

**DETERMINACIÓN DEL MODO DE UNIÓN A LA PROTEÍNA DIPEPTIDIL
PEPTIDASA-IV (DPP-IV) DE METABOLITOS REPORTADOS DE ESPECIES DE LOS
GÉNEROS VISMIA, GARCINIA Y NEUROLAENA CON POTENCIAL APLICACIÓN
POLI FARMACOLÓGICA PARA EL TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD Y LA
DIABETES TIPO 2**

**JULIANA ESCOBAR SÁNCHEZ
STEFANIA RODRIGUEZ ZULUAGA**

**Proyecto integral de grado para optar por el título de
INGENIERO QUIMICO**

Directora

**Sol Milena Mejía Chica
Doctora en Ciencias Químicas**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C**

2022

NOTA DE ACEPTACIÓN

Sol Milena Mejía Chica

Firma del director

David Leonardo Sotelo Tobón

Firma Docente Jurado 1

Diana Morales Fonseca

Firma Docente Jurado 2

Bogotá D.C, febrero de 2022

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

DR. MARIO POSADA GARCÍA -PEÑA

Consejero institucional

DR. LUIS JAIME POSADA GARCÍA -PEÑA

Vicerrectoría Académica y de Investigaciones

DRA. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Vicerrector Administrativo y Financiero

DR. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretario General

DR. JOSÉ LUIS MACÍAS RODRÍGUEZ

Decano de la Facultad de Ingenierías (E)

DRA. ALEXANDRA MEJÍA GUZMÁN

Director del Programa de Ingeniería Química

ING. NUBIA LILIANA BECERRA OSPINA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi familia, especialmente a mis padres por apoyarme incondicionalmente, porque con sus consejos, paciencia, esfuerzo y dedicación me han ayudado a salir adelante. A mi hermanito, que me impulsa a ser una mejor persona y un ejemplo para él. A mi perrita Maya que me acompañó en todas las traspasadas y fue mi recarga de energía en los momentos de estrés. A mi compañera de tesis y mejor amiga Stefanía por ser mi polo a tierra desde el primer día de clases, por tantos momentos y experiencias inolvidables, por su entrega y dedicación, por ser el complemento perfecto de este dúo dinamita y por haberse aventurado a realizar esta tesis conmigo, porque sin el equipo que formamos, no habiéramos logrado esta meta. A mi amiga Laura, por sus palabras de ánimo, por su cariño, su apoyo y por estar conmigo en todo momento y a todos quienes contribuyeron con un granito de arena para alcanzar este logro.

Juliana Escobar Sánchez

Quiero dedicar este trabajo a mis padres quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más. A mi hermana por ser mi apoyo incondicional. A mi novio que siempre creyó en mí. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

Quiero también dedicar este trabajo a mi compañera de tesis, amiga y hermana Juliana que me acompañó en todo este proceso académico desde el momento cero, por hacer de estos años algo tan especial e inolvidable, por su esfuerzo y dedicación diaria que hoy se ven recompensados, y que por fin podemos decir que lo logramos. Y finalmente, a todas las personas con las que me cruce en algún punto de este camino que me animaron para seguir adelante y culminar satisfactoriamente esta etapa.

Stefania Rodríguez Zuluaga

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a nuestros padres: Luis Felipe y Claudia Leonor; Marco Antonio y Lina María, por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestras expectativas, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

Agradecemos a nuestros docentes de la Fundación Universidad de América por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra profesión, de manera especial a nuestra directora Sol Milena Mejía de la Pontificia Universidad Javeriana, a nuestra codirectora Gloria Astrid Nausa y al PhD Harvey Fabián López Vallejo por su colaboración en cada etapa de nuestro proceso, quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que creciéramos como profesionales, a cada uno de ellos agradecemos por su paciencia, dedicación y apoyo incondicional.

