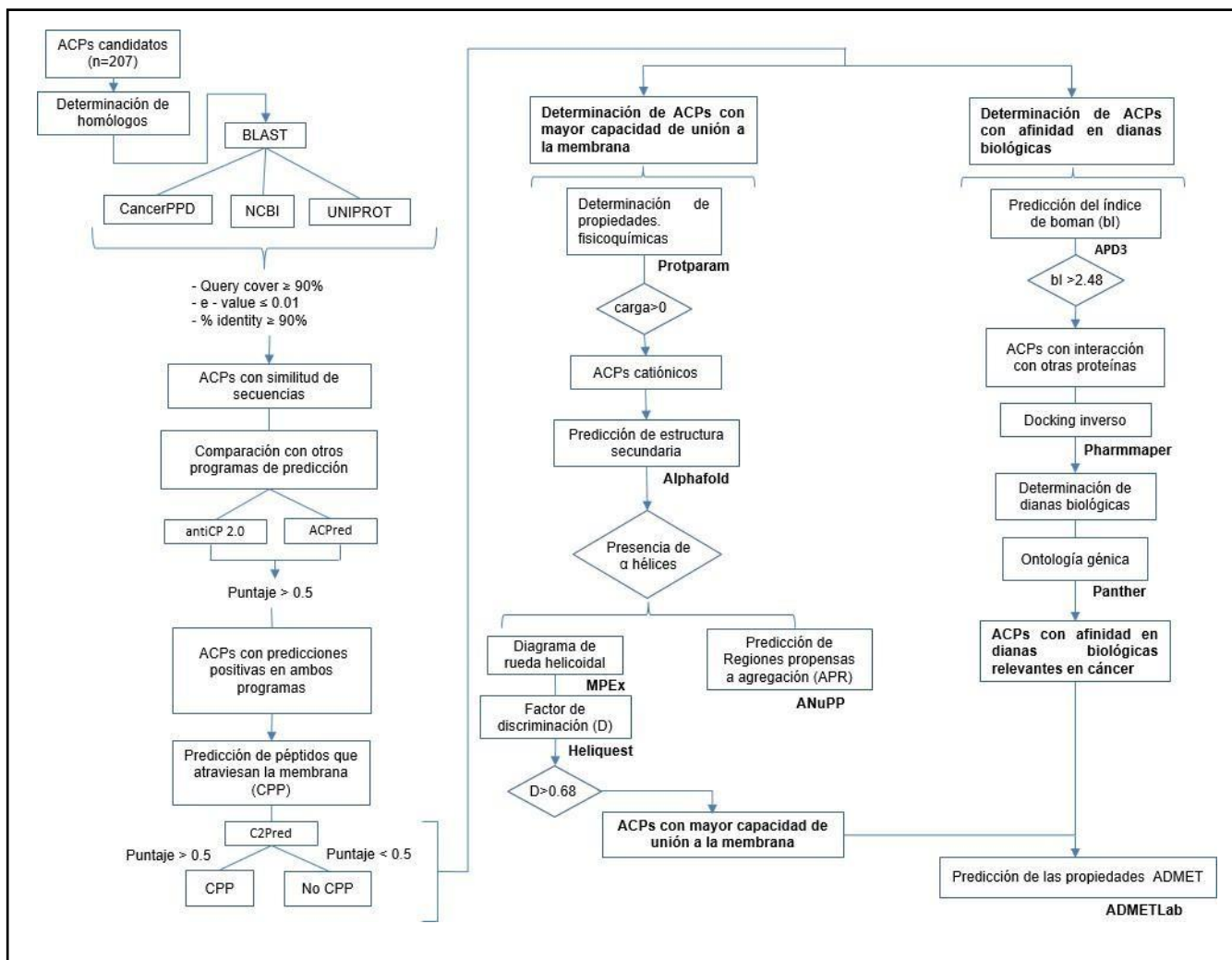
- a) Describir las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los ACPs candidatos.
- b) Evaluar *in silico* la probabilidad de que los ACPs candidatos atraviesen la membrana
- c) Predecir dianas protéicas en células humanas de los ACPs

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.-Diseño del estudio

El presente fue un estudio íntegramente *in silico*, con un diseño no experimental, observacional, retrospectivo, haciendo uso de datos disponibles en recursos públicos. La Fig. 3 muestra los procedimientos y los recursos bioinformáticos empleados en la investigación.

Figura 3. Flujoograma del estudio



3.2.-Recursos bioinformáticos

Por su naturaleza, el estudio empleó una variedad de programas de libre acceso (Tabla 1).

Tabla 1. Recursos bioinformáticos

Nombre del recurso	Enlace	Información obtenida	Referencia
--------------------	--------	----------------------	------------

AntiCP 2.0	https://webs.iiitd.edu.in/raghava/anticp2		(34)
ACPred	http://codes.bio/acpred/	Predicción de ACPs	(35)
Protparam	https://web.expasy.org/protparam/	Propiedades físicoquímicas	(36)
APD3	https://aps.unmc.edu/AP/		(37)
C2Pred	http://lin-group.cn/server/C2Pred	Capacidad de atravesar la membrana	(38)
ADMET Lab 2.0	https://admetmesh.scbdd.com/	Estabilidad de los candidatos a condiciones fisiológicas	(21)
Pymol	https://www.pymol.org/	Estructura secundaria	(39)
Alphafold	https://alphafold.ebi.ac.uk/		(40)
Pharmmapper	https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/	Posibles dianas biológicas	(41)

Panther	https://www.pantherdb.org/	Ontología	(42)
ANuPP	https://web.iitm.ac.in/bioinfo2/anupp/about /	Agregación	(43)
BLASTp	https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi	Similitud de secuencias	(44)

3.3.-Obtención de las secuencias de ACPs candidatos

Las secuencias de los 207 péptidos anticancerígenos analizados en este estudio se obtuvieron de la tabla de resultados publicada por Jayemogan et al. en el año 2020 (27), quienes predijeron dichos péptidos mediante herramientas bioinformáticas específicas para la identificación de ACPs. La tabla original se incluye como Anexo 1 de la presente tesis. Las secuencias se escribieron en formato FASTA para los análisis posteriores.

3.4.- Predicción de actividad anticancerígena

Se realizó una verificación inicial de la actividad anticancerígena de los 207 ACP candidatos reportados en este estudio, usando los programas AntiCP 2.0 (<https://webs.iiitd.edu.in/raghava/anticp2>) y ACPred (<http://codes.bio/acpred/>). El primero utiliza un modelo de SVM (*Support vector machine*), que considera diversas características derivadas de las secuencias de aminoácidos, como composiciones de aminoácidos, dipéptidos y propiedades fisicoquímicas, para entrenar dicho modelo SVM

(34). Mientras que ACPred utiliza una combinación de modelos de aprendizaje automático, incluyendo SVM (*Support vector machine*) y RF (*Random forest*),

para predecir la actividad anticancerígena de los péptidos (35). Para el proceso se ingresaron las secuencias de los 207 péptidos iniciales en formato FASTA. Las secuencias que obtuvieron una predicción con puntuación positiva (>0.5) en ambos programas, fueron seleccionadas y tabuladas en una hoja de cálculo de Excel para las siguientes pruebas del estudio.

3.5.- Confirmación del origen de los ACPs

A continuación, se realizó un análisis BLAST únicamente para los ACPs que cumplieron los criterios establecidos en la predicción de actividad anticancerígena según se indicó

antes (sección 3.4), con la finalidad de confirmar si dichos péptidos pertenecen al organismo de origen (*Crocodylus porosus*). Para ello, solo las secuencias en formato FASTA del paso 3.4 fueron ingresadas una por una utilizando la base de datos “*non-redundant protein sequences*” (nr) en el programa BLASTp del NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) aplicando los siguientes criterios de filtrado: cobertura de consulta (*query cover*) $\geq 90\%$, valor e (*e-value*) ≤ 0.01 y porcentaje de identidad $\geq 90\%$. Los resultados obtenidos fueron organizados y tabulados en una hoja de Excel.

3.6.- Predicción de las propiedades fisicoquímicas de los ACPs

En esta etapa, se analizaron sólo los péptidos que cumplieron los criterios impuestos tanto en el BLAST (sección 3.5) como en la predicción de actividad anticancerígena con las pruebas de machine learning (sección 3.4).

Usando el programa ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam>) se determinaron las principales propiedades fisicoquímicas de los péptidos seleccionados. Para ello, se ingresaron las secuencias individuales en formato FASTA en ProtParam, eligiendo los siguientes parámetros fisicoquímicos: peso molecular (MW), carga neta, punto isoeléctrico (pI) y el GRAVY (*Grand average*

of hydrophobicity). Dichas características se tabularon por cada péptido.

3.7.- Predicción de la estructura secundaria de los ACPs

Considerando las propiedades descritas en la sección anterior, se seleccionaron solo los péptidos catiónicos (carga neta > 0), ya que tendrían mayor atracción electrostática con la membrana. Seguidamente, sus secuencias se ingresaron en formato FASTA en el programa AlphaFold (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) para predecir sus estructuras secundarias, dejando los parámetros en valores predeterminados. A continuación, se descargaron las estructuras predichas en formato “pdb” y se visualizaron en Pymol (<https://www.pymol.org/>). Posteriormente, se seleccionaron los péptidos que presentaban estructuras de α -hélices y β -plegadas para las pruebas subsecuentes, mientras que los péptidos con estructuras no definidas fueron descartados.

3.8.- Análisis de internalización de la membrana

Para la predicción de péptidos que atraviesan la membrana y que interactúan con dianas intracelulares o con la membrana mitocondrial, se aplicó el programa C2Pred (<http://lin-group.cn/server/C2Pred>), donde se ingresaron las secuencias en formato FASTA de los péptidos seleccionados. El programa es capaz de predecir si los péptidos son CPP (Cell penetrating peptides), es decir péptidos con la capacidad de atravesar la membrana. Los péptidos con un valor de predicción > 0.5 fueron clasificados como CPP, y tabulados en hojas de cálculo.

3.9.- Predicción de dianas biológicas

En primer lugar, se obtuvo el Índice de Boman en los ACPs consultando la base de datos APD3, utilizando la función de “*AMPs calculator*” dejando los parámetros en sus valores predeterminados. Para ello, se ingresaron en formato FASTA las secuencias peptídicas seleccionadas en la predicción de actividad anticancerígena

(sección 3.3). El índice de Boman es un parámetro que indica el potencial de los péptidos para interactuar con otras proteínas. En este estudio, se seleccionaron los péptidos con valores de índice de Boman ≥ 2.48 , basado en investigaciones previas que mencionan este valor como un umbral para una alta afinidad de unión a proteínas (9).

Posteriormente, las secuencias seleccionadas en formato FASTA se sometieron a predicción estructural mediante AlphaFold, generando modelos tridimensionales de cada péptido en formato PDB. Seguidamente, los modelos se visualizaron y se convirtieron a formato mol2 utilizando PyMOL, dado que este formato es requerido por PharmMapper para la predicción de dianas biológicas. Finalmente, se ingresaron los archivos mol2 a la plataforma PharmMapper (<https://www.lilab-ecust.cn/pharmmapper/>), seleccionando la opción de “solo objetivos potenciales en humanos”, y solo las 10 primeras predicciones con mejor puntuación. Los resultados se organizaron en tablas que incluyeron el nombre de las dianas, su código de identificación (ID) de UniProt y el puntaje normalizado generado automáticamente por dicho programa en cada predicción.

Finalmente, se evaluó la ontología génica de cada diana predicha en el paso anterior, colocando sus IDs de Uniprot en el programa Panther (<https://pantherdb.org/>). El resultado de la ontología brindó información sobre la función molecular, el rol en los procesos biológicos y el componente celular de cada diana predicha, lo que permitió corroborar si las potenciales dianas estaban involucradas en procesos relacionados con la carcinogénesis. Los resultados de cada diana predicha, con su función se tabularon en tablas separadas para cada péptido.

3.10.- Predicción de propiedades ADMET

La estimación de los parámetros ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad) se realizó con el programa ADMETLab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/>), para predecir la estabilidad de los péptidos en condiciones fisiológicas. La estimación de ADMET es comúnmente hecha para fármacos, pero en este caso se aplicó a los péptidos de interés.

Primero se ingresó las secuencias de los péptidos seleccionados al programa Novopro (<https://www.novoprolabs.com/tools/convert-peptide-to-smiles-string>) para transformar los péptidos de formato FASTA a formato SMILES. Seguidamente se empleó el programa ADMETLab 2.0 (<https://admetmesh.scbdd.com/>) para realizar la estimación de los parámetros ADMET. Así, para medir la absorción se analizó el valor de HIA (Absorción intestinal humana), así como la permeabilidad en células de la barrera intestinal Caco-2. Para la medición de la distribución se analizó el volumen de distribución de la molécula en el organismo (VD), el PPB (*Plasma protein binding*), que es un indicador de la unión entre la molécula y proteínas en la sangre (21). Se evaluó si el péptido podría actuar como inhibidor o sustrato de las enzimas CYP1A2 y CYP3A4, para estimar su posible efecto sobre el metabolismo. Así mismo, para la excreción se estimó el CL (*Clearance*) que según ADMET lab (<https://admetlab3.scbdd.com/explanation/#/>) es un parámetro farmacocinético que mide la eficiencia con la que un fármaco es eliminado del cuerpo y la vida media ($t_{1/2}$) que mide el tiempo necesario para que la concentración del fármaco en el plasma se reduzca al 50%. Finalmente, para la toxicidad según (<https://www.nature.com/articles/s41597-024-03793-0>) se midió el bloqueo de los canales iónicos de HERG (*Human Ether-à-go-go- Related Gene*), que se encuentra relacionado a los ataques cardíacos, el daño hepático DILI (Daño Hepático Inducido por Fármacos), la toxicidad AMES y carcinogenicidad. Los valores de las propiedades descritas se tabularon en una tabla de resultados.

3.11.- Predicción de la agregación de los ACPs

Para predecir la agregación de los péptidos, se utilizó el programa ANuPP (<https://web.iitm.ac.in/bioinfo2/anupp/about/>), diseñado para identificar regiones potencialmente propensas a la agregación (APRs). Los péptidos seleccionados por su actividad anticancerígena predicha con las pruebas de *machine learning* (sección 3.4), se ingresaron en formato FASTA en la plataforma. Aunque no se empleó como criterio de selección de ACPs, este análisis se realizó con fines descriptivos para conocer la propensión a la agregación de los péptidos, ya que estudios Vaezí et al. (2020) sugieren que la agregación podría modular la actividad y selectividad de los ACPs (44). Los resultados obtenidos se

organizaron en una tabla que incluye la puntuación de la predicción y un indicador que señala si cada péptido presenta o no regiones propensas a la agregación.

IV.- CUESTIONES ÉTICAS

En el presente estudio no hubo sujetos participantes ni pruebas con animales ni células. Se obtuvo la exoneración de la aprobación del proyecto con registro SIDISI N° 209719, por el Comité Institucional de Ética de la UPCH (constancia CAREG-ORVEI-019-23). Los datos utilizados son de libre acceso para el público, por lo que su uso posterior es viable.

V.- RESULTADOS

5.1.- Predicción de actividad anticancerígena

Con el objetivo de confirmar la actividad anticancerígena de los 207 ACPs candidatos estimada por Jayemoyang et. al (27), estos se sometieron a una evaluación de propiedades anticancerígenas con los programas de Machine Learning AntiCP 2.0 y ACPred, los cuales estiman la probabilidad de que dichos péptidos sean ACPs. Se encontró que 48 ACPs candidatos tuvieron una predicción positiva en ambos programas, mientras que los otros 159 péptidos resultaron con predicciones favorables sólo en uno de los programas o en ninguno de ellos. Los resultados de estas estimaciones se tabularon en el Anexo 2, donde se le asignaron nuevas nomenclaturas a los péptidos analizados. Sólo los 48 ACPs predichos por AntiCP2.0 y ACPred fueron considerados para las pruebas siguientes.

5.2.- Verificación de origen de los ACPs

Se verificó el origen de los péptidos de estudio, para confirmar que los mismos procedían de *C. porosus*, para lo cual se realizó un análisis BLASTp de las 48 secuencias seleccionadas del paso anterior. La comparación se llevó a cabo contra la base de datos “*non redundant protein sequences(nr)*”, sin restringir la búsqueda a un organismo específico.