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	15
INTRODUCCIÓN	16
OBJETIVOS	20
1. MARCO TEÓRICO	21
1.1 Generalidades de los géneros <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae), <i>Garcinia</i> spp.(Clusiaceae) y <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	21
<i>1.1.1 Género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae)</i>	<i>21</i>
<i>1.1.2 Género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)</i>	<i>22</i>
<i>1.1.3 Género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)</i>	<i>22</i>
1.2 Generalidades de la obesidad	23
<i>1.2.1 Tratamiento actual para la obesidad</i>	<i>24</i>
1.3. Generalidades de la diabetes tipo II	25
<i>1.3.1 Tratamiento actual de la diabetes tipo II</i>	<i>26</i>
1.4 Generalidades del blanco molecular DPP-IV	29
1.5 Generalidades del acoplamiento molecular (Docking)	30
2. METODOLOGÍA	32
2.1 OE1. Determinar el grupo de metabolitos secundarios con los que se hará el acoplamiento molecular y sus estructuras moleculares	32
2.2 OE2. Seleccionar y preparar la estructura 3D del blanco Dipeptidil Peptidasa-IV (DPP-IV) identificando su sitio activo	33

2.3 OE3. Modelar los modos de unión de los metabolitos secundarios y el blanco molecular	34
2.4 OE4. Caracterización farmacocinética de los metabolitos con mayor potencial inhibitorio	34
3. RESULTADOS	36
3.1 Búsqueda y selección de metabolitos reportados de los géneros Vismia spp. (Hypericaceae), Garcinia spp. (Clusiaceae) y Neurolaena spp. (Asteraceae).	36
3.2 Selección y preparación de la estructura 3D del blanco Dipeptidil Peptidasa- IV	53
3.3 Modelar los modos de unión de los metabolitos secundarios y el blanco molecular	59
3.4 Caracterizar el grupo de metabolitos con el mayor potencial de actividad inhibitoria frente al DPP-IV	66
<i>3.4.1 Caracterización de los metabolitos como posibles fármacos de administración oral.</i>	68
<i>3.4.2 Caracterización de los metabolitos como posibles fármacos con otras formas de administración</i>	82
CONCLUSIONES	94
BIBLIOGRAFÍA	96
ANEXOS	102

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ruta metabólica de la acción de la DPP-IV	18
Figura 2. Caracterización de la enzima DPP-IV y sus sitios activos	30
Figura 3. Enzima DPP-IV preparada en Maestro [®] sin y con superficie	55
Figura 4. Estados de protonación con respecto al pH del ligando 2KS	55
Figura 5. Comparación del ligando 2KS original con el resultado de acoplamiento más estable del redocking obtenida en AutodockTools	57
Figura 6. Comparación del ligando 2KS con el resultado de acoplamiento más estable del redocking obtenida en el software Maestro [®]	58
Figura 7. Interacciones del ligando 2KS con la proteína DPP-IV	59
Figura 8. Interacciones que presenta el fármaco Linagliptina con la enzima DPP-IV	75
Figura 9. Interacciones que presenta el fármaco Sitagliptina con la enzima DPP-IV	75
Figura 10. Interacciones que presenta el fármaco Alogliptina con la enzima DPP-IV	76
Figura 11. Interacciones que presenta el ligando V-1 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	77
Figura 12. Interacciones que presenta el ligando V-2 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	77
Figura 13. Interacciones que presenta el ligando V-3 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	78
Figura 14. Interacciones que presenta el ligando G-1 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	78
Figura 15. Interacciones que presenta el ligando G-2 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	79
Figura 16. Interacciones que presenta el ligando G-3 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	79

Figura 17. Interacciones que presenta el ligando N-1 del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la enzima DPP-IV	80
Figura 18. Interacciones que presenta el ligando V-4 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	84
Figura 19. Interacciones que presenta el ligando V-5 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	85
Figura 20. Interacciones que presenta el ligando V-6 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	85
Figura 21. Interacciones que presenta el ligando V-7 del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV	86
Figura 22. Interacciones que presenta el ligando G-4 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	86
Figura 23. Interacciones que presenta el ligando G-5 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	87
Figura 24. Interacciones que presenta el ligando G-6 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	87
Figura 25. Interacciones que presenta el ligando G-7 del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV	88
Figura 26. Interacciones que presenta el ligando N-2 del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la enzima DPP-IV	88
Figura 27. Interacciones que presenta el ligando N-3 del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la enzima DPP-IV	89
Figura 28. Interacciones que presenta el ligando N-4 del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la enzima DPP-IV	89
Figura 29. Interacciones que presenta el ligando N-5 del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la enzima DPP-IV	90

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de la obesidad para el año 2018	24
Tabla 2. Medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de la diabetes tipo II para el año 2020	27
Tabla 3. Metabolitos reportados en el género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae)	36
Tabla 4. Metabolitos reportados en el género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)	41
Tabla 5. Metabolitos reportados en la especie <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	48
Tabla 6. Dimensiones (Angstroms) del Grid Box establecidas para el acoplamiento molecular	57
Tabla 7. Porcentaje de distribución de las microespecies (estados de protonación) a un pH de 7,4 de los metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae).	59
Tabla 8. Porcentaje de distribución de las microespecies (estados de protonación) a un pH de 7,4 de los metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)	60
Tabla 9. Porcentaje de distribución de las microespecies (estados de protonación) a un pH de 7,4 de los metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	61
Tabla 10. Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la proteína DPP-IV	63
Tabla 11. Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la proteína DPP-IV	64
Tabla 12. Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la proteína DPP-IV	64
Tabla 13. Parámetros farmacocinéticos obtenidos para metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae)	66
Tabla 14. Parámetros farmacocinéticos obtenidos para metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)	67

Tabla 15. Parámetros farmacocinéticos obtenidos para metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	67
Tabla 16. Parámetros de las reglas de Ghose evaluados en metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae)	69
Tabla 17. Parámetros de las reglas de Ghose evaluados en metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)	69
Tabla 18. Parámetros de las reglas de Ghose evaluados en metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	70
Tabla 19. Parámetros de las reglas de Veber evaluados en metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae)	70
Tabla 20. Parámetros de las reglas de Veber evaluados en metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)	70
Tabla 21. Parámetros de las reglas de Veber evaluados en metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	71
Tabla 22. Número de incumplimientos a las reglas Lipinski, Ghose, Veber en metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae)	71
Tabla 23. Número de incumplimientos a las reglas Lipinski, Ghose, Veber en metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae)	72
Tabla 24. Número de incumplimientos a las reglas Lipinski, Ghose, Veber en metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae)	72
Tabla 25. Resumen de los resultados de acoplamiento a la proteína DPP-IV comparados con el potencial inhibitorio de medicamentos de administración oral reportados en la literatura	73
Tabla 26. Interacciones de los medicamentos con los residuos de aminoácidos del sitio activo de la DPP-IV	76
Tabla 27. Interacciones de los ligandos con los residuos de aminoácidos del sitio activo de la DPP-IV	81

Tabla 28. Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género <i>Vismia</i> spp. (Hypericaceae) con la proteína DPP-IV	83
Tabla 29. Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género <i>Garcinia</i> spp. (Clusiaceae) con la proteína DPP-IV	83
Tabla 30. Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género <i>Neurolaena</i> spp. (Asteraceae) con la proteína DPP-IV	84
Tabla 31. Interacciones de los ligandos con los residuos de aminoácidos del sitio activo de la DPP-IV	91

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Aspártico
CAC	Cuenta de Alto Costo
DM	Diabetes Mellitus
DPP-IV	Dipeptidil Peptidasa IV
FDA	US Food and Drug Administration
GLP-1	Péptido similar al Glucagón tipo 1
Glu	Glutámico
His	Histidina
IDF	International Diabetes Federation
IMC	Índice de Masa Corporal
Ki	Constante inhibitoria
Lys	Lisina
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAINS	Pan Assay INterference Compounds
PDB	Protein Data Bank
Phe	Fenilalanina
PS	Proteasas de tipo Serino
RMSD	Desviación cuadrática media
Ser	Serina
Trp	Triptófano
Tyr	Tirosina
Val	Valina

RESUMEN

El propósito de este estudio es realizar acoplamiento molecular de metabolitos secundarios presentes en los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) a la proteína Dipeptidil Peptidasa IV (DPP-IV) con el fin de identificar potenciales fármacos contra la diabetes Mellitus tipo 2 y la obesidad las cuales son enfermedades con una alta morbilidad a nivel mundial. Por lo que desde el año 2014 la alianza (PRONADIAB) integrada por investigadores de la Pontificia Universidad Javeriana y la Universidad Nacional de Colombia ha planteado buscar alternativas naturales, a partir de plantas nativas del Chocó para el tratamiento de estas enfermedades.