Los resultados mostraron que ninguna de las 48 secuencias presentó coincidencias

siguiendo los criterios mencionados en la metodología (Anexo 3). Además, las proteínas identificadas en el análisis pertenecían a organismos distintos a *C. porosus*, predominando diferentes especies de bacterias como *Acidovorax* o *Pseudomonas*, y en menor medida, arqueas, hongos y otros organismos. Sin embargo, a pesar de que los resultados del análisis no cumplieron los criterios de selección establecidos, se identificaron dos péptidos con coincidencias en especies de la clase sauropsida. Así, el pep 24 mostró similitud con proteínas de *Alligator mississippiensis*. Mientras que pep 40 mostró coincidencias con proteínas tanto de *C. porosus* como de *A. mississippiensis*, y *Gavialis gangeticus* (Anexo 3). A pesar de que la mayoría de péptidos no mostraron indicios de pertenecer a *C. porosus*, fueron analizados de acuerdo al protocolo de estudio por tratarse de ACPs con potencial anticancerígeno.

5.3.- Predicción de las propiedades fisicoquímicas

Se estimaron las propiedades fisicoquímicas de los 48 péptidos seleccionados, que incluyeron carga neta, peso molecular (MW), pI, tamaño, hidrofobicidad (Tabla 3). El tamaño de los péptidos osciló entre 5 a 11 residuos de aminoácidos, mientras que la media del MW fue de 0.81 kDa (Tabla 2). De igual manera, la carga neta de los péptidos a pH 7, osciló entre -1 y 2.5, encontrando que la mayoría (n=31) tenían una carga neta positiva (>0), mientras que 12 péptidos presentaron una carga neutra, y 5 péptidos mostraron una carga neta negativa. Por otro lado, los valores del punto isoeléctrico (pI) presentaron una media de 7.70, donde aquellos con pI menores a 7 serían péptidos aniónicos a pH neutro mientras que los péptidos con un pI elevados a 7, son catiónicos a ese mismo pH (Tabla 2).

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los 48 ACPs predichos de lisado de órganos y suero de *C. porosus*

Nombre	Secuencia	Tamaño (aa)	MW (kDa)	Carga neta (pH 7)	pI	GRAVY
pep1	HFSLLMGSLFK	11	1.28	1.1	8.76	0.89

pep2	LHPDFSSLLK	11	1.24	0	6.74	-0.04
pep3	TLPDTLTEWK	10	1.2	-1	4.37	-0.79
pep4	WVLFGFFPGR	10	1.23	1	9.75	0.86
pep5	HFFPDELWK	9	1.22	-0.5	5.32	-0.8
pep6	FMWAAMYSR	9	1.16	1	8.75	0.3
pep7	DLALHVHK	8	0.93	1	6.92	-0.03
pep8	FFPEDLWK	8	1,08	-1	4.37	-0.5
pep9	NNAHVLHK	8	0.9	2	8.76	-0.94
pep10	TYNAKFYK	8	1.03	2	9.52	-1.25
pep11	QFAPLFLK	8	0.96	1	8.75	0.75
pep12	LLDDLK	7	0.82	-1	4.21	0.61
pep13	HHVPVAK	7	0.78	2	8.76	-0.24
pep14	LSADTWK	7	0.81	0	5.84	-0.6
pep15	WLSVVPR	7	0.85	1	9.75	0.62
pep16	QPVYPWK	7	0.91	1	8.59	-1.22
pep17	LLTHVMK	7	0.84	1.5	8.76	0.84
pep18	YFTWLHK	7	0.99	1.5	8.6	-0.48

pep19	QMWVPNK	7	0.9	1	8.75	-1.04
pep20	YDLVIFYK	7	0.9	0	5.83	0.11
pep21	LYEWSLK	7	0.9	0	6	-0.4
pep22	EPPEPRR	7	0.87	0	6.24	-2.97
pep23	MWVFPER	7	0.96	0	5.75	-0.22
pep24	FFYPGK	6	0.75	1	8.59	-0.26
pep25	WAFPLK	6	0.76	1	8.75	0.33
pep26	WVDLDK	6	0.77	-1	4.21	-0.63
pep27	TFPLPK	6	0.7	1	8.41	-0.2
pep28	TFPPLK	6	0.7	1	8.41	-0.2
pep29	LLVSHK	6	0.69	1.5	8.76	0.65
pep30	LFDVYK	6	0.78	0	5.83	0.35
pep31	GFWESR	6	0.78	0	6	-1.21
pep32	WLLLEK	6	0.8	0	6	0.51
pep33	LVDKLNK	6	0.7	1	8.59	0.08
pep34	RPSVHK	6	0.7	2.5	11	-1.63
pep35	YQFPPR	6	0.8	1	8.75	-1.61

pep36	LMPMFR	6	0.7	1	9.75	0.71
pep37	DLLFK	5	0.6	0	5.84	0.6
pep38	FEYGR	5	0.6	0	6	-1.38
pep39	LPALK	5	0.5	1	8.75	0.78
pep40	SSWKK	5	0.6	2	10	-2.06
pep41	LPLLR	5	0.6	1	9.75	1.06
pep42	TLLSK	5	0.5	1	8.41	0.44
pep43	LFPLK	5	0.6	1	8.75	0.98
pep44	LTL SK	5	0.5	1	8.75	0.44
pep45	DLLLR	5	0.6	0	5.84	0.68
pep46	MYGTK	5	0.5	1	8.34	-0.88
pep47	YAPLR	5	0.6	1	8.75	-0.36
pep48	HTAYK	5	0.6	1.1	8.6	-1.46

También se calculó el valor de GRAVY para los péptidos en estudio, lo que permite estimar la tendencia hidrofóbica o hidrofílica de péptidos y proteínas. Los resultados mostraron que 27 péptidos tienen un valor de GRAVY negativo, indicando una tendencia hidrofílica, mientras que los otros 21 péptidos tienen un valor de GRAVY positivo, lo que sugiere que son más hidrofóbicos que los primeros.

5.4.- Predicción de las propiedades estructurales y agregación

Además de las propiedades fisicoquímicas, se predijeron también las estructuras 3D de los péptidos, donde 9 de los 48 péptidos presentaron estructuras α - hélice, mientras que los otros 39 péptidos restantes presentaban estructuras “random coil”, es decir que no poseen una estructura secundaria definida (Tabla 3).

Tabla 3. Predicción de la estructura secundaria y presencia de regiones propensas a agregación (APR) en los 48 ACPs predichos.

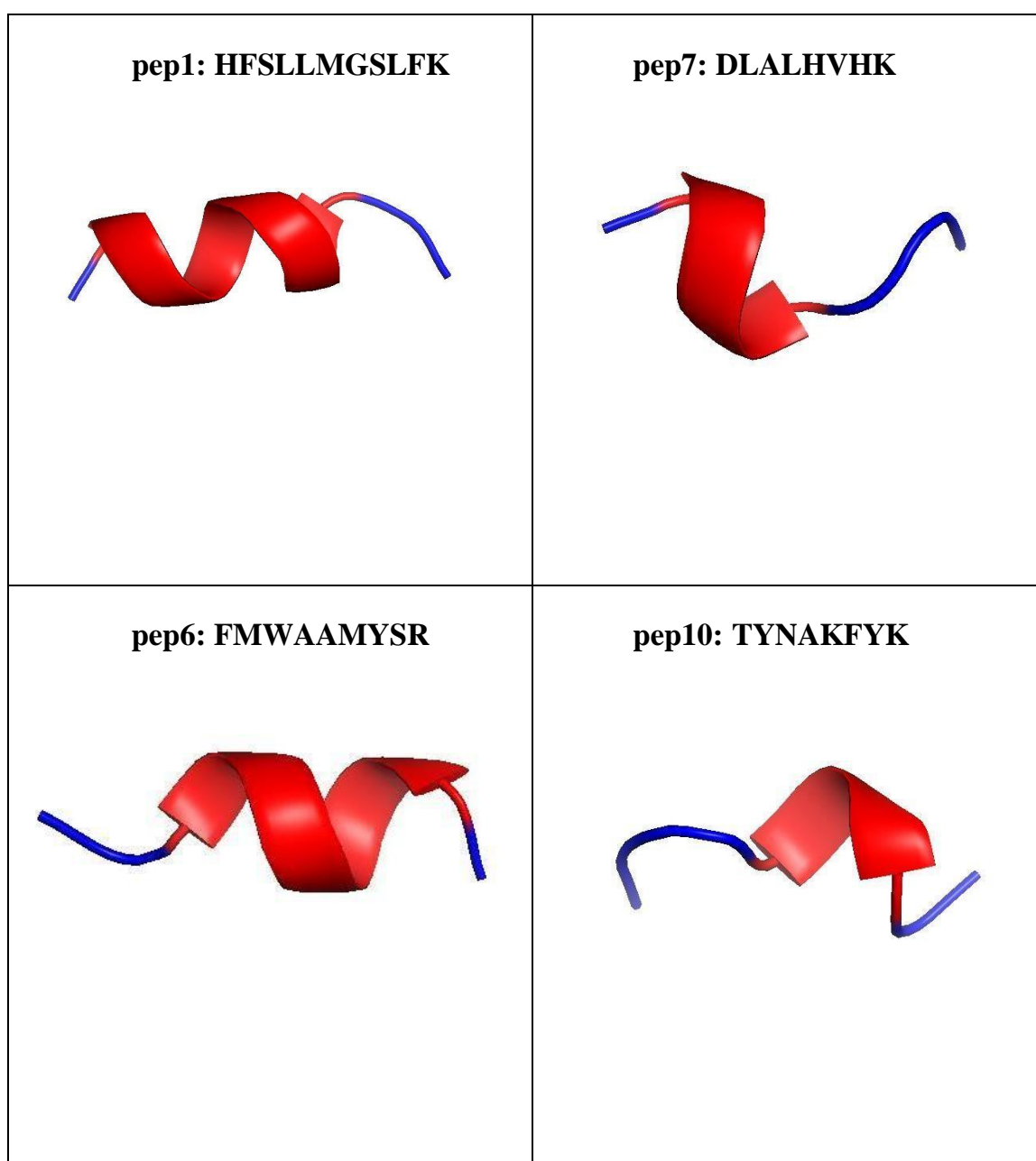
Péptidos		Estructura secundaria	Presencia de regiones propensas a agregación (APR)	Puntaje de las APR
Nombre	Secuencia			
pep 1	HFSLLMGSLFK	alfa hélice	si	3.10
pep 2	LHPDFSSSLK	random coil	no	2.36
pep 3	TLPDTLTEWK	alfa hélice	no	1.60
pep 4	WVLFGFFPGR	random coil	si	2.98
pep 5	HFFPDELWK	random coil	no	1.37
pep 6	FMWAAMYSR	alfa hélice	no	1.42
pep 7	DLALHVHK	alfa hélice	si	1.95
pep 8	FFPEDLWK	alfa hélice	no	0.93
pep 9	NNAHVLHK	random coil	si	1.77

pep 10	TYNAKFYK	alfa hélice	no	0.94
pep 11	QFAPLFLK	random coil	si	1.67
pep 12	LLDDLLK	alfa hélice	no	0.88
pep 13	HHVPVAK	random coil	si	1.30
pep 14	LSADTWK	random coil	no	0.52
pep 15	WLSVVPR	random coil	si	1.06

pep 16	QPVYPWK	random coil	no	0.85
pep 17	LLTHVMK	random coil	si	1.23
pep 18	YFTWLHK	random coil	si	1.09
pep 19	QMWVPNK	random coil	no	0.72
pep 20	YDLVFK	alfa hélice	si	1.25
pep 21	LYEWSLK	random coil	no	0.84
pep 22	EPPEPRR	random coil	no	0.35
pep 23	MWVFPER	random coil	no	0.91
pep 24	FFYPGK	random coil	no	0.43
pep 25	WAFPLK	random coil	no	0.42
pep 26	WVDLDK	random coil	no	0.28
pep 27	TFPLPK	random coil	no	0.34
pep 28	TFPPLK	random coil	no	0.29
pep 29	LLVSHK	random coil	si	0.63
pep 30	LFDVYK	random coil	si	0.62
pep 31	GFWESR	random coil	no	0.35
pep 32	WLLLEK	random coil	no	0.48

pep 33	LVDKLK	alfa hélice	no	0.38
pep 34	RPSVHK	random coil	no	0.30
pep 35	YQFPPR	random coil	no	0.25
pep 36	LMPMFR	random coil	no	0.34
pep 37	DLLFK	random coil	no calculable	no calculable
pep 38	FEYGR	random coil	no calculable	no calculable
pep 39	LPALK	random coil	no calculable	no calculable
pep 40	SSWKK	random coil	no calculable	no calculable
pep 41	LPLLR	random coil	no calculable	no calculable
pep 42	TLLSK	random coil	no calculable	no calculable
pep 43	LFPLK	random coil	no calculable	no calculable
pep 44	LTL SK	random coil	no calculable	no calculable
pep45	DLLLR	random coil	no calculable	no calculable
pep46	MYGTK	random coil	no calculable	no calculable
pep 47	YAPLR	random coil	no calculable	no calculable
pep 48	HTAYK	random coil	no calculable	no calculable

En general, los péptidos anticancerígenos (ACPs) suelen presentar una estructura α -hélice y carga neta positiva (>0), ya que suelen presentar una conformación antipática, lo cual favorece la interacción con la membrana (11), que sumado a su carga neta positiva aumentan la afinidad de los péptidos por las membranas cargadas negativamente de las células cancerosas, mejorando su eficacia como ACPs. Considerando estos criterios, se identificaron sólo 5 péptidos con estructuras α -hélice que a su vez presentaban una carga neta positiva: *pep 1*, *pep 6*, *pep 7*, *pep 10* y *pep 33* (fig. 4).



pep33: LVDKLK

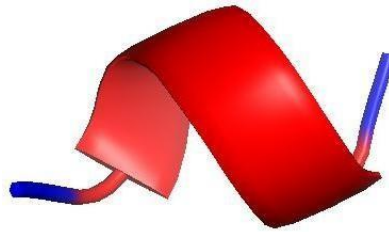


Fig. 4. Estructura secundaria de *pep1*, *pep6*, *pep7*, *pep10* y *pep33*. ACPs que presentan estructuras alfa-hélices con una carga neta positiva. Las partes rojas son las estructuras α - helicoidales de los péptidos. Predicción de la estructura secundaria realizada con Alphafold. Representación 3D y selección de estructuras alfa hélice realizada con Pymol.

De los 48 ACPs analizados, se predijo que 12 presentaban regiones propensas a agregación (APRs), Se sabe que, la agregación de péptidos anfifílicos disminuye su hidrofobicidad efectiva al ocultar las fracciones no polares de la fase acuosa (45). En contraste, 24 péptidos no mostraron APRs, mientras que en otros 12 casos no fue posible realizar la predicción. Finalmente, al evaluar los 5 péptidos que presentaron estructura α - hélice y carga neta positiva, se encontró que *pep 1*, *pep 6* y *pep 7* presentaban APRs, lo que podría afectar su funcionalidad. En cambio, *pep 10* y *pep 33* no mostraron APRs (Tabla 3).

5.5.- Predicción de la interacción con la membrana

La capacidad de atravesar la membrana se evaluó en los 48 péptidos elegidos (ver sección 5.2) usando el programa C2Pred, cuyo resultado mostró un total de 19 péptidos clasificados como CPPs (Cell Penetrating Peptides, péptidos que penetran la célula), mientras que los 29 restantes se clasificaron como no CPP (Tabla 4). Como parámetro de interacción con proteínas, a continuación, se calculó el índice de Boman, encontrando que 6 de los 48 péptidos tuvieron valores mayores a 2.48, indicativo de una fuerte interacción con otras proteínas. Dichos péptidos fueron *pep 22*, *pep 31*, *pep 34*, *pep 35*, *pep 38* y *pep 40*. Así mismo, 2 de esos 6 péptidos (*pep 22* y *pep 38*) fueron predichos como

CPPs, mientras que *pep 31*, *pep 34*, *pep 35* y *pep 40* resultaron predichos como no CPPs.

Tabla 4.- Predicción de CPPs y valores del índice de Boman en los 48 ACPs predichos

Nombre	Secuencia	Índice de Boman (kcal/mol)	Predicción de CPP
pep1	HFSLLMGSLFK	-0.63	CPP
pep2	LHPDFSSSLK	1.03	CPP
pep3	TLPDTLTEWK	1.662	CPP
pep4	WVLFGFFPGR	-0.71	no CPP
pep5	HFFPDELWK	1.39	no CPP
pep6	FMWAAMYSR	0.53	no CPP
pep7	DLALHVHK	0.98	CPP
pep8	FFPEDLWK	0.98	no CPP
pep9	NNAHVLHK	2.17	CPP
pep10	TYNAKFYK	1.97	no CPP
pep11	QFAPLFLK	-0.81	no CPP
pep12	LLDDLK	0.47	CPP
pep13	HHVPVAK	0.71	no CPP
pep14	LSADTWK	1.59	no CPP
pep15	WLSVVPR	0.42	no CPP
pep16	QPVYPWK	0.69	no CPP

pep17	LLTHVMK	-0.49	no CPP
pep18	YFTWLHK	0.38	no CPP
pep19	QMWVPNK	1.28	no CPP
pep20	YDLVIFYK	0.37	no CPP
pep21	LYEWSLK	0.53	no CPP
pep22	EPPEPRR	6.2	CPP
pep23	MWVFPER	1.43	CPP
pep24	FFYPGK	-0.2	no CPP
pep25	WAFPLK	-1.08	no CPP
pep26	WVDLDK	1.95	no CPP
pep27	TFPLPK	0.03	CPP
pep28	TFPPLK	0.03	CPP
pep29	LLVSHK	-0.04	no CPP
pep30	LFDVYK	0.41	no CPP
pep31	GFWESR	3.14	no CPP
pep32	WLLLEK	-0.78	CPP
pep33	LVDKLK	0.99	no CPP
pep34	RPSVHK	4.081	no CPP
pep35	YQFPPR	2.93	no CPP
pep36	LMPMFR	0.38	CPP
pep37	DLLFK	0.29	no CPP

pep38	FEYGR	3.59	CPP
pep39	LPALK	-1.22	CPP
pep40	SSWKK	3.114	no CPP
pep41	LPLLR	0.03	CPP
pep42	TLLSK	0.33	no CPP
pep43	LFPLK	-1.45	no CPP
pep44	LTLSK	0.33	CPP
pep45	DLLLR	1.77	CPP
pep46	MYGTK	0.99	no CPP
pep47	YAPLR	1.66	CPP
pep48	HTAYK	2.22	CPP

5.6.- Interacción de los péptidos con dianas biológicas

Para determinar si los péptidos tenían dianas intracelulares, se aplicó el método de docking inverso, que permite identificar potenciales dianas de un grupo de proteínas o péptidos de interés, imponiendo como condición que las estructuras de las dianas estén resueltas y disponibles en el *Protein Data Bank* (PDB). Esta aproximación permite explorar posibles interacciones funcionales y evaluar su relevancia biológica. Se aplicó docking inverso, usando PharmMapper., únicamente a los seis péptidos (pep 22, pep 31, pep 34, pep 35, pep 38 y pep 40) que superaron el umbral de índice de Boman (≥ 2.48), indicador de una afinidad suficiente para interactuar con proteínas. Aunque se identificaron otros péptidos con estructura α -hélice, estos no fueron incluidos porque no alcanzaron el umbral de Boman establecido. Se tomó en cuenta su capacidad para atravesar la

membrana al inspeccionar las dianas encontradas, además de poner énfasis en aquellas relacionadas con el proceso de carcinogénesis.

Según los resultados, *pep 22* tendría como dianas extracelulares a la colinesterasa y el factor del complemento B, mientras que entre las dianas intracelulares predichas están MAPK 10 (Proteína quinasa 10 activada por mitógeno), la Feniletanolamina N- metiltransferasa, Estromelisina, el receptor de Oxysterol LXR-beta, MAPK 8 (Proteína quinasa 8 activada por mitógeno), Fosfoserina fosfatasa, Glucosilceramidasa y proteína de unión al ácido graso (Tabla 5).

Tabla 5. Lista de las 10 dianas moleculares predichas del CPP *pep 22* (EPPEPRR) con PharMapper y su ontología génica obtenida de Panther.

PDB ID	Nombre del la proteína diana	Ontología génica			Puntaje	Puntaje normalizado
		Función molecular	Rol en los procesos biológicos	componente celular		
1PMV	Proteína quinasa 10 activada por mitógenos (MAPK 10)	actividad proteína serina/treonina kinasa	cascada JNK	núcleo y citoplasma	2.97	0.99
1HNN	Feniletanolamina N- metiltransferasa (PNMT)	Actividad N- metiltransferasa, Actividad metiltransferasa dependiente de S- adenosilmetionina	biosíntesis de adrenalina, regula la respuesta al estrés *	citosol	2.9	0.96

1BM6	Estromelisin a-1 (MMP3)	actividad metaloendop eptidasa	Procesos catabólicos, organizaci ón de la matriz extracelula r	citosol	2.87	0.95
1RS0	factor del complement o B (CFB)	Se divide en las subunidades Bb y Ba,	activación del complement	complejo catalítico, espacio	2.85	0.94
		donde Bb se une a C3b para formar la convertasa C3bBb, amplificando la cascada del complement o.	o, respuesta a bacteria	extracelular, vesícula		

1PQ9	Receptor de oxisteroles LXR-beta (NR1H2)	Unión de ADN específica de secuencia de la región reguladora cis de la ARN polimerasa II, actividad del receptor de señalización, Actividad del factor de transcripción de unión al ADN, específico de la ARN polimerasa II	regulación negativa de la transcripción por la ARN polimerasa II, diferenciación celular, regulación positiva de la transcripción por la ARN polimerasa II	citosol	2.74	0.91
1XLV	Colinesterasa (BCHE)	actividad éster	regulación de los	espacio extracelular,	2.74	0.91

		carboxílico hidrolasa	niveles de neurotransmisores, proceso catabólico de compuestos organonitrogenados, proceso catabólico celular	membrana plasmática		
1UKI	Proteína quinasa 8 activada por mitógenos (MAPK8)	actividad de la proteína serina/treonina quinasa	JNK cascada	núcleo, citoplasma	2.72	0.90
1L8L	Fosfoserina fosfatasa (PSPH)	unión de iones de magnesio	proceso biosintético de alfa-aminoácidos, desfosforilación	citoplasma	3.55	0.88

1OGS	Glucosilceramidasa (GBA1)	actividad hidrolasa, hidrolizando compuestos O-glicosilados	proceso catabólico derivado de carbohidratos, proceso metabólico de ceramida, proceso metabólico de glicolípidos, proceso catabólico de esfingolípidos	lisosomas	2.64	0.88
1TOW	Proteína fijadora de ácidos grasos, adipocito (FABP4)	unión de ácidos grasos	transporte de ácidos grasos	núcleo, citosol	3.44	0.86

	Dianas extracelulares o de membrana
	Dianas intracelulares

* Resultados obtenidos mediante Uniprot.

En el caso de pep 31, aunque no se clasifica como CPP, se predijeron tanto dianas intracelulares como extracelulares. Compatible con su naturaleza no CPP, se predijo una diana extracelular que fue el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), esta

es una proteína con actividad isomerasa que participa de la respuesta inmune y regulación inflamatoria. También se obtuvieron dianas intracelulares como la catepsina B, anhidrasa carbónica-2, Glutación S-transferasa P, Peptidil-prolil cis-trans isomerasa A, Feniletanolamina N-metiltransferasa, Glucosilceramida (GBA1), Fosfoserina fosfatasa, timidilato sintasa, Protooncogén tirosina-proteína quinasa Src. (tabla 6).

Tabla 6. Lista de las 10 dianas moleculares predichas del no CPP, pep 31 (GFWESR) por medio de Pharmmaper y su ontología génica obtenida de Panther.

PDB ID	Nombre de la proteína diana	Ontología génica			puntaje	puntaje normalizado
		Función molecular	Rol en los procesos biológicos	Componente celular		
1IF4	Anhidrasa carbónica 2 (CA2)	Cataliza la conversión reversible de CO ₂ y HCO ₃ ⁻ , modula las concentraciones de protones (H ⁺) *	regula el pH corporal, facilita el transporte de CO ₂ *	citocitol	2.91	0.97
1LBK	Glutación S-transferasa P	actividad glutación transferasa	proceso metabólico del glutación	citocitol	2.86	0.95
1W8M	Peptidil-prolil cis-trans	isomerización cis-trans de	plegamiento de proteínas,	orgánulo delimitado o por una	2.59	0.86

	isomerasa A	enlaces peptídicos , chaperona molecular, actividad de unión a ARN *	señalización celular, respuesta al estrés celular, Interviene en procesos relacionado s con la replicación viral, *	membrana intracelular		
1HNN	Feniletanolamina N-metiltransferasa	actividad N- metiltransferasa, Actividad metiltransferasa dependiente de S- adenosilmetionina	biosíntesis de catecolaminas, regula la respuesta al estrés *	citoplasmático	2.34	0.78

1OGS	Glucosilceramida (GBA1)	actividad hidrolasa, hidrolizando compuestos O-glicosilos	proceso catabólico derivado de carbohidratos, proceso metabólico de ceramida, proceso metabólico de glicolípidos, proceso catabólico de esfingolípidos	lisosoma	2.25	0.75
1L8L	Fosfoserina fosfatasa	unión de iones de magnesio	proceso biosintético de alfa-aminoácidos, desfosforilación	citoplasmática	2.86	0.71

1JUJ	timidilato sintasa	actividad metiltransferasa	Procesos metabólicos y biosintéticos relacionados con nucleótidos, pirimidinas, derivados de carbohidratos y compuestos organonitrogenados.	mitocondria, citosol	2.85	0.71
1CSB	Catepsina B	actividad endopeptidasa tipo cisteína	proteólisis implicada en el proceso catabólico de proteínas	lisosoma	2.80	0.70
1GCZ	Factor inhibidor de la migración de	actividad isomerasa	respuesta inmune, regulación inflamatoria	espacio extracelular	2.78	0.69

	macrófagos (MIF)					
1O4P	Protooncogén tirosina-quinasa Src	actividad de proteína tirosina quinasa que no atraviesa la membrana, unión al receptor de señalización	diferenciación de osteoclastos, vía de señalización del receptor intracelular de hormona esteroide, Resorción ósea, vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico, respuesta inmune innata, desarrollo de células mieloides,	Componente extrínseco del lado citoplasmático de la membrana plasmática.	3.46	0.69

			regulación negativa de la vía de señalización apoptótica extrínseca, Adhesión celular, regulación negativa de la vía de señalización apoptótica intrínseca, desarrollo óseo			
--	--	--	---	--	--	--

	Dianas extracelulares o de membrana
	Dianas intracelulares

* Resultados obtenidos mediante Uniprot.

En el caso de pep 34, las dianas extracelulares identificadas fueron la colinesterasa y el factor del complemento B, dicha proteína presenta actividad éster carboxílico hidrolasa, formando parte de procesos biológicos como la regulación de los niveles de neurotransmisores, proceso catabólico de compuestos organonitrogenados y proceso catabólico celular. Así también se encontraron dianas intracelulares, como glutathion S-transferasa P, Peptidil-prolil cis-trans isomerasa A, Feniletanolamina N-metiltransferasa,

Purina nucleósido fosforilasa, Receptor de oxisteroles LXR-beta, anhidrasa carbonica 2, proteína quinasa 10 activada por mitógenos, Protooncogén tirosina-proteína quinasa Src (Tabla 7).

Tabla 7. Lista de las 10 dianas moleculares predichas del no CPP pep 34 (RPSVHK) por medio de Pharmeder y su ontología génica obtenida de Panther.

PDB ID	Nombre del objetivo	Ontología génica			Puntaje	puntaje normalizado
		Función molecular	Rol en los procesos biológicos	componente celular		
1LBK	Glutación S-transferasa P	actividad glutación transferasa	proceso metabólico del glutación	citosol	2.97	0.99

1W8M	Peptidil-prolil cis-trans isomerasa A	isomerización cis-trans de enlaces peptídicos, chaperona molecular, actividad de unión a ARN *	plegamiento de proteínas, señalización celular, respuesta al estrés celular, Interviene en procesos relacionados con la replicación viral, *	orgánulo delimitado por una membrana intracelular	2.96	0.98
1HNN	Feniletanolamina N-metiltransferasa	actividad N-metiltransferasa, Actividad metiltransferasa dependiente de S-adenosilmetionina	biosíntesis de catecolaminas, regula la respuesta al estrés *	citosol	2.91	0.97

1 XLV	colinesterasa	actividad éster carboxílico o hidrolasa	regulación de los niveles de neurotransmisores, proceso catabólico de compuestos organonitrogenados, proceso catabólico celular	espacio extracelular, membrana plasmática	2.8	0.93
1V3Q	Purina nucleósido fosforilasa	actividad pentosiltransferasa	fosforólisis de nucleósidos de purina *	citoplasma	2.79	0.93

1PQ9	Receptor de oxisteroles LXR-beta	Unión de ADN específica de secuencia de la región reguladora cis de la ARN polimeras a II, actividad del receptor de señalización, Actividad del factor de transcripción de unión al ADN, específico de la ARN	regulación negativa de la transcripción por la ARN polimeras a II, diferenciación celular, regulación positiva de la transcripción por la ARN polimeras a II	núcleo	2.7	0.9
------	----------------------------------	--	--	--------	-----	-----

		polimeras a II				
1IF4	Anhidrasa carbónica 2	Cataliza la conversión reversible de CO ₂ y HCO ₃ ⁻ , modula las concentraciones de protones(H ⁺) *	regula el pH corporal , facilita el transporte de CO ₂ *	citosol	2.67	0.89
1PMV	Proteína quinasa 10 activada por mitógenos	actividad proteína serina/treonina kinasa	cascada JNK	núcleo y citoplasma	2.57	0.85
1RS0	Factor del complemento B	Se divide en las subunidades Bb y Ba, donde Bb se une a C3b para formar la convertasa C3bBb, amplifican	activación del complemento, respuesta a bacteria	complejo catalítico, espacio extracelular, vesícula	2.51	0.83

		do la cascada del complemento.				
104F	Protooncogén tirosina-quinasa Src	Actividad de la proteína tirosina quinasa que abarca la membrana, unión al receptor de señalización	diferenciación de osteoclastos, vía de señalización del receptor intracelular de hormona esteroide, Resorción ósea, vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico, respuesta inmune innata,	Componente extrínseco del lado citoplasmático de la membrana plasmática.	2.93	0.73

			desarrollo de células mieloides, regulación negativa de la vía de señalización apoptótica extrínseca, Adhesión celular, regulación negativa de la vía de señalización apoptótica intrínseca, desarrollo óseo			
--	--	--	--	--	--	--

	Dianas extracelulares o de membrana
	Dianas intracelulares

* Resultados obtenidos mediante Uniprot.

En el caso de pep 35 (no CPP), las dianas extracelulares identificadas fueron transtiretina, factor del complemento B, dipeptidil peptidasa 4 (DPP4), protrombina y colinesterasa. Según la ontología genética, la transtiretina desempeña un papel en el transporte de tiroxina (T4) y retinol (vitamina A) en la sangre, y hormonas tiroideas, estando también involucrada en el proceso metabólico de nucleobases purinas (tabla 8). El factor del complemento B, que se divide en las subunidades Bb y Ba, participa en la activación del complemento, siendo parte de la respuesta inmune. La DPP4, con actividad exopeptidasa, tiene un papel importante en la proteólisis, influyendo en la regulación de las citoquinas y la función inmune. La protrombina, con actividad endopeptidasa tipo serina, es esencial para la coagulación sanguínea y también está implicada en procesos como la cicatrización de heridas, la respuesta a estímulos externos y la activación de plaquetas. La colinesterasa, con actividad hidrolasa, regula los niveles de neurotransmisores y participa en el proceso catabólico de compuestos organonitrogenados, contribuyendo a la homeostasis celular (tabla 8). También se encontraron dianas intracelulares, las cuales fueron la Glutación S-transferasa P, Proteína quinasa 10 activada por mitógenos, aldosa reductasa, Protooncogén serina/treonina-proteína quinasa Pim-1 y la Peptidil-prolil cis-trans isomerasa A.

Tabla 8. Lista de las 10 dianas moleculares predichas del no CPP pep 35 (YQFPPR) por medio de Pharmmaper y su ontología génica obtenida de Panther.

PDB ID	Nombre del objetivo	Ontología génica			puntaje	puntaje normalizado
		Función molecular	Rol en los procesos biológicos	componente celular		
1F86	transtiretina	transporte de la tiroxina (T4) y el retinol (vitamina A) en la sangre,	proceso metabólico de nucleobase purina	plasma sanguíneo	2.98	0.99

		transporte de la hormona tiroidea *				
1MD3	Glutación S-transferasa P	actividad glutación transferasa	proceso metabólico del glutación	citosol	2.89	0.96
1PMV	Proteína quinasa 10 activada por mitógenos	actividad proteína serina/treonina kinasa	cascada JNK	núcleo y citoplasma	2.89	0.96
1X97	aldosa reductasa	Actividad oxidorreductasa, actuando sobre el grupo CH-OH de los donantes, NAD o NADP como aceptor.	reducción de aldehídos y cetonas, Desintoxicación de aldehídos reactivos *	citosol	2.88	0.96
2C3I	Protooncogén serina/treonina-proteína	actividad de la proteína serina/treonina quinasa	fosforilación de proteínas	citosol	2.85	0.95

	quinasa Pim-1					
1W8M	Peptidil- prolil cis- trans isomerasa A	isomerizac ión cis- trans de enlaces peptídicos, chaperona molecular, actividad de unión a ARN *	plegamiento o de proteínas, señalización celular, respuesta al estrés celular, Interviene en procesos relacionad os con la replicación viral, *	orgánulo delimitado por una membrana intracelular *	2.84	0.94
1RS0	Factor de compleme nto B	Se divide en las subunidade s Bb y Ba *	activación del compleme nto, respuesta a bacterias	complejo catalítico, espacio extracelula r, vesícula	2.83	0.94
2ONC	Dipeptidil peptidasa 4	actividad exopeptida sa	proteolisis	membrana plasmática	2.83	0.94
1NO9	Protrombin a	Actividad endopeptid asa tipo serina	Regulación positiva de la respuesta a estímulos,	Espacio extracelula r, Matriz extracelula r que	2.81	0.93

			Regulación de la coagulación, Regulación de la cicatrización de heridas, Regulación positiva del proceso de los organismos multicelulares, Regulación de la respuesta a estímulos externos, Activación de plaquetas	contiene colágeno		
1XLV	Colinesterasa	Actividad de hidrolasa de ésteres carboxílicos	Regulación de los niveles de neurotransmisores,	espacio extracelular, membrana plasmática	2.81	0.93

			Proceso catabólico de compuestos organonitrogenados, Proceso catabólico celular			
--	--	--	---	--	--	--

	Dianas extracelulares o de membrana
	Dianas intracelulares

* Resultados obtenidos mediante Uniprot.