Para la modelación de las moléculas se utilizaron los programas Maestro[®], MarvinSketch y Avogadro. Se incluyó el efecto del pH mediante el cálculo de las protonaciones respectivas de la proteína y de los 75 metabolitos considerados. Consecuentemente se procedió a realizar el acoplamiento molecular por medio del software PyRx en el que se encontraron los mejores resultados de afinidad de unión y de la constante de inhibición para los metabolitos Sesamina (afinidad = -9,2 kcal/mol, $K_i = 1,80E-07$), 9-Hydroxycalabaxantona (afinidad = -9,7 kcal/mol, $K_i=7,75E-08$) y Neurolenina C (afinidad = -8,8 kcal/mol, $K_i = 3,54E-07$). Como punto de referencia, se tuvo en cuenta el ligando natural de la proteína 2KS (afinidad = -8,4 kcal/mol, $K_i=6,95E-07$) y a su vez se determinó cuáles metabolitos podrían ser fármacos de administración oral por medio del cálculo de parámetros farmacocinéticos obtenidos con la herramienta SwissADME. Adicionalmente, metabolitos como Deacetylsiringaresinol (afinidad = -10 kcal/mol, $K_i = 4,67E-08$), Tovophyllin (afinidad = -11,0 kcal/mol, $K_i = 8,63E-09$) y 6-hidroxluteolina 7-glucósido (afinidad = -9,4 kcal/mol, $K_i = 1,29E-07$), también se reportan como potenciales fármacos debido a sus altas afinidades y bajas constantes de inhibición, estos no pueden ser administrados de manera oral, pero se puede considerar su encapsulación en materiales poliméricos. En cuanto al modo de unión, las altas afinidades se explican con base en la abundancia de interacciones y la fortaleza de las mismas ya que en su gran mayoría se observaron interacciones tipo PI-PI, puentes de hidrógeno y PI – catión con residuos de aminoácidos del tipo Glutámicos, Tirosinas, Serinas y Argininas. Por lo tanto, se predice posible actividad inhibitoria contra la DPP-IV para diferentes metabolitos contenidos en las plantas nativas del Chocó.

Palabras Clave: *Docking*, DPP-IV, fármacos, metabolitos secundarios, productos naturales, inhibición, obesidad, diabetes mellitus tipo 2.

INTRODUCCIÓN

En el siglo XXI la estrecha relación existente entre diabetes mellitus de tipo 2 y obesidad ha convertido a estas enfermedades en una pandemia silenciosa, lo cual ha propiciado la aparición del término "diabesidad"[1]. Estas enfermedades constituyen un problema de salud relacionado con el cambio metabólico provocado básicamente por los ritmos de vida de la población actual; los cuales inducen a estilos de vida poco saludables basados en dietas altas en calorías y grasas saturadas. Estas enfermedades tienen como base patogénica la resistencia a la insulina [2] y devienen unas de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo. “Se reporta que las cifras a inicios del siglo eran aproximadamente 150 millones de personas diabéticas, pero incluso se espera que afecte a 380 millones para el 2025” [3]. “El aumento mayor lo muestra la población de 45 a 64 años en los países tercermundistas. Desde el punto de vista epidemiológico se pronostica que la prevalencia de diabetes se incrementará en 35%, fundamentalmente en los países en vías de desarrollo” [1].

Por su parte, la obesidad ha causado aproximadamente 2,8 millones de muertes anualmente. De acuerdo con estudios realizados por la Organización Internacional para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) se estima que en los próximos 30 años cerca de 90 millones de personas morirán a causa de obesidad y sobrepeso a nivel mundial [4]. En Colombia, la situación no mejora, según la Encuesta Nacional de la Situación Nutricional (ENSIN) para 2015,

«se pudo identificar que uno de cada tres jóvenes y adultos en Colombia presentan sobrepeso (37,7%), mientras que uno de cada cinco es obeso (18,7%). En este sentido, el 56,4% de la población presenta exceso de peso, lo que significa un incremento de 5,2 puntos porcentuales con respecto a los resultados de la encuesta ENSIN del 2010; además, la obesidad es más frecuente en las mujeres (22,4%) que en los hombres (14,4%)» [5].

Para el 2017 la Cuenta de Alto Costo (CAC) reportó 1.099.471 casos de diabetes, evidenciando que la mayor carga de la enfermedad se registra en la región central, incluida Bogotá, responsable del 46% de los casos reportados [6]. Además, revelan que

«el costo total promedio/año por caso de diabetes es de \$4.800.000. De tal forma, que el gasto nacional del tratamiento de la diabetes tipo 2 corresponde a 5.277.460.800.000 COP/año. La región pacífica ocupa el cuarto lugar como la región en donde el tratamiento de la diabetes es

más costoso con 920.275.200.000 COP/año en comparación a Bogotá D.C. en dónde el gasto es el más alto del país con 1.016.534.400.000 COP/año» [7].