En el caso de pep 38 (CPP), se identificó a la cathepsina B como la única diana extracelular. Esta enzima presenta actividad endopeptidasa y está involucrada en la proteólisis de proteínas. Por otro lado, entre las dianas intracelulares predichas se encontraron dianas que participaban de procesos biológicos clave, como la apoptosis. Destacando el protooncogén tirosina-proteína quinasa Src, el cual regula la adhesión celular, la respuesta inmune innata y actúa como un modulador negativo de la señalización apoptótica tanto extrínseca como intrínseca. Asimismo, se identificó a galectina-7, una proteína con función proapoptótica que participa en la señalización intracelular previa a la activación de la vía JNK. Además, regula la liberación del citocromo c, promoviendo la apoptosis celular, y está involucrada en la modulación del crecimiento y la adhesión celular (Tabla 9).

Tabla 9. Lista de las 10 dianas moleculares predichas del CPP pep 38 (FEYGR) por medio de Pharmmaper y su ontología génica obtenida de Panther.

Ontología génica						
PDB ID	Nombre del objetivo	Función molecular	Rol en los procesos biológicos	componente celular	puntaje	puntaje normalizado
1NU4	U1 ribonucleo proteína A nuclear pequeña	Unión a snRNA	Empalme de mRNA, a través del spliceosoma	U1 snRNP, núcleo	2.53	0.84
1C83	Tirosina-phosphatas a no receptora tipo 1	Unión a proteína quinasa, Actividad de proteína tirosina fosfatasa	Regulación de la cascada de ERK1 y ERK2, Regulación de la respuesta al estrés del retículo endoplásmico, Regulación negativa de la cascada MAPK, Regulación de la vía de señalización de	Núcleo, Endosoma temprano, Retículo endoplásmico	2.89	0.72

			receptores a través de JAK-STAT,			
			Desfosforilación de peptidil-tirosina			
1TOW	Proteína fijadora de ácidos grasos, adipocito	unión de ácidos grasos	transporte de ácidos grasos	núcleo, citosol	2.88	0.72
1ZYJ	Proteína quinasa 14 activada por mitógenos (MAPK14)	Actividad de quinasa de proteína serina/treonina	Transducción de señal intracelular	núcleo, citoplasma	2.88	0.72
1CSB	Catepsina B	actividad endopeptidasa tipo cisteína	proteólisis implicada en el proceso catabólico de proteínas	espacio extracelular, lisosoma	2.87	0.71

1O4F	Protooncogén tirosina-proteína quinasa Src	actividad de la proteína tirosina quinasa que abarca la membrana, unión al receptor de señalización	diferenciación de osteoclastos, vía de señalización del receptor de hormona esteroide intracelular, Resorción ósea, vía de señalización del receptor del factor de crecimiento epidérmico, respuesta inmune innata, desarrollo de células mieloides, regulación negativa de la vía de señalización apoptótica extrínseca e intrínseca, adhesión celular,	Componente extrínseco del lado citoplasmático de la membrana plasmática.	2.85	0.71
------	--	---	--	--	------	------

			regulación negativa de la vía de señalización apoptótica intrínseca, desarrollo óseo			
1W7M	Quinurenina-Oxoglutarato transaminasa I	actividad transaminasa	Intermedio en la vía Catabólica del triptófano	mitocondria	2.84	0.71
5GAL	Galectina-7	Unión de carbohidratos, Actividad proteica proapoptótica	Señalización intracelular antes de la activación de JNK, Regulación de la liberación del citocromo c, Apoptosis celular, Regulación del crecimiento y la adhesión celular	citoplasma, núcleo	2.82	0.70

1V83	Galactosilgl alactosilxil osilproteín a 3-beta- glucuronos iltransferas a 1	Actividad de glucuronos iltransferas a	Proceso metabólico de carbohidrat os, Proceso biosintético de proteoglican os de sulfato de condroitina	Membran a del Golgi	2.80	0.70
1L8L	Fosfoferin a fosfatasa	Unión a iones de magnesio	Proceso biosintético de aminoácido s alfa, Desfosforila ción	citoplasm a	2.73	0.68

	Dianas extracelulares o de membrana
	Dianas intracelulares

* Resultados obtenidos mediante Uniprot.

En el caso de pep 40 (no CPP), las dianas extracelulares identificadas fueron el factor del complemento B y el receptor TGF-beta tipo 1. Según la ontología el factor del complemento B forma parte de la activación del complemento. Mientras que el receptor TGF-beta tipo 1 presenta unión a activina, unión a SMAD, actividad quinasa de serina/treonina de proteínas receptoras transmembrana y participa de la vía de

señalización del receptor de activina, desarrollo del corazón, desarrollo del sistema nervioso, vía de señalización del receptor del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta) y la fosforilación de proteínas. También se identificaron dianas intracelulares como la MAPK10, Peptidil-prolil cis-trans isomerasa A, Anhidrasa carbónica 2, Activador 1 de la quinasa 5 dependiente de ciclina, Glutación S-transferasa P, Proteína quinasa 8 activada por mitógeno, Serina/treonina-proteína quinasa Chk1 y la Receptor de oxiesteroles LXR-beta (tabla 10).

Tabla 10. Lista de las 10 dianas moleculares predichas del no CPP pep 40 (SSWKK) por medio de Phammaper y su ontología génica obtenida de Panther.

		Ontología génica				
PDB ID	Nombre del objetivo	función molecular	Rol en los procesos biológicos	componente celular	puntaje	puntaje normalizado
1PMV	Proteína quinasa 10 activada por mitógenos	actividad proteína serina/treonina kinasa	cascada JNK	núcleo y citoplasma	2.9	0.96

1RS0	Factor de complemento B	Actividad de la endopeptidasa de tipo serina, se une con C3b para formar el complejo C3bBb (C3 convertasa) *	activación del complemento, respuesta a la bacteria	complejo catalítico, espacio extracelular	2.8	0.93
1W8L	Peptidil-prolil cis-trans isomerasa A	isomerización cis-trans de enlaces peptídicos, chaperona molecular, actividad de unión a ARN *	plegamiento de proteínas, señalización celular, respuesta al estrés celular, Interviene en procesos relacionados con la replicación viral *	orgánulo delimitado por una membrana intracelular	2.74	0.91

1IF4	Anhidrasa carbónica 2	Cataliza la conversión reversible de CO ₂ y HCO ₃ ⁻ , modula las concentraciones (H ⁺) *	regula el pH corporal, facilita el transporte de CO ₂ *	citósol	2.74	0.91
1UNH	Activador 1 de la quinasa 5 dependiente de ciclina	Actividad de quinasa de proteína serina/treonina dependiente de ciclinas	Transición G1/S del ciclo celular mitótico, Regulación de la transcripción dirigida por ADN, Fosforilación de proteínas	núcleo, citoplasma	2.74	0.91
1MD3	Glutación S-transferasa P	actividad glutación transferasa	proceso metabólico del glutación	citósol	2.73	0.91

1VJY	Receptor TGF-beta tipo 1	Unión a activina, Unión a SMAD, Actividad quinasa de serina/treonina de proteínas receptoras transmembrana	Vía de señalización del receptor de activina, Desarrollo del corazón, Desarrollo del sistema nervioso, Vía de señalización del receptor del factor de crecimiento o transformante beta (TGF-beta),	Complejo de quinasa de proteína serina/treonina, Complejo de receptor de señalización de membrana plasmática	3.32	0.83
------	--------------------------	--	--	--	------	------

			Fosforilación de proteínas			
1PQ9	Receptor de oxisteroles LXR-beta	Unión específica a secuencias de regulación cis del ARN polimerasa II, Actividad de receptor de señalización, Actividad de factor de transcripción que se une al ADN específico para ARN polimerasa II	Regulación negativa de la transcripción por ARN polimerasa II, Diferenciación celular, Regulación positiva de la transcripción por ARN polimerasa II	núcleo	2.29	0.76

2G01	Proteína quinasa 8 activada por mitógenos	Actividad de quinasa de proteína serina/treonina	cascada JNK	núcleo, citoplasma	2.96	0.74
2C3L	Serina/treonina-proteína quinasa Chk1	Actividad de quinasa de proteína serina/treonina	Fosforilación de proteínas, Transducción de señal intracelular	núcleo	2.89	0.72

	Dianas extracelulares o de membrana
	Dianas intracelulares

* Resultados obtenidos mediante Uniprot.

5.7.- Evaluación de las propiedades ADMET

Las propiedades ADMET son aquellas propiedades farmacocinéticas clave que describen cómo se absorbe, distribuye, metaboliza y excreta un fármaco, así como su toxicidad (21). Estas propiedades son muy útiles para comprender el comportamiento de un fármaco en el organismo y son esenciales para su descubrimiento y desarrollo. Por esta razón, las propiedades ADMET se calcularon únicamente para los péptidos que presentaron las características más prometedoras en términos de su actividad anticancerígena, en este caso se incluyeron los 5 péptidos catiónicos con estructuras α -helicoidal (pep 1, pep 6,

pep 7, pep 10, pep 33) así como los 6 péptidos con un índice de Boman superior a 2.48 (pep 22, pep 31, pep 34, pep 35, pep 38, pep 40).

Primero se evaluaron los valores de absorción intestinal humana (HIA) y permeabilidad en células Caco-2 (líneas celulares de adenocarcinoma de colon humano). Estas variables son útiles para determinar la biodisponibilidad oral y la absorción intestinal de los compuestos. Según el programa ADMETlab, un valor óptimo de permeabilidad en células Caco-2 es superior a $-5.15 \log \text{ cm/s}$, y un valor de HIA mayor a 30 % indica una absorción óptima para un fármaco. En este análisis, todos los péptidos evaluados mostraron valores de HIA superiores al 30 %, lo que sugiere una buena absorción intestinal. Sin embargo, ninguno de los péptidos alcanzó el umbral de permeabilidad Caco-2 óptima ($>-5.15 \log \text{ cm/s}$) (Tabla 10). Seguidamente, para evaluar la distribución de los péptidos, se analizaron los valores de volumen de distribución (VD) y unión a proteínas plasmáticas (PPB). Según el programa ADMETlab, el VD mide la eficacia con la que un compuesto se distribuye en el organismo, considerándose adecuado si está dentro del rango de 0.04-20 L/kg. Por su parte, el porcentaje de PPB mide la proporción de fármaco unido a proteínas plasmáticas, lo cual afecta directamente la fracción libre disponible para interactuar con sus dianas moleculares (46). Los resultados mostraron que todos los ACPs evaluados tenían valores de VD en el rango óptimo para fármacos y PPB inferiores al 90 %, indicando una buena distribución y biodisponibilidad (Tabla 11).

Con respecto al análisis metabólico, se evaluó la interacción de los ACPs con las isoformas del citocromo P450 CYP1A2 y CYP3A4. El citocromo P450 (CYP) es la principal enzima metabólica responsable del metabolismo de los fármacos en el organismo. Las enzimas CYP catalizan la oxidación de sustancias orgánicas, un proceso que a menudo representa el primer paso en el metabolismo de muchos fármacos (46). Los resultados indicaron que todos los péptidos presentaron valores de interacción como inhibidores y sustratos menores a 0.5 (Tabla 11), lo que sugiere una baja probabilidad de metabolización o inhibición significativa por parte de estas enzimas. En cuanto a la excreción, se evaluaron el valor de depuración (CL) y la vida media ($T_{1/2}$). El CL cuantifica la eficiencia de eliminación de un compuesto del organismo, clasificándose en: CL alto: $>15 \text{ ml/min/kg}$, CL moderado: $5-15 \text{ ml/min/kg}$ y CL bajo: $<5 \text{ ml/min/kg}$ según el programa ADMETlab. Todos los ACPs analizados presentaron valores de CL < 5 (Tabla 11), lo que indica una depuración lenta y por lo tanto, un tiempo de permanencia

prolongado en el organismo. Por otro lado, la vida media ($T_{1/2}$), que mide el tiempo necesario para que la concentración del fármaco en el plasma se reduzca al 50 %, fue inferior a 1 hora para todos los ACPs evaluados, clasificándolos como compuestos de vida media ultracorta según ADMET lab. Finalmente, se evaluó la toxicidad de los ACPs donde el primero de los parámetros analizados fue el bloqueo de hERG (gen relacionado con el canal de potasio Kv11.1), crucial para la generación de los potenciales de acción cardíacos. La inhibición del canal de potasio hERG puede provocar una prolongación del intervalo QT y causar efectos secundarios cardíacos graves, lo que constituye un problema importante en los estudios clínicos de fármacos candidatos (20). Siguiendo los estándares del programa ADMETlab, valores superiores a 0.5 indican un posible bloqueo de hERG, mientras que valores inferiores a 0.5 sugieren que no bloquean este canal. En este análisis, todos los ACPs presentaron valores menores a 0.5, indicando una baja probabilidad de efectos secundarios cardíacos (tabla 11). El segundo parámetro evaluado fue el DILI (Daño Hepático Inducido por Fármacos). Valores inferiores a 0.5 indican poco o ningún daño hepático, mientras que valores superiores a 0.5 sugieren un riesgo significativo de hepatotoxicidad según el programa ADMET lab. Los valores predichos para todos los ACPs fueron menores a 0.5, lo que sugiere que tienen un bajo potencial de toxicidad hepática (tabla 11).

El ensayo AMES fue el siguiente criterio considerado, este evalúa el potencial mutagénico de un compuesto (46). Siguiendo ADMET lab, valores menores a 0.5 indican baja o nula mutagenicidad, mientras que valores superiores a 0.5 sugieren un riesgo elevado de mutagenicidad. En este caso, todos los ACPs evaluados presentaron valores menores a 0.5, indicando una baja probabilidad de efectos mutagénicos (tabla 11). Otro parámetro evaluado fue la carcinogenicidad, que predice el potencial de los compuestos para inducir o promover el desarrollo de cáncer. Valores inferiores a 0.5 indican baja o nula carcinogenicidad, mientras que valores superiores a este umbral sugieren un mayor riesgo. Los ACPs estudiados presentaron valores menores a 0.5, lo que indica que tienen un perfil favorable en términos de carcinogenicidad (tabla 11).

Tabla 11.- Tabla de propiedades ADMET de los 11 péptidos seleccionados, determinadas con el programa ADMET lab

Propiedades ADMET		Absorción		Distribución		Metabolismo				Excreción		Toxicidad			
ID	Peptidos	HIA(Human intestinal absorption)	CACO-2 Permeabilidad	VD(distribución de Volumen)	PPB	CYP1A2-(I)	CYP1A2-(s)	CYP3A4-(I)	CYP3A4-(s)	CL (mL/min/kg)	vida media	HERG Blockers	DILI daño hepatico	AMES	Carcinogenicidad
pep 1	HFSLLMGSLFK	0.9 -1	-6.8	0.44	31.07%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.413	0.92	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1
pep 6	FMWAAMYSR	0.3-0.5	-6.7	0.44	52.56%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.558	0.9	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.1-0.3
pep 7	DLALHVHK	0.1-0.3	-6.89	0.47	16.75%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	2.07	0.95	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1
pep 10	TYNAKFYK	0.9 -1	-6.97	0.52	26.23%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.9	0.81	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.3-0.5
pep 22	EPPEPRR	0.9 -1	-7.34	0.68	14.55%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.179	0.83	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.1-0.3
pep 31	GFWESR	0.7-0.9	-7.34	0.46	15.50%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.567	0.91	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.1-0.3
pep 33	LVDKLK	0.1-0.3	-7.21	0.64	5.17%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.852	0.86	0-0.1	0-0.1	0.1-0.3	0.3-0.5
pep 34	RPSVHK	0.7-0.9	-6.66	0.55	12.59%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.497	0.89	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1
pep 35	YQFPPR	0.9 -1	-6.46	0.46	36.53%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	2.2	0.67	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.1-0.3
pep 38	FEYGR	0.5-0.7	-7.3	0.47	28.93%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.817	0.89	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0.1-0.3
pep 40	SSWKK	0.7-0.9	-6.59	0.56	9.31%	0-0.1	0-0.1	0-0.1	0-0.1	1.562	0.9	0-0.1	0-0.1	0.9-1	0.1-0.3
Valores de Referencia		HIA >0.3: HIA positiva ; HIA <0.3 : HIA negativa	Valor óptimo > -5.15	valor óptimo: 0.04 - 20 L/kg	PPB < 90% : valor óptimo ; >90% : bajo indice terapeutico	>0.5: inibidor ; <0.5: no inibidor	>0.5: sustrato ; <0.5 no sustrato	>0.5: inibidor ; <0.5: no inibidor	>0.5: sustrato ; <0.5 no sustrato	alto: >15 ; moderado : 5 ; bajo <5	Larga vida media : >3 h ; corta vida media :<3 h	>0.5 : bloqueador ; <0.5 : no bloqueador	>0.5: hepatoxico ; <0.5: no hepatotoxico	>0.5: positivo ; <0.5 : negativo	>0.5 : carcinogeno ; <0.5 : no carcinogeno

VI. DISCUSIÓN

6.1.-Identificación y posible origen de los ACPs predichos

Esta tesis tuvo como objetivo caracterizar los 207 ACPs preidentificados por Jeyamogan et al. (27), en suero de *C. porosus*, y por medio de esa caracterización identificar aquellos con mayor potencial como agentes terapéuticos contra el cáncer. Se llevó a cabo una investigación teórica exhaustiva, evaluando sus propiedades fisicoquímicas, estructurales y sus posibles dianas moleculares. Los resultados mostraron que de los 207 péptidos analizados, 48 fueron predichos como ACPs mediante IA basada en aprendizaje automático. Cabe destacar que ninguno de estos péptidos se encontró en bases de datos de AMPs/ACPs consultadas, lo que indica que no han sido descritos ni validados experimentalmente en estudios previos. Así mismo, los resultados del BLASTp mostraron que ninguna de las secuencias cumplía los criterios de selección establecidos en la metodología (cobertura de consulta (*query cover*) $\geq 90\%$, valor e (*e-value*) ≤ 0.01 y porcentaje de identidad $\geq 90\%$), incluso cuando la búsqueda se restringió al genoma de *C. porosus*.

Este resultado se puede explicar por la corta longitud de los péptidos (5–12 residuos), lo que puede reducir la especificidad en las búsquedas de homología mediante BLASTp y aumentar la probabilidad de coincidencias fortuitas. BLASTp realiza alineamientos locales, y en secuencias tan cortas, incluso coincidencias parciales en proteínas de cualquier organismo pueden generar valores e-valores elevados, reflejando coincidencias aleatorias (43). Por lo tanto, aunque los péptidos fueron aislados de suero de cocodrilo, es poco probable que correspondan a proteínas codificadas por el genoma de *C. porosus*.

Sin embargo, es posible que 3 de los 48 péptidos evaluados (pep7, pep9 y pep36) sean productos de la microbiota de *C. porosus*, ya que a pesar de presentar e-valores altos presentaron coincidencias con proteínas pertenecientes a bacterias del género *Bacillota*, *Clostridium* y *Pseudomona*, que según la literatura se han encontrado en estudios de la microbiota intestinal en esta especie (47). Estos hallazgos concuerdan con la evidencia que ha demostrado que los reptiles poseen un microbioma intestinal único que contribuye a su producción de péptidos antimicrobianos y a su resistencia a infecciones, cáncer y

envejecimiento (48). Teniendo esto en cuenta, propondría que estos ACPs (n=48) provengan de un origen microbiano, mas no del genoma de *C. porosus*.

6.2.- Péptidos con posible mecanismo de disrupción de la membrana

Por otro lado, los resultados identificaron a pep 1 (HFSLLMGSLFK), pep 6 (FMWAAMYSR), pep 7 (DLALHVHK), pep 10 (TYNAKFYK) y pep 33 (LVDKLK) como ACPs catiónicos con conformaciones α -helicoidales, lo que indica una alta probabilidad de interacción con membranas celulares cancerosas, favorecida por la hidrofobicidad y anfipaticidad presente en estas estructuras secundarias (19). Este perfil coincide con lo reportado para péptidos anfipáticos naturales, cuya actividad anticancerígena se basa en la alteración directa de la membrana plasmática, inducida por la inserción de regiones hidrofóbicas y la interacción electrostática con fosfolípidos cargados negativamente (11). Además, entre dichos ACPs, pep 1 y pep 7 fueron predichos también como CPPs, lo que indica que, además de interactuar con la membrana, estos podrían ingresar a la célula cancerosa y ejercer su efecto en objetivos intracelulares. Sin embargo, dado que pep 1 y pep 7 no presentan un índice de Boman >2.48 , es poco probable que su mecanismo de acción involucre una interacción directa con proteínas dianas intracelulares. En su lugar, podrían inducir apoptosis mediante la disrupción de la membrana mitocondrial, similar a lo descrito en péptidos naturales como las leucocinas (24).

No obstante, la presencia de regiones propensas a agregación (APRs) en pep 1 y pep 7 podría afectar su actividad, ya que la agregación de péptidos anfifílicos reduce su hidrofobicidad efectiva y, por ende, su capacidad para interactuar con las membranas cancerígenas y formar poros funcionales. Sin embargo, también es posible que las APRs encontradas en estos péptidos no sean suficientes para inhibir completamente su adhesión a la membrana. Varios estudios coinciden en demostrar que la hidrofobicidad de los péptidos debe ajustarse finamente para optimizar la actividad y la selectividad. Si la hidrofobicidad de un péptido es muy baja, su interacción con la membrana celular puede ser insuficiente o demasiado superficial como para causar daño, en consecuencia, es poco probable que forme poros o altere la membrana (45). Por otro lado, si la hidrofobicidad es demasiado alta, el péptido puede inducir toxicidad hacia células normales, incrementando la hemólisis (destrucción de glóbulos rojos) más que la actividad

anticancerígena. Valores de hidrofobicidad dentro de dicho rango se considera una hidrofobicidad efectiva (45). Sin embargo, hasta la fecha no se encontraron valores estandarizados que definen umbrales específicos para maximizar su selectividad y eficacia. Algunos autores, como Deber et al., han sugerido que valores de hidrofobicidad alrededor de 0.4 en la escala Liu-Deber podrían favorecer la actividad, mientras que valores cercanos a 2 se asociaron con mayor toxicidad hacia células normales. Sin embargo, estas cifras deben interpretarse con cautela, ya que dependen del contexto experimental, del tipo de péptido y de la escala empleada (49). De esta manera, para evaluar la posibilidad de que los ACPs estudiados con regiones APR predichas afecten negativamente su actividad anticancerígena, es necesario realizar estudios adicionales que expliquen con mayor detalle la interacción de cada péptido con las membranas celulares. Finalmente, si se confirma que las APRs limitan la actividad de estos péptidos, podrían explorarse estrategias para mitigarlas, como el uso de surfactantes no iónicos, que han demostrado prevenir la agregación y mantener la bioactividad de péptidos anfipáticos (48).

6.3.- Péptidos con potencial interacción con dianas moleculares

Por otro lado, los péptidos pep 22 (EPPEPRR), pep 31 (GFWESR), pep 34 (RPSVHK), pep 35 (YQFPPR), pep 38 (FEYGR) y pep 40 (SSWKK) podrían ejercer su actividad anticancerígena a través de la interacción con dianas moleculares específicas ya que presentaron un índice de Boman ≥ 2.48 , indicador de afinidad potencial hacia proteínas. En este contexto, otros ACPs dirigidos a proteínas específicas han cobrado interés en la terapia oncológica. Por ejemplo, recientemente Chang et al. desarrollaron el péptido RF16 dirigido a los receptores de quimiocinas CXC de tipo 1 y tipo 2 (CXCR1/2), que bloquea las vías de señalización descendentes mediante la unión competitiva con IL-8 en los sitios CXCR1/2, demostrando eficacia en la disminución de la proliferación celular, la migración y la invasividad en células MDA-MB-231(50,51).

Teniendo en cuenta las dianas predichas en esta tesis y la capacidad de cada ACP para atravesar la membrana celular, se identificaron proteínas relacionadas con la regulación del crecimiento y la muerte de las células cancerosas. Por ejemplo, pep 22 (EPPEPRR) y pep 38 (FEYGR), podrían interactuar tanto con factores intracelulares como extracelulares incluyendo MAPK 8 y MAPK 10 (dianas predichas de pep 22), que regulan

la apoptosis a través de mecanismos transcripcionales y postranscripcionales y galectina-7 (potencial diana predicha de pep 38), la cual es una proteína proapoptótica que funciona a nivel intracelular en la liberación de citocromo-c, desempeñando un papel crucial en la regulación de la apoptosis (52). Es posible que, en ambos casos, los ACPs de estudio actúen estimulando dichas dianas, promoviendo así la apoptosis de células cancerosas. Además, pep 38 podría afectar otras proteínas implicadas en la proliferación celular, como la tirosina-proteína fosfatasa no receptora tipo 1, la cual está involucrada en la regulación de las cascadas de señalización ERK1 y ERK2, esenciales para la proliferación y diferenciación celular. El ACP podría modular negativamente estas cascadas al interactuar con esta fosfatasa, reduciendo la proliferación celular en tejidos tumorales. También podría influir en la MAPK14, que pertenece a la familia de las MAPK p38, quinasas reguladoras clave de la apoptosis, que han demostrado promover tanto procesos proapoptóticos como antiapoptóticos (53, 54). La unión de ACPs a MAPK14 podría inclinar su actividad hacia una respuesta proapoptótica, reforzando la muerte celular inducida en células tumorales. Otra diana predicha también para pep 38 fue el protooncogén tirosina-proteína quinasa Src que regula negativamente el procesamiento y activación de la caspasa-8, inhibiendo así su función proapoptótica (55). Por lo que la interacción con pep38 podría bloquear o interferir con esta fosforilación inhibitoria, restaurando la actividad proapoptótica de la caspasa-8.

A diferencia de ello, pep 31 (GFWESR), pep 34 (RPSVHK), pep 35 (YQFPPR) y pep 40 (SSWKK), no fueron clasificados como péptidos que atraviesan la membrana (no CPPs), por lo que sus posibles dianas se encuentran en la superficie celular o en el entorno extracelular. Por su parte, Pep 31 presentó como dianas teóricas a la Cathepsina B, una proteína involucrada en la migración, angiogénesis y metástasis de células tumorales (56). Su inhibición podría limitar la invasión y la propagación del cáncer. También MIF sería una diana de pep 31, la cual desempeña un papel clave en la inflamación y la regulación del cáncer a través de interacciones proteína-proteína esenciales para estos procesos (57). El pep 31 podría inhibir esta función, promoviendo un ambiente tumoral menos inflamatorio y menos propicio para el crecimiento celular maligno. En el caso de pep 34, se encontró como diana extracelular al factor del complemento B, relacionado con procesos tumorales, habiéndose reportado que inhibe la progresión maligna del adenocarcinoma de pulmón al regular negativamente la vía de señalización Ras/MAPK

(58). En este caso pep 34 podría reforzar este efecto inhibitor, bloqueando la progresión tumoral mediante la regulación de esta vía. Por su parte pep 35 presenta dianas en las que destacan la transtiretina, que se ha reportado como un regulador del crecimiento tumoral mediante la modulación de las células tumorales, así como el factor del complemento B y la dipeptidil peptidasa 4 (DPP4), una proteína transmembrana con actividad exopeptidasa que se expresa en una amplia variedad de células tumorales (59,60). Pep 35 podría interactuar con proteínas como transtiretina y DPP4, modulando el microambiente tumoral y dificultando la señalización que favorece el crecimiento de células cancerosas. Finalmente, pep 40 presentó como diana potencial al receptor tipo I del factor de crecimiento transformante beta (TGF- β RI o TGFBR1), una proteína transmembrana con actividad quinasa de serina/treonina, fundamental en la vía de señalización del TGF- β (61). Esta vía regula diversos procesos celulares, como el crecimiento, la diferenciación, la apoptosis y la homeostasis. Inhibidores de TGFBR1 pueden ser eficaces frente a células tumorales que presentan mutaciones en BRAF, un oncogén frecuente en varios tipos de cáncer (61). En este contexto, si pep 40 actúa modulando o inhibiendo la actividad de TGFBR1, podría representar una estrategia terapéutica prometedora, especialmente en tumores donde esta vía se encuentra desregulada.

Estos hallazgos sugieren que un grupo de ACPs obtenido de tejidos de cocodrilo (pep 22, pep 31, pep 34, pep 35, pep 38 y pep 40) podrían interactuar con dianas en células humanas, asociadas con el cáncer, lo que los convierte en candidatos prometedores para estudios posteriores que verifiquen la interacción predicha. Es posible que su acción conjunta despliegue una actividad anticancerígena potente, tal como se evidencia en ensayos *in vitro* (25).

6.4.- Propiedades ADMET de los ACPs predichos

En cuanto a las propiedades ADMET de los ACPs de estudio, los resultados sugieren que los péptidos poseen buenas propiedades de absorción, distribución y metabolismo, aunque con valores no óptimos en la permeabilidad intestinal (caco-2). En términos de toxicidad, los péptidos mostraron un perfil favorable, con baja toxicidad cardíaca, hepática y mutagénica. Sin embargo, un factor limitante es su vida media ultracorta y baja depuración plasmática (CL), lo que indica que los ACPs evaluados serán eliminados rápidamente del organismo. Sin embargo, es un problema común que los péptidos no

modificados suelen presentar vidas medias muy cortas, debido a que están expuestos a una degradación rápida por proteasas en sangre, riñones e hígado, así como a una rápida eliminación renal (62). Se sabe además que la aplicación de los ACPs aún enfrenta desafíos significativos debido a su inestabilidad en los organismos, sensibilidad a altas concentraciones de sal, alta toxicidad para las células e inducción de respuestas inmunes en tejidos humanos. Sin embargo, de cara a esto se están desarrollando nuevas técnicas con resultados muy favorables como la acilación, que consiste en la agregación de un grupo acilo en la cadena peptídica. En dicho caso, la lipidación N-terminal, que es la forma de acilación más estudiada, puede mejorar la potencia y la vida media, reducir la inmunogenicidad y mejorar la administración de agentes terapéuticos (63). Otra estrategia prometedora para mejorar la eficacia de los ACPs es el desarrollo de sistemas avanzados de administración mediante nanofármacos, que encapsulan los péptidos en nanopartículas poliméricas, protegiéndolos de la degradación enzimática y optimizando su biodisponibilidad. Además, los nanofármacos han demostrado ser una alternativa altamente eficaz, ya que preservan la actividad anticancerígena de los ACPs, prolongan su estabilidad en el organismo y reducen su toxicidad hemolítica, minimizando efectos secundarios no deseados (13).

En conclusión, este estudio proporcionó una caracterización *in silico*, a nivel fisicoquímico, estructural y biológico, de 207 péptidos predichos en especímenes de *C. porosus*, identificando varios péptidos cuya actividad anticancerígena podría estar medidas ya sea mediante la disrupción de membranas o por la interacción con dianas moleculares clave en procesos relacionados con el cáncer. En particular, pep 1, pep 6, pep 7, pep 10 y pep 33 mostraron un mayor potencial para inducir disrupción de membranas, mientras que pep 22, pep 31, pep 34, pep 35, pep 38 y pep 40 se destacaron por su posible interacción con dianas vinculadas al cáncer. Si bien parece que la mayoría de ACPs estudiados no son codificados por genes de *C. porosus*, sino por microorganismos de su microbiota, dichos péptidos tendrían actividad biológica de interés y serían buenos candidatos para futuras investigaciones, donde se mejoren sus propiedades ADMET principalmente. Estos hallazgos destacan la relevancia de los estudios *in silico* como herramientas valiosas en la investigación biomédica, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones dirigidas a optimizar la estabilidad, selectividad y eficacia de estos péptidos como agentes anticancerígenos.

VII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Una de las principales limitaciones de este estudio fue que no se pudo demostrar que los péptidos anticancerígenos (ACPs) analizados fueran productos génicos de *Crocodylus porosus*. Es posible que las muestras contuvieran restos bacterianos, quizá de la misma microbiota del cocodrilo. Se considera una limitación no haber contado con secuencias enteramente del organismo de interés.

Asimismo, para los péptidos con menos de cinco residuos, el programa ANuPP, encargado de predecir las regiones propensas a agregación (APR), no pudo realizar el análisis, ya que la longitud de la secuencia era insuficiente para aplicar su algoritmo. Esto representa una limitación metodológica, dado que actualmente no existen herramientas con suficiente precisión para evaluar la tendencia a la agregación en péptidos ultracortos.