“De estos datos se puede concluir que, de los 45 billones de COP/años destinados a la salud (8.3% de PIB nacional), el 3.88% fue utilizado en 2018 para el tratamiento y control de la obesidad y enfermedades asociadas” [7]. En consecuencia, el gobierno colombiano clasificó a las enfermedades crónicas no transmisibles asociadas como una prioridad de salud pública con la ley 1355 de 2009 [7].

En Colombia y especialmente en el departamento del Chocó, la medicina tradicional y complementaria, sus remedios tradicionales y las plantas medicinales útiles para el tratamiento etnofarmacológico de la obesidad y la diabetes no han sido tenidas en cuenta como estrategia nacional y regional en la lucha en contra de estas enfermedades. Esta situación es producto del limitado conocimiento de la diversidad florística y su potencial terapéutico, así como la falta de evidencia experimental sólida sobre la utilidad de las mismas como tratamientos naturales para la obesidad y la diabetes.

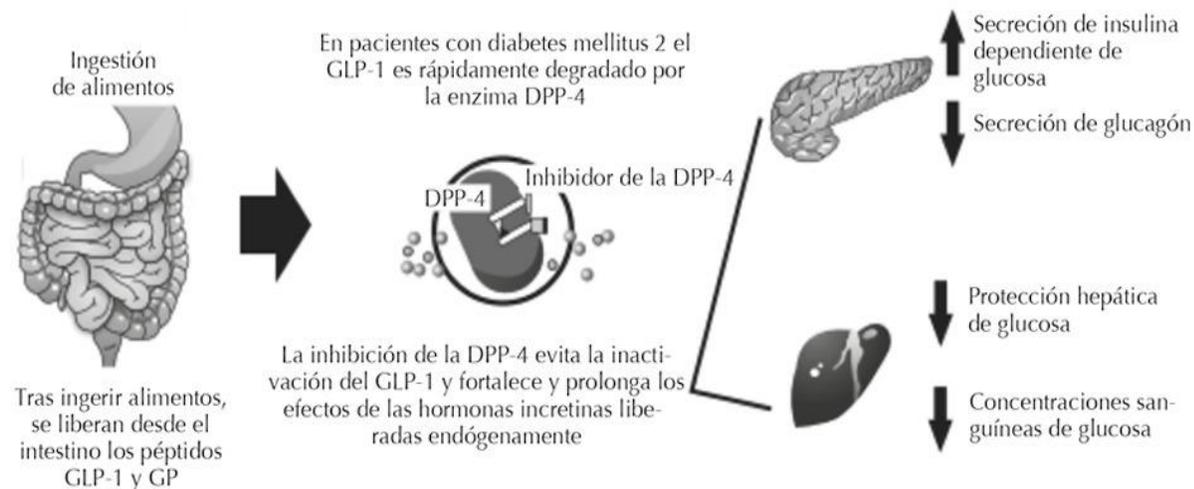
Es por esta razón que desde el 2014 la alianza PRONADIAB, integrada por investigadores de la Pontificia Universidad Javeriana y la Universidad Nacional de Colombia, ha realizado estudios etnobotánicos y etnofarmacológicos en los que se ha encontrado que la medicina tradicional chocoana para el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo 2 ofrece un sistema etnoterapéutico efectivo, seguro y económico que suple eficazmente el limitado acceso de cierto sector de la población a las terapias convencionales. Estudios de esta alianza buscan proponer metabolitos secundarios, obtenidos a partir de un amplio espectro de plantas medicinales, que puedan ser implementados a través del uso de remedios naturales. Se resaltan especies que pertenecen a los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) [7] las cuales son plantas nativas del departamento del Chocó que podrían permitir la inhibición de la proteína Dipeptidil Peptidasa-IV (DPP-IV) de manera eficiente, ya que al inhibir esta proteína existe menos acumulación de glucosa en la sangre por lo que se disminuirían los costos relacionados al tratamiento de estas enfermedades.