VIII. CONCLUSIONES

- Los péptidos de estudio son compatibles con secuencias de otras especies, entre ellas especies microbianas, por lo que no parecen ser productos proteicos de genes de *C. porosus*.
- Los péptidos pep 1, pep 6, pep 7, pep 10 y pep 33 mostraron una estructura secundaria alfa hélice y una carga neta positiva, características relevantes en la interacción de los ACPs con la membrana celular.
- Se predijo que los péptidos pep 22, pep 31, pep 34, pep 35, pep 38 y pep 40 tienen afinidad por dianas proapoptóticas como las proteínas quinasas (MAPK 8, MAPK 10 y MAPK14), DPP4 y la galectina-7, así como dianas antiapoptóticas como la protooncogén tirosina-proteína quinasa Src, tirosina-proteína fosfatasa no receptora tipo 1, Catepsina B, MIF, transtiretina y la TGFBR1. No obstante, es importante señalar que la actividad funcional de algunas de estas dianas puede ser dependiente del contexto celular, ya que en determinados escenarios fisiopatológicos pueden ejercer efectos duales, ya sea promoviendo o inhibiendo la apoptosis.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ji S, An F, Zhang T, Lou M, Guo J, Liu K, et al. Antimicrobial peptides: An alternative to traditional antibiotics. *Eur J Med Chem.* febrero de 2024;265:116072.
2. Wang L, Dong C, Li X, Han W, Su X. Anticancer potential of bioactive peptides from animal sources. *Oncol Rep.* febrero de 2017;38(2):637-51.
3. Kumar P, Kizhakkedathu J, Straus S. Antimicrobial Peptides: Diversity, Mechanism of Action and Strategies to Improve the Activity and Biocompatibility In Vivo. *Biomolecules.* 19 de enero de 2018;8(1):4.
4. Tornesello AL, Borrelli A, Buonaguro L, Buonaguro FM, Tornesello ML. Antimicrobial Peptides as Anticancer Agents: Functional Properties and Biological Activities. *Molecules.* 19 de junio de 2020;25(12):2850.
5. Chiangjong W, Chutipongtanate S, Hongeng S. Anticancer peptide: Physicochemical property, functional aspect and trend in clinical application (Review). *Int J Oncol.* 10 de julio de 2020;57(3):678-96.
6. Huang KY, Tseng YJ, Kao HJ, Chen CH, Yang HH, Weng SL. Identification of subtypes of anticancer peptides based on sequential features and physicochemical properties. *Sci Rep [Internet].* 30 de junio de 2021 [citado 20 de julio de 2025];11(1). Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41598-021-93124-9>
7. Chen N, Jiang C. Antimicrobial peptides: Structure, mechanism, and modification. *Eur J Med Chem.* julio de 2023;255:115377.
8. Boman HG. Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts. *J Intern Med.* septiembre de 2003;254(3):197-215.
9. Saini S, Rathore A, Sharma S, Saini A. Exploratory data analysis of physicochemical parameters of natural antimicrobial and anticancer peptides: Unraveling the patterns and trends for the rational design of novel peptides. *BioImpacts [Internet].* 19 de julio de 2023 [citado 20 de julio de 2025]; Disponible en: <https://bi.tbzmed.ac.ir/Inpress/bi-26438>
10. Xie M, Liu D, Yang Y. Anti-cancer peptides: classification, mechanism of action,

reconstruction and modification. *Open Biol* [Internet]. julio de 2020 [citado 20 de julio de 2025];10(7). Disponible en: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.200004>

11. Huang Y, Feng Q, Yan Q, Hao X, Chen Y. Alpha-Helical Cationic Anticancer Peptides: A Promising Candidate for Novel Anticancer Drugs. *Mini-Rev Med Chem*. 24 de febrero de 2015;15(1):73-81.
12. Trinidad-Calderón PA, Varela-Chinchilla CD, García-Lara S. Natural Peptides Inducing Cancer Cell Death: Mechanisms and Properties of Specific Candidates for Cancer Therapeutics. *Molecules*. 9 de diciembre de 2021;26(24):7453.
13. Dong Z, Zhang X, Zhang Q, Tangthianchaichana J, Guo M, Du S, et al. Anticancer Mechanisms and Potential Anticancer Applications of Antimicrobial Peptides and Their Nano Agents. *Int J Nanomedicine*. febrero de 2024;Volume 19:1017-39.
14. Pfeffer C, Singh A. Apoptosis: A Target for Anticancer Therapy. *Int J Mol Sci*. 2 de febrero de 2018;19(2):448.
15. Wanyan Y, Xu X, Liu K, Zhang H, Zhen J, Zhang R, et al. 2-Deoxy-d-glucose Promotes Buforin IIB-Induced Cytotoxicity in Prostate Cancer DU145 Cells and Xenograft Tumors. *Molecules*. 7 de diciembre de 2020;25(23):5778.
16. Yamaguchi Y, Yamamoto K, Sato Y, Inoue S, Morinaga T, Hirano E. Combination of aspartic acid and glutamic acid inhibits tumor cell proliferation . *Biomed Res*. 2016;37(2):153-9.
17. Bhunia D, Mondal P, Das G, Saha A, Sengupta P, Jana J, et al. Spatial Position Regulates Power of Tryptophan: Discovery of a Major-Groove-Specific Nuclear-Localizing, Cell-Penetrating Tetrapeptide. *J Am Chem Soc*. 7 de febrero de 2018;140(5):1697-714.
18. Ramos-Martín F, D'Amelio N. Molecular Basis of the Anticancer and Antibacterial Properties of CecropinXJ Peptide: An In Silico Study. *Int J Mol Sci*. 12 de enero de 2021;22(2):691.
19. Quemé-Peña M, Juhász T, Kohut G, Ricci M, Singh P, Szigyártó ICs, et al.

Membrane Association Modes of Natural Anticancer Peptides: Mechanistic Details on Helicity, Orientation, and Surface Coverage. *Int J Mol Sci.* 10 de agosto de 2021;22(16):8613.

20. Guan L, Yang H, Cai Y, Sun L, Di P, Li W, et al. ADMET-score – a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *MedChemComm.* 2019;10(1):148-57.
21. Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res.* 2 de julio de 2021;49(W1):W5-14.
22. Santana FL, Arenas I, Haney EF, Estrada K, Hancock REW, Corzo G. Identification of a crocodylian β -defensin variant from *Alligator mississippiensis* with antimicrobial and antibiofilm activity. *Peptides.* julio de 2021;141:170549.
23. Prajanban B on, Jangpromma N, Araki T, Klaynongsruang S. Antimicrobial effects of novel peptides cOT2 and sOT2 derived from *Crocodylus siamensis* and *Pelodiscus sinensis* ovotransferrins. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* mayo de 2017;1859(5):860-9.
24. Maijaroen S, Jangpromma N, Daduang J, Klaynongsruang S. KT2 and RT2 modified antimicrobial peptides derived from *Crocodylus siamensis* Leucrocin I show activity against human colon cancer HCT-116 cells. *Environ Toxicol Pharmacol.* septiembre de 2018;62:164-76.
25. Maraming P, Klaynongsruang S, Boonsiri P, Peng S, Daduang S, Leelayuwat C, et al. The cationic cell-penetrating KT2 peptide promotes cell membrane defects and apoptosis with autophagy inhibition in human HCT 116 colon cancer cells. *J Cell Physiol.* diciembre de 2019;234(12):22116-29.
26. Theansungnoen T, Maijaroen S, Jangpromma N, Yaraksa N, Daduang S, Temsiripong T, et al. Cationic Antimicrobial Peptides Derived from *Crocodylus siamensis* Leukocyte Extract, Revealing Anticancer Activity and Apoptotic Induction on Human Cervical Cancer Cells. *Protein J.* junio de 2016;35(3):202-11.

27. Jeyamogan S, Khan NA, Sagathevan K, Siddiqui R. Crocodylus porosus: a potential source of anticancer molecules. *Crocodylus porosus: a potential source of anticancer molecules*. *BMJ Open Sci* [Internet]. octubre de 2020 [citado 20 de julio de 2025];44(11). Disponible en: <http://access.portico.org/stable?au=phzjnkpp069>
28. Manavalan B, Basith S, Shin TH, Choi S, Kim MO, Lee G. MLACP: machine-learning-based prediction of anticancer peptides. *Oncotarget*. 29 de septiembre de 2017;8(44):77121-36.
29. Bray F, Laversanne M, Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. mayo de 2024;74(3):229-63.
30. Yu WD, Sun G, Li J, Xu J, Wang X. Mechanisms and therapeutic potentials of cancer immunotherapy in combination with radiotherapy and/or chemotherapy. *Cancer Lett*. junio de 2019;452:66-70.
31. Al Musaimi O. Peptide Therapeutics: Unveiling the Potential against Cancer—A Journey through 1989. *Cancers*. 2 de marzo de 2024;16(5):1032.
32. Maijaroen S, Klaynongsruang S, Reabroi S, Chairoungdua A, Roytrakul S, Daduang J, et al. Proteomic profiling reveals antitumor effects of RT2 peptide on a human colon carcinoma xenograft mouse model. *Eur J Pharmacol*. febrero de 2022;917:174753.
33. Kordi M, Borzouyi Z, Chitsaz S, Asmaei MH, Salami R, Tabarzad M. Antimicrobial peptides with anticancer activity: Today status, trends and their computational design. *Arch Biochem Biophys*. enero de 2023;733:109484.
34. Agrawal P, Bhagat D, Mahalwal M, Sharma N, Raghava GPS. AntiCP 2.0: an updated model for predicting anticancer peptides. *Brief Bioinform* [Internet]. 20 de mayo de 2021 [citado 20 de julio de 2025];22(3). Disponible en: <https://academic.oup.com/bib/article/doi/10.1093/bib/bbaa153/5881378>
35. Schaduangrat N, Nantasenamat C, Prachayasittikul V, Shoombuatong W. ACPred: A Computational Tool for the Prediction and Analysis of Anticancer Peptides.

Molecules. 22 de mayo de 2019;24(10):1973.

36. Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server. En: The Proteomics Protocols Handbook [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2005 [citado 20 de julio de 2025]. p. 571-607. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1385/1-59259-890-0:571>
37. Wang G, Li X, Wang Z. APD3: the antimicrobial peptide database as a tool for research and education. *Nucleic Acids Res.* 4 de enero de 2016;44(D1):D1087-93.
38. Tang H, Su ZD, Wei HH, Chen W, Lin H. Prediction of cell-penetrating peptides with feature selection techniques. *Biochem Biophys Res Commun.* agosto de 2016;477(1):150-4.
39. Schrödinger, LLC. The PyMOL Molecular Graphics System. 2020.
40. Jumper J, Evans R, Pritzel A, Green T, Figurnov M, Ronneberger O, et al. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature.* 26 de agosto de 2021;596(7873):583-9.
41. Wang X, Shen Y, Wang S, Li S, Zhang W, Liu X, et al. PharmMapper 2017 update: a web server for potential drug target identification with a comprehensive target pharmacophore database. *Nucleic Acids Res.* 3 de julio de 2017;45(W1):W356-60.
42. Thomas PD, Ebert D, Muruganujan A, Mushayahama T, Albou L, Mi H. PANTHER: Making genome-scale phylogenetics accessible to all. *Protein Sci.* enero de 2022;31(1):8-22.
43. Prabakaran R, Rawat P, Kumar S, Michael Gromiha M. ANuPP: A Versatile Tool to Predict Aggregation Nucleating Regions in Peptides and Proteins. *J Mol Biol.* mayo de 2021;433(11):166707.
44. Altschul S. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 1 de septiembre de 1997;25(17):3389-402.
45. Vaezi Z, Bortolotti A, Luca V, Perilli G, Mangoni ML, Khosravi-Far R, et al. Aggregation determines the selectivity of membrane-active anticancer and

antimicrobial peptides: The case of killerFLIP. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* febrero de 2020;1862(2):183107.

46. Niu Z, Xiao X, Wu W, Cai Q, Jiang Y, Jin W, et al. PharmaBench: Enhancing ADMET benchmarks with large language models. *Sci Data* [Internet]. 10 de septiembre de 2024 [citado 20 de julio de 2025];11(1). Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41597-024-03793-0>
- 47.- Willson N-L, Van TTH, Lever J, Moore RJ, Stanley D. Characterisation of the intestinal microbiota of commercially farmed saltwater crocodiles, *Crocodylus porosus*. *Appl Microbiol Biotechnol* [Internet]. 2019;103(21–22):8977–85. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-019-10143-3>
- 48.-Siddiqui R, Maciver SK, Khan NA. Gut microbiome-immune system interaction in reptiles. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2022;132(4):2558–71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.15438>
- 49.-Stark M, Liu L-P, Deber CM. Cationic hydrophobic peptides with antimicrobial activity. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2002;46(11):3585–90. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aac.46.11.3585-3590.2002>
- 50.-Norouzi P, Mirmohammadi M, Houshdar Tehrani MH. Anticancer peptides mechanisms, simple and complex. *Chem Biol Interact* [Internet]. 2022;368(110194):110194. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110194>
- 51.-Naeem A, Noureen N, Al-Naemi SK, Al-Emadi JA, Khan MJ. Computational design of anti-cancer peptides tailored to target specific tumor markers. *BMC Chem* [Internet]. 2024;18(1):39. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13065-024-01143-0>
- 52.- Kuwabara I, Kuwabara Y, Yang R-Y, Schuler M, Green DR, Zuraw BL, et al. Galectin-7 (PIG1) exhibits pro-apoptotic function through JNK activation and

- mitochondrial cytochrome c release. *J Biol Chem* [Internet]. 2002;277(5):3487–97. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M109360200>
- 53.- Yue J, López JM. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020;21(7):2346. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms21072346>
- 54.-Khurana A, Nakayama K, Williams S, Davis RJ, Mustelin T, Ronai Z. Regulation of the ring finger E3 ligase Siah2 by p38 MAPK. *J Biol Chem* [Internet]. 2006;281(46):35316–26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M606568200>
- 55.- Cursi S, Rufini A, Stagni V, Condò I, Matafora V, Bachi A, et al. Src kinase phosphorylates Caspase-8 on Tyr380: a novel mechanism of apoptosis suppression. *EMBO J* [Internet]. 2006;25(9):1895–905. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.emboj.7601085>
- 56.- Park S-H, Lee J-H, Yang S-B, Lee D-N, Kang T-B, Park J. Development of a peptide-based nano-sized cathepsin B inhibitor for anticancer therapy. *Pharmaceutics* [Internet]. 2023;15(4). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/pharmaceutics15041131>
- 57.-Xiao Z, Song S, Chen D, van Merkerk R, van der Wouden PE, Cool RH, et al. Proteolysis targeting chimera (PROTAC) for macrophage migration inhibitory factor (MIF) has anti-proliferative activity in lung cancer cells. *Angew Chem Weinheim Bergstr Ger* [Internet]. 2021;133(32):17655–62. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/ange.202101864>
- 58.- He C, Wang X, Jiang B, Zhu M, Zhang H, Duan Y, et al. Complement Factor B (CFB) inhibits the malignant progression of lung adenocarcinoma by downregulating the Ras/MAPK signaling pathway. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2024;760(110130):110130. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2024.110130>

- 59.- Lee C-C, Ding X, Zhao T, Wu L, Perkins S, Du H, et al. Transthyretin stimulates tumor growth through regulation of tumor, immune, and endothelial cells. *J Immunol* [Internet]. 2019;202(3):991–1002. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.1800736>
- 60.- Enz N, Vliegen G, De Meester I, Jungraithmayr W. CD26/DPP4 - a potential biomarker and target for cancer therapy. *Pharmacol Ther* [Internet]. 2019; 198:135–59. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.02.015>
- 61.- Xu J, Zhang S, Wu T, Fang X, Zhao L. Discovery of TGFBR1 (ALK5) as a potential drug target of quercetin glycoside derivatives (QGDs) by reverse molecular docking and molecular dynamics simulation. *Biophys Chem* [Internet]. 2022;281(106731):106731. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpc.2021.106731>
- 62.-Di L. Strategic approaches to optimizing peptide ADME properties. *AAPS J* [Internet]. 2015;17(1):134–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1208/s12248-014-9687-3>
- 63.- Makowska M, Wardowska A, Bauer M, Wyrzykowski D, Małuch I, Sikorska E. Impact of lipidation site on the activity of α -helical antimicrobial peptides. *Bioorg Chem* [Internet]. 2024;153(107821):107821. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107821>

ANEXOS

Anexo 1. Tabla que muestra los 207 ACPs predichos en el estudio publicado por *Jayemogan et al.*

ID	Secuencias	tamaño	RFACP	SVMACP
----	------------	--------	-------	--------

			predicció n	Probabilid ad	predicció n	Probabilid ad
seq1	FKMWPSSPAVPL APK	15	ACP	0.5416	ACP	0.5518
seq2	WFDDKHFGGLPPK ER	14	ACP	0.5583	ACP	0.4127
seq3	LLNPMLPDPPLPK	13	ACP	0.4048	ACP	0.5497
seq4	QVLQGLVFVGAH K	13	ACP	0.4766	ACP	0.631
seq5	WRPELPPDLPK	12	ACP	0.4891	ACP	0.5159
Seq6	HWVQMPPSGMF K	12	ACP	0.5225	ACP	0.3798
Seq7	MLPPGGYYWDR	11	ACP	0.2227	ACP	0.4891
Seq8	HFSLLMGSLFK	11	ACP	0.5077	ACP	0.6218
Seq9	LHPDFSSSLK	11	ACP	0.3752	ACP	0.5794
Seq10	MAMLWDPRDDR	11	ACP	0.4538	ACP	0.5609
Seq11	VVLLPLGGPAR	11	ACP	0.4822	ACP	0.6966
Seq12	DLLLNHLHPWK	11	ACP	0.4363	ACP	0.5711
Seq13	TLPDTLTEWK	10	ACP	0.4323	ACP	0.5552
Seq14	LTPDTLTEWK	10	ACP	0.4259	ACP	0.6
Seq15	SDPLLLPLLK	10	ACP	0.515	ACP	0.8213
Seq16	LYVPQAYRWK	10	ACP	0.5612	ACP	0.6028

Seq17	AMPLLLLPLK	10	ACP	0.5454	ACP	0.8253
Seq18	GFQVVQPARK	10	ACP	0.3925	ACP	0.5233
Seq19	ATATNAEMYR	10	ACP	0.3802	ACP	0.5855
Seq20	WVLFGFFPGR	10	ACP	0.6034	ACP	0.7262
Seq21	HFFPDELWK	9	ACP	0.522	ACP	0.5942
Seq22	WLGNFPEPR	9	ACP	0.5073	ACP	0.5081
Seq23	TFHDTATPR	9	ACP	0.4784	ACP	0.6241
Seq24	DLFVLVMMR	9	ACP	0.5432	ACP	0.4574
Seq25	LLGPHRGVR	9	ACP	0.4037	ACP	0.5145
Seq26	GFVVGDHVR	9	ACP	0.4493	ACP	0.6179
Seq27	TFGPYTNAR	9	ACP	0.3669	ACP	0.5372
Seq28	YSEHAYPSK	9	ACP	0.4497	ACP	0.5481
Seq29	LVPLGSLK	9	ACP	0.5523	ACP	0.8112
Seq30	VFVSPGLEK	9	ACP	0.4142	ACP	0.5631
Seq31	NSLDLLHWR	9	ACP	0.4464	ACP	0.5299
Seq32	ELGPVLLLR	9	ACP	0.4478	ACP	0.6011
Seq33	LDSPLQMWK	9	ACP	0.5121	ACP	0.6523
Seq34	VLPEVFEHK	9	ACP	0.4625	ACP	0.5347
Seq35	RFLAAVAPK	9	ACP	0.5159	ACP	0.4542
Seq36	FMWAAMYSR	9	ACP	0.6187	ACP	0.6

Seq37	SATPYTYSK	9	ACP	0.4879	ACP	0.7018
Seq38	TYMWPPANR	9	ACP	0.5722	ACP	0.6616
Seq39	WLGPAATPR	9	ACP	0.4897	ACP	0.6688
Seq40	FGVLLQAPK	9	ACP	0.4581	ACP	0.5811
Seq41	EVVVPLKK	8	ACP	0.5258	ACP	0.6353
Seq42	VEVVLPQK	8	ACP	0.4164	ACP	0.6362
Seq43	FPEPVLVK	8	ACP	0.5002	ACP	0.6295
Seq44	TDTFNHR	8	ACP	0.4429	ACP	0.5917
Seq45	AVLGPLLK	8	ACP	0.531	ACP	0.871
Seq46	KAEQVPWK	8	ACP	0.4466	ACP	0.6226
Seq47	WVMHLEPK	8	ACP	0.5021	ACP	0.4553
Seq48	DLALHVHK	8	ACP	0.3524	ACP	0.5127
Seq49	FFPEDLWK	8	ACP	0.5271	ACP	0.6959
Seq50	VEALHVHK	8	ACP	0.4108	ACP	0.6439
Seq51	MFVQFTLK	8	ACP	0.4481	ACP	0.5337
Seq52	AVLGPLLK	8	ACP	0.531	ACP	0.871
Seq53	DGWLVPVK	8	ACP	0.4731	ACP	0.5618
Seq54	NNAHVLHK	8	ACP	0.3853	ACP	0.5884
Seq55	TDTFNHR	8	ACP	0.4429	ACP	0.5917
Seq56	KGSLLDPK	8	ACP	0.3294	ACP	0.523

Seq57	MLVVRPLR	8	ACP	0.5123	ACP	0.5661
Seq58	MVVLEMMR	8	ACP	0.4746	ACP	0.553
Seq59	LPLLPLK	8	ACP	0.5675	ACP	0.7105
Seq60	VDTVLPK	8	ACP	0.4101	ACP	0.53
Seq61	MDPPLLWR	8	ACP	0.6041	ACP	0.6961
Seq62	TYNAKFYK	8	ACP	0.5178	ACP	0.6208
Seq63	FGLVSVPR	8	ACP	0.4853	ACP	0.6416
Seq64	LTVGPLTK	8	ACP	0.3892	ACP	0.5232
Seq65	FFPEDLWK	8	ACP	0.5271	ACP	0.6959
Seq66	VVMLPFFR	8	ACP	0.5845	ACP	0.5499
Seq67	WVMHLEPK	8	ACP	0.5021	ACP	0.4553
Seq68	FFPENNWK	8	ACP	0.5797	ACP	0.6316
Seq69	LWDLVKPR	8	ACP	0.5051	ACP	0.6331
Seq70	QFAPLFLK	8	ACP	0.5929	ACP	0.7371
Seq71	RANMPRAK	8	ACP	0.3497	ACP	0.5257
Seq72	MFAFDHFK	8	ACP	0.4741	ACP	0.5742
Seq73	MLSASGSK	8	ACP	0.3128	ACP	0.6286
Seq74	LWDLVQPR	8	ACP	0.4407	ACP	0.5506
Seq75	LLNLLPR	7	ACP	0.4294	ACP	0.6567
Seq76	MLLELAR	7	ACP	0.406	ACP	0.5744

Seq77	MLEELAR	7	ACP	0.406	ACP	0.5744
Seq78	LALLSQK	7	ACP	0.3908	ACP	0.6906
Seq79	LLDDLK	7	ACP	0.331	ACP	0.675
Seq80	LLDDLK	7	ACP	0.331	ACP	0.675
Seq81	LPPVLPR	7	ACP	0.5395	ACP	0.5947
Seq82	HHVPVAK	7	ACP	0.5579	ACP	0.7224
Seq83	DLVVPLK	7	ACP	0.5172	ACP	0.5848
Seq84	VTPPLK	7	ACP	0.4781	ACP	0.5423
Seq85	ALLPSMK	7	ACP	0.4951	ACP	0.6904
Seq86	DLVVPLK	7	ACP	0.5172	ACP	0.5848
Seq87	EPNLLPR	7	ACP	0.3636	ACP	0.5232
Seq88	LVYSVPK	7	ACP	0.4665	ACP	0.5228
Seq89	LSADTWK	7	ACP	0.4728	ACP	0.6968
Seq90	WLSVVPR	7	ACP	0.5624	ACP	0.5675
Seq91	LALQFVR	7	ACP	0.478	ACP	0.5234
Seq92	LALLQSK	7	ACP	0.4606	ACP	0.7293
Seq93	QPVYPWK	7	ACP	0.4994	ACP	0.6283
Seq94	MFMVTYR	7	ACP	0.5219	ACP	0.6157
Seq95	MLEMSSK	7	ACP	0.4204	ACP	0.5768
Seq96	LVYPVSK	7	ACP	0.4945	ACP	0.547

Seq97	MLEMSSK	7	ACP	0.4204	ACP	0.5768
Seq98	LPPLVPR	7	ACP	0.4929	ACP	0.5448
Seq99	DLLPLLR	7	ACP	0.496	ACP	0.6599
Seq100	LLTHVMK	7	ACP	0.4609	ACP	0.5138
Seq101	NMMYHWK	7	ACP	0.5915	ACP	0.5983
Seq102	ELQLALK	7	ACP	0.4174	ACP	0.6298
Seq103	LTSQFYK	7	ACP	0.4452	ACP	0.5353
Seq104	ALGYNNK	7	ACP	0.3125	ACP	0.562
Seq105	YFTWLHK	7	ACP	0.5759	ACP	0.5697
Seq106	QQLALLR	7	ACP	0.4272	ACP	0.5309
Seq107	YDMVTYR	7	ACP	0.3997	ACP	0.6572
Seq108	QMWVPNK	7	ACP	0.4776	ACP	0.5299
Seq109	YDLVFYK	7	ACP	0.4436	ACP	0.5672
Seq110	VTEWDYK	7	ACP	0.4635	ACP	0.5493
Seq111	DLLLHTR	7	ACP	0.3646	ACP	0.5372
Seq112	LYEWSLK	7	ACP	0.5251	ACP	0.6027
Seq113	EPPEPRR	7	ACP	0.4117	ACP	0.6196
Seq114	MWVFPER	7	ACP	0.5971	ACP	0.6294
Seq115	MLLLHSR	7	ACP	0.4436	ACP	0.5846

Seq116	LTVSRPR	7	ACP	0.3673	ACP	0.5351
Seq117	ANAVAVR	7	ACP	0.2906	ACP	0.5421
Seq118	YDLVFYK	7	ACP	0.4436	ACP	0.5672
Seq119	LVAATLK	7	ACP	0.424	ACP	0.5182
Seq120	DLTVVVK	7	ACP	0.4075	ACP	0.5722
Seq121	LYLDLK	6	ACP	0.4018	ACP	0.558
Seq122	FFYPGK	6	ACP	0.5371	ACP	0.5578
Seq123	WAFPLK	6	ACP	0.7036	ACP	0.7724
Seq124	FFYPGK	6	ACP	0.5371	ACP	0.5578
Seq125	LYLDLK	6	ACP	0.4018	ACP	0.558
Seq126	FQVLVK	6	ACP	0.5909	ACP	0.6439
SEq12 7	WVDLDK	6	ACP	0.4744	ACP	0.595
Seq128	WAFPLK	6	ACP	0.7036	ACP	0.7724
Seq129	LLPFPR	6	ACP	0.6473	ACP	0.7133
Seq130	WLLLTR	6	ACP	0.5993	ACP	0.6604
Seq131	LLPFPR	6	ACP	0.6473	ACP	0.7133
Seq132	TWDMAK	6	ACP	0.4816	ACP	0.5691
Seq133	NFLMAR	6	ACP	0.505	ACP	0.5337

Seq134	TFPLPK	6	ACP	0.5892	ACP	0.6088
Seq135	TFPPLK	6	ACP	0.5434	ACP	0.6122
Seq136	MEMMFK	6	ACP	0.6083	ACP	0.6372
Seq137	LLVSHK	6	ACP	0.4603	ACP	0.6162
Seq138	LVQDLK	6	ACP	0.3525	ACP	0.5831
Seq139	TWSETK	6	ACP	0.4565	ACP	0.5924
Seq140	LFDVYK	6	ACP	0.5263	ACP	0.558
Seq141	MWDAPR	6	ACP	0.5559	ACP	0.6512
Seq142	AVLDLK	6	ACP	0.3807	ACP	0.6063
Seq143	MEMMFK	6	ACP	0.6083	ACP	0.6372
Seq144	MDLFVR	6	ACP	0.4711	ACP	0.5242
Seq145	LLVSHK	6	ACP	0.4603	ACP	0.6162
Seq146	TFPPLK	6	ACP	0.5434	ACP	0.6122
SEQ14 7	DEVLVK	6	ACP	0.3553	ACP	0.5543
Seq148	GFWESR	6	ACP	0.5612	ACP	0.6225
SEq14 9	LYPSAK	6	ACP	0.4521	ACP	0.5554
Seq150	FMVG EK	6	ACP	0.367	ACP	0.5215
Seq151	LFEYGR	6	ACP	0.566	ACP	0.5336

Seq152	LMMDNK	6	ACP	0.391	ACP	0.5885
Seq153	WLLLEK	6	ACP	0.601	ACP	0.7139
Seq154	VTLPLK	6	ACP	0.4849	ACP	0.6107
Seq155	DFTDNK	6	ACP	0.3698	ACP	0.5505
Seq156	LVDKLK	6	ACP	0.5029	ACP	0.6698
Seq157	YPSTER	6	ACP	0.4175	ACP	0.5755
Seq158	QKTVYR	6	ACP	0.3541	ACP	0.6018
Seq159	VEYSRR	6	ACP	0.4061	ACP	0.613
SEq16 0	RPSVHK	6	ACP	0.4131	ACP	0.5125
Seq161	YQFPPR	6	ACP	0.6398	ACP	0.6553
Seq162	YVTAEK	6	ACP	0.3849	ACP	0.5742
SEq16 3	LMPMFR	6	ACP	0.6311	ACP	0.7146
Seq164	YNFDMR	6	ACP	0.5592	ACP	0.623
Seq165	LPATNK	6	ACP	0.3289	ACP	0.5342
Seq166	DLLMFR	6	ACP	0.4615	ACP	0.6025
Seq167	NDMFFK	6	ACP	0.475	ACP	0.5974
Seq168	ELVEHK	6	ACP	0.3602	ACP	0.5234
Seq169	TFPLPK	6	ACP	0.5892	ACP	0.6088

Seq170	LVEEHK	6	ACP	0.3509	ACP	0.5273
Seq171	LSTLR	5	ACP	0.3159	ACP	0.5415
Seq172	LLQQR	5	ACP	0.4551	ACP	0.6113
Seq173	DLLFK	5	ACP	0.5658	ACP	0.7623
Seq174	EVLLR	5	ACP	0.487	ACP	0.5909
Seq175	FEYGR	5	ACP	0.5605	ACP	0.6147
Seq176	FAVER	5	ACP	0.3478	ACP	0.517
Seq177	LDELK	5	ACP	0.3167	ACP	0.5829
Seq178	LPALK	5	ACP	0.5594	ACP	0.7516
Seq179	LQDFR	5	ACP	0.4549	ACP	0.5695
Seq180	DLLFK	5	ACP	0.5658	ACP	0.7623
Seq181	EVLLR	5	ACP	0.487	ACP	0.5909
Seq182	NNLFK	5	ACP	0.5104	ACP	0.6131
Seq183	EEPDK	5	ACP	0.3465	ACP	0.576
Seq184	SSWKK	5	ACP	0.6361	ACP	0.6807
Seq185	LPLLR	5	ACP	0.5655	ACP	0.6535
Seq186	TLLSK	5	ACP	0.3775	ACP	0.6076
Seq187	LFPLK	5	ACP	0.6311	ACP	0.7728
Seq188	AVLVR	5	ACP	0.415	ACP	0.5986

Seq189	FEYGR	5	ACP	0.5605	ACP	0.6147
Seq190	LTLSK	5	ACP	0.3753	ACP	0.5742
Seq191	LSLTR	5	ACP	0.3739	ACP	0.562
Seq192	SPSSK	5	ACP	0.4068	ACP	0.622
Seq193	HSSEK	5	ACP	0.3297	ACP	0.5681
Seq194	SLELK	5	ACP	0.3981	ACP	0.6804
Seq195	LSDLR	5	ACP	0.3283	ACP	0.5579
Seq196	DLLLR	5	ACP	0.3909	ACP	0.5978
Seq197	MYGTK	5	ACP	0.4934	ACP	0.5467
Seq198	EVLLR	5	ACP	0.487	ACP	0.5909
Seq199	FAMPR	5	ACP	0.5646	ACP	0.6476
Seq200	DLVAK	5	ACP	0.3628	ACP	0.5158
Seq201	LLQLR	5	ACP	0.4621	ACP	0.6139
Seq202	YAPLR	5	ACP	0.5447	ACP	0.6267
Seq203	VTELK	5	ACP	0.3432	ACP	0.5558
seq204	HTAYK	5	ACP	0.5391	ACP	0.6588
Seq205	TAVPR	5	ACP	0.3708	ACP	0.5267
Seq206	SMSMR	5	ACP	0.4136	ACP	0.64
Seq207	DLVAK	5	ACP	0.3628	ACP	0.5158

Anexo 2. Lista de los 207 péptidos identificados en el lisado de órganos y suero de *C. porosus* (26), evaluados por los programas AntiCP 2.0 y ACPred.

Nombre	Secuencias	AntiCP 2.0		ACPred		
		Puntaje	Predicción	ACP	No ACP	Predicción
p1	FKMWPSSPAVP LAPK	0.67	ACP	0.158	0.842	NO ACP
p2	WFDDKHFGGLPP KER	0.42	NO ACP	0.766	0.234	ACP
p3	LLNPMLPDPPLP K	0.35	NO ACP	0.009	0.991	NO ACP
p4	QVLQGLVFGA HK	0.52	ACP	0.484	0.516	NO ACP
p5	WRPELPPDLPK	0.52	ACP	0.015	0.985	NO ACP
p6	HWVQMPPSGMF K	0.51	ACP	0.326	0.674	NO ACP
p7	MLPPGGYYWDR	0.41	NO ACP	0.759	0.241	ACP
p8	HFSLLMGSLFK	0.92	ACP	0.894	0.106	ACP
p9	LHPDFSSLLK	0.67	ACP	0.815	0.185	ACP
p10	MAMLWDPRDD R	0.34	NO ACP	0.399	0.601	NO ACP
p11	VVLLPLGGPAR	0.43	NO ACP	0.002	0.998	NO ACP
p12	DLLLNLHPWK	0.54	ACP	0.168	0.832	NO ACP
p13	TLPDTLTEWK	0.51	ACP	0.67	0.33	ACP

p14	LTPDTLTEWK	0.51	ACP	0.593	0.407	NO ACP
p15	SDPLLLPLLK	0.49	ACP	0.019	0.981	NO ACP
p16	LYVPQAYRWK	0.43	NO ACP	0.744	0.256	ACP
p17	AMPLLLLPLK	0.55	ACP	0.008	0.992	NO ACP
p18	GFQVVQPARK	0.42	NO ACP	0.105	0.895	NO ACP
p19	ATATNAEMYR	0.28	NO ACP	0.061	0.939	NO ACP
p20	WVLFGFFPGR	0.71	ACP	0.708	0.292	ACP
p21	HFFPDELWK	0.46	ACP	0.983	0.017	ACP
p22	WLGNFPEPR	0.57	ACP	0.018	0.982	NO ACP
p23	TFHDTATPR	0.27	NO ACP	0.612	0.388	NO ACP
p24	DLFVLVMMR	0.28	NO ACP	0.325	0.675	NO ACP
p25	LLGPHRGVR	0.63	ACP	0.114	0.886	NO ACP
p26	GFVVGDHVR	0.32	NO ACP	0.829	0.171	ACP
p27	TFGPYTNR	0.43	NO ACP	0.374	0.626	NO ACP
p28	YSEHAYPSK	0.29	NO ACP	0.948	0.052	ACP
p29	LVPLGSLLK	0.78	ACP	0.404	0.596	NO ACP
p30	VFVSPGLEK	0.31	NO ACP	0.917	0.083	ACP
p31	NSLDLLHWR	0.47	ACP	0.347	0.653	NO ACP
p32	ELGPVLLLR	0.35	NO ACP	0.003	0.997	NO ACP
p33	LDSPLQMWK	0.33	NO ACP	0.15	0.85	NO ACP
p34	VLPEVFEHK	0.3	NO ACP	0.877	0.123	ACP
p35	RFLAAVAPK	0.62	ACP	0.176	0.824	NO ACP
p36	FMWAAMYSR	0.49	ACP	0.801	0.199	ACP

p37	SATPYTYSK	0.4	NO ACP	0.916	0.084	ACP
p38	TYMWPPANR	0.53	ACP	0.085	0.915	NO ACP
p39	WLGPAATPR	0.52	ACP	0.006	0.994	NO ACP
p40	FGVLLQAPK	0.64	ACP	0.033	0.967	NO ACP
p41	EVVVPLKK	0.43	NO ACP	0.807	0.193	ACP
p42	VEVVLPQK	0.2	NO ACP	0.413	0.587	NO ACP
p43	FPEPVLVK	0.38	NO ACP	0.862	0.138	ACP
p44	TDTFFNHR	0.22	NO ACP	0.934	0.066	ACP
p45	AVLGPLLK	0.78	ACP	0.479	0.521	NO ACP
p46	KAEQVPWK	0.37	NO ACP	0.773	0.227	ACP
p47	WVMHLEPK	0.41	NO ACP	0.449	0.551	NO ACP
p48	DLALHVHK	0.58	ACP	0.687	0.313	ACP
p49	FFPEDLWK	0.47	ACP	0.98	0.02	ACP
p50	VEALHVHK	0.43	NO ACP	0.937	0.063	ACP
p51	MFVQFTLK	0.26	NO ACP	0.753	0.247	ACP
p52	AVLGPLLK	0.78	ACP	0.479	0.521	NO ACP
p53	DGWLPVPK	0.49	ACP	0.341	0.659	NO ACP
p54	NNAHVLHK	0.5	ACP	0.806	0.194	ACP
p55	TDTFFNHR	0.22	NO ACP	0.934	0.066	ACP
p56	KGSLDPK	0.52	ACP	0.239	0.761	NO ACP
p57	MLVVRPLR	0.4	NO ACP	0.187	0.813	NO ACP
p58	MVVLEMMR	0.28	NO ACP	0.933	0.067	ACP
p59	LPLLPLLK	0.58	ACP	0.058	0.942	NO ACP

p60	VDTVLPK	0.38	NO ACP	0.091	0.909	NO ACP
p61	MDPPLLWR	0.41	NO ACP	0.13	0.87	NO ACP
p62	TYNAKFYK	0.61	ACP	0.951	0.049	ACP
p63	FGLVSVPR	0.49	ACP	0.25	0.75	NO ACP
p64	LTVGPLTK	0.52	ACP	0.233	0.767	NO ACP
p65	FFPEDLWK	0.47	ACP	0.98	0.02	ACP
p66	VVMLPFFR	0.39	NO ACP	0.565	0.435	ACP
p67	WVMHLEPK	0.41	NO ACP	0.449	0.551	NO ACP
p68	FFPENNWK	0.32	NO ACP	0.947	0.053	ACP
p69	LWDLVKPR	0.53	ACP	0.368	0.632	NO ACP
p70	QFAPLFLK	0.69	ACP	0.762	0.238	ACP
p71	RANMPRAK	0.32	NO ACP	0.036	0.964	NO ACP
p72	MFAFDHFK	0.31	NO ACP	0.967	0.033	ACP
p73	MLSASGSK	0.44	NO ACP	0.817	0.183	ACP
p74	LWDLVQPR	0.35	NO ACP	0.13	0.87	NO ACP
p75	LLNLLPR	0.43	NO ACP	0.106	0.894	NO ACP
p76	MLLELAR	0.3	NO ACP	0.105	0.895	NO ACP
p77	MLLELAR	0.3	NO ACP	0.105	0.895	NO ACP
p78	LALLSQK	0.44	NO ACP	0.088	0.912	NO ACP
p79	LLDDLLK	0.46	ACP	0.947	0.053	ACP
p80	LLDDLLK	0.46	ACP	0.947	0.053	ACP
p81	LPPVLPR	0.4	NO ACP	0.023	0.977	NO ACP
p82	HHVPVAK	0.55	ACP	0.947	0.053	ACP

p83	DLVVPLK	0.44	NO ACP	0.146	0.854	NO ACP
p84	VTPPLK	0.31	NO ACP	0.244	0.756	NO ACP
p85	ALLPSMK	0.58	ACP	0.07	0.93	NO ACP
p86	DLVVPLK	0.44	NO ACP	0.146	0.854	NO ACP
p87	EPNLLPR	0.35	NO ACP	0.115	0.885	NO ACP
p88	LVYSVPK	0.4	NO ACP	0.852	0.148	ACP
p89	LSADTWK	0.53	ACP	0.925	0.075	ACP
p90	WLSVVPR	0.61	ACP	0.635	0.365	ACP
p91	LALQFVR	0.51	ACP	0.036	0.964	NO ACP
p92	LALLQSK	0.44	NO ACP	0.06	0.94	NO ACP
p93	QPVYPWK	0.47	ACP	0.836	0.164	ACP
p94	MFMVTYR	0.37	NO ACP	0.929	0.071	ACP
p95	MLEMSSK	0.2	NO ACP	0.904	0.096	ACP
p96	LVYPVSK	0.4	NO ACP	0.845	0.155	ACP
p97	MLEMSSK	0.2	NO ACP	0.904	0.096	ACP
p98	LPPLVPR	0.4	NO ACP	0.021	0.979	NO ACP
p99	DLLPLLR	0.48	ACP	0.114	0.886	NO ACP
p100	LLTHVMK	0.47	ACP	0.821	0.179	ACP
p101	NMMYHWK	0.34	NO ACP	0.95	0.05	ACP
p102	ELQLALK	0.25	NO ACP	0.242	0.758	NO ACP
p103	LTSQFYK	0.39	NO ACP	0.921	0.079	ACP
p104	ALGYNNK	0.29	NO ACP	0.718	0.282	ACP
p105	YFTWLHK	0.52	ACP	0.971	0.029	ACP

p106	QQLALLR	0.22	NO ACP	0.138	0.862	NO ACP
p107	YDMVTYR	0.18	NO ACP	0.969	0.031	ACP
p108	QMWVPNK	0.45	ACP	0.841	0.159	ACP
p109	YDLVFYK	0.46	ACP	0.985	0.015	ACP
p110	VTEWDYK	0.2	NO ACP	0.975	0.025	ACP
p111	DLLLHTR	0.44	NO ACP	0.231	0.769	NO ACP
p112	LYEWSLK	0.48	ACP	0.94	0.06	ACP
p113	EPPEPRR	0.74	ACP	0.514	0.486	ACP
p114	MWVFPER	0.63	ACP	0.966	0.034	ACP
p115	MLLLHSR	0.52	ACP	0.462	0.538	NO ACP
p116	LTVSRPR	0.21	NO ACP	0.382	0.618	NO ACP
p117	ANAVAVR	0.29	NO ACP	0.109	0.891	NO ACP
p118	YDLVFYK	0.46	ACP	0.985	0.015	ACP
p119	LVAATLK	0.75	ACP	0.076	0.924	NO ACP
p120	DLTVVVK	0.25	NO ACP	0.746	0.254	ACP
p121	LYLDLK	0.44	NO ACP	0.849	0.151	ACP
p122	FFYPGK	0.67	ACP	0.993	0.007	ACP
p123	WAFPLK	0.57	ACP	0.815	0.185	ACP
p124	FFYPGK	0.67	ACP	0.993	0.007	ACP
p125	LYLDLK	0.44	NO ACP	0.849	0.151	ACP
p126	FQVLVK	0.43	NO ACP	0.967	0.033	ACP
p127	WVDLDK	0.55	ACP	0.955	0.045	ACP
p128	WAFPLK	0.57	ACP	0.815	0.185	ACP

p129	LLPFPR	0.69	ACP	0.31	0.69	NO ACP
p130	WLLLTR	0.65	ACP	0.417	0.583	NO ACP
p131	LLPFPR	0.69	ACP	0.31	0.69	NO ACP
p132	TWDMAK	0.33	NO ACP	0.955	0.045	ACP
p133	NFLMAR	0.28	NO ACP	0.875	0.125	ACP
p134	TFPLPK	0.46	ACP	0.721	0.279	ACP
p135	TFPPLK	0.46	ACP	0.744	0.256	ACP
p136	MEMMFK	0.29	NO ACP	0.969	0.031	ACP
p137	LLVSHK	0.75	ACP	0.75	0.25	ACP
p138	LVQDLK	0.25	NO ACP	0.092	0.908	NO ACP
p139	TWSETK	0.37	NO ACP	0.972	0.028	ACP
p140	LFDVYK	0.51	ACP	0.966	0.034	ACP
p141	MWDAPR	0.38	NO ACP	0.895	0.105	ACP
p142	AVLDLK	0.56	ACP	0.334	0.666	NO ACP
p143	MEMMFK	0.29	NO ACP	0.969	0.031	ACP
p144	MDLFVR	0.29	NO ACP	0.951	0.049	ACP
p145	LLVSHK	0.75	ACP	0.75	0.25	ACP
p146	TFPPLK	0.46	ACP	0.744	0.256	ACP
p147	DEVLVK	0.16	NO ACP	0.933	0.067	ACP
p148	GFWESR	0.56	ACP	0.966	0.034	ACP
p149	LYPSAK	0.39	NO ACP	0.735	0.265	ACP
p150	FMVGEK	0.39	NO ACP	0.975	0.025	ACP
p151	LFEYGR	0.41	NO ACP	0.946	0.054	ACP

p152	LMMDNK	0.13	NO ACP	0.957	0.043	ACP
p153	WLLLEK	0.54	ACP	0.954	0.046	ACP
p154	VTLPLK	0.59	ACP	0.177	0.823	NO ACP
p155	DFTDNK	0.08	NO ACP	0.82	0.18	ACP
p156	LVDKLN	0.59	ACP	0.755	0.245	ACP
p157	YPSTER	0.31	NO ACP	0.794	0.206	ACP
p158	QKTVYR	0.29	NO ACP	0.965	0.035	ACP
p159	VEYSRR	0.35	NO ACP	0.768	0.232	ACP
p160	RPSVHK	0.56	ACP	0.829	0.171	ACP
p161	YQFPPR	0.56	ACP	0.898	0.102	ACP
p162	YVTAEK	0.07	NO ACP	0.964	0.036	ACP
p163	LMPMFR	0.54	ACP	0.85	0.15	ACP
p164	YNFDMR	0.17	NO ACP	0.964	0.036	ACP
p165	LPATNK	0.26	NO ACP	0.044	0.956	NO ACP
p166	DLLMFR	0.34	NO ACP	0.951	0.049	ACP
p167	NDMFFK	0.11	NO ACP	0.967	0.033	ACP
p168	ELVEHK	0.26	NO ACP	0.87	0.13	ACP
p169	TFPLPK	0.46	ACP	0.721	0.279	ACP
p170	LVEEHK	0.26	NO ACP	0.82	0.18	ACP
p171	LSTLR	0.36	NO ACP	0.934	0.066	ACP
p172	LLLQR	0.34	NO ACP	0.957	0.043	ACP
p173	DLLFK	0.58	ACP	0.973	0.027	ACP
p174	EVLLR	0.26	NO ACP	0.968	0.032	ACP

p175	FEYGR	0.47	ACP	0.972	0.028	ACP
p176	FAVER	0.31	NO ACP	0.969	0.031	ACP
p177	LDELK	0.26	NO ACP	0.935	0.065	ACP
p178	LPALK	0.6	ACP	0.723	0.277	ACP
p179	LQDFR	0.28	NO ACP	0.965	0.035	ACP
p180	DLLFK	0.58	ACP	0.973	0.027	ACP
p181	EVLLR	0.26	NO ACP	0.968	0.032	ACP
p182	NNLFK	0.41	NO ACP	0.948	0.052	ACP
p183	EEPDK	0.21	NO ACP	0.961	0.039	ACP
p184	SSWKK	0.74	ACP	0.999	0.001	ACP
p185	LPLLR	0.59	ACP	0.905	0.095	ACP
p186	TLLSK	0.46	ACP	0.862	0.138	ACP
p187	LFPLK	0.69	ACP	0.929	0.071	ACP
p188	AVLVR	0.21	NO ACP	0.55	0.45	ACP
p189	FEYGR	0.47	ACP	0.972	0.028	ACP
p190	LTLK	0.46	ACP	0.837	0.163	ACP
p191	LSLTR	0.36	NO ACP	0.914	0.086	ACP
p192	SPSSK	0.42	NO ACP	0.981	0.019	ACP
p193	HSSEK	0.27	NO ACP	0.982	0.018	ACP
p194	SLELK	0.31	NO ACP	0.882	0.118	ACP
p195	LSDLR	0.42	NO ACP	0.942	0.058	ACP
p196	DLLLR	0.51	ACP	0.969	0.031	ACP
p197	MYGTK	0.49	ACP	0.982	0.018	ACP

p198	EVLLR	0.26	NO ACP	0.968	0.032	ACP
p199	FAMPR	0.42	NO ACP	0.971	0.029	ACP
p200	DLVAK	0.42	NO ACP	0.977	0.023	ACP
p201	LLQLR	0.34	NO ACP	0.94	0.06	ACP
p202	YAPLR	0.5	ACP	0.952	0.048	ACP
p203	VTELK	0.13	NO ACP	0.908	0.092	ACP
p204	HTAYK	0.53	ACP	0.973	0.027	ACP
p205	TAVPR	0.19	NO ACP	0.135	0.865	NO ACP
p206	SMSMR	0.16	NO ACP	0.961	0.039	ACP
p207	DLVAK	0.42	NO ACP	0.977	0.023	ACP

	péptidos predichos como ACPs por ambos programas
--	--

Anexo 3. Análisis de BLAST de los 48 ACPs predichos

[Anexo 2](#)