Desde la experimentación se confirma que dichas especies son útiles como insecticidas, analgésicos, antimaláricos, antileucémicos, antioxidantes y para la estimulación de la síntesis de colágeno [8] adicionalmente, son usados como terapia alternativa frente a diversas enfermedades

como asma, bronquitis y diabetes [9]. Sin embargo, los resultados de estos estudios se pueden optimizar desarrollando metodologías computacionales que permitan complementar las pruebas de cribado experimentales a partir del estudio de grandes librerías de compuestos generadas por la química combinatoria reduciendo los tiempos empleados, recursos y posibles resultados erróneos o indeseados. Para el tratamiento de la diabetes se ha empleado el diseño de fármacos asistido por computadora (DiFAC), por ejemplo, “se estudiaron metabolitos que tuvieran mayor potencial polifuncional sobre las proteínas α -glucosidasa, α -amilasa y lipasa pancreática, reportando entonces a ZINC000043552589 que es una molécula del tipo Flavona, junto con ZINC000085935393 que corresponde a un alcaloide bencilisoquinolinico y ZINC000008234345 que es un ácido hidroxicinámico”[10]. No obstante, de acuerdo a nuestro conocimiento, no se han tenido en cuenta los metabolitos que inhiben la Dipeptidil Peptidasa-IV, la cual es responsable de inactivar el péptido similar al glucagón-1 (GLP-1) que controla la concentración sanguínea de glucosa, ver Figura 1

Figura 1.

Ruta metabólica de la acción de la DPP-IV



Nota. La glucosa estimula la liberación del GLP-1 y el GP, estos estimulan la liberación de insulina e inhiben la liberación de glucagón, los inhibidores de la DPP-4 prolongan la acción de las incretinas endógenas, mejorando la respuesta a la insulina de primera fase. Tomado de: S. Zúñiga-Guajardo, R. Rodríguez-Gutiérrez, J. Yamamoto-Cuevas, and S. C. Juárez-Comboni, “Comparación de la eficacia de los iDPP-4 actualmente disponibles y ventajas antihiper glucemiantes de linagliptina en pacientes con diabetes mellitus 2,” *Med. Interna Mex.*, vol. 31, no. 4, pp. 441–453, 2015.

Con base a lo anterior se buscó determinar un grupo de metabolitos secundarios con gran potencial de actividad inhibitoria frente a la proteína Dipeptidil Peptidasa-IV (DPP-IV) por medio de cálculos de acoplamiento molecular. Para esto, se determinó el orden de afinidad de los diferentes metabolitos con el fin de establecer los más promisorios que junto con la evaluación de sus propiedades físico-químicas nos permitió proponer su posible medio de administración.

OBJETIVOS

Objetivo General

Proponer un conjunto de metabolitos de especies de los géneros *Vismia*, *Garcinia* y *Neurolaena* con potencial aplicación polifarmacológica para el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo 2.

Objetivos Específicos

- Determinar el grupo de metabolitos secundarios con los que se hará el acoplamiento molecular y sus estructuras moleculares.
- Seleccionar y preparar la estructura 3D del blanco Dipeptidil Peptidasa-IV (DPP-IV) identificando su sitio activo.
- Modelar los modos de unión de los metabolitos secundarios y el blanco molecular.
- Caracterización farmacocinética de los metabolitos con mayor potencial inhibitorio frente a la DPP-IV.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Generalidades de los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) plantea una estrategia sobre la medicina tradicional 2014-2030. “La estrategia tiene la finalidad de ayudar a los estados miembros a desarrollar políticas dinámicas y aplicar planes de acción que refuercen el papel de la medicina tradicional en el mantenimiento de la salud de las personas” [11].

Considerando lo anterior, se estudiarán los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) “debido a que son fuente natural de sustancias bioactivas capaces de inhibir la actividad catalítica de algunas enzimas digestivas con importancia terapéutica en el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo 2. No obstante, el potencial terapéutico de estos géneros aún no ha sido completamente explorado” [7], por lo cual, se pretende evaluar el potencial antidiabético y anti obesidad de los metabolitos secundarios presentes en las plantas medicinales utilizadas en el departamento del Chocó colombiano.

«Los metabolitos secundarios, en particular los alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos, son compuestos químicos que no actúan en el metabolismo primario de las plantas, pero intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente. Se sintetizan cuando las plantas están en condiciones adversas, entre ellas, el ataque por herbívoros, microorganismos y la presencia de diferentes especies que compiten por luz, agua y nutrientes»[12].

1.1.1 Género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*)

“*Vismia* es un género de plantas perteneciente a la familia *Hypericaceae*, las especies de este género son árboles y arbustos de amplia distribución, tiene aproximadamente cerca de setenta especies que se encuentran distribuidas en América Central y del Sur; Centro y Oeste de África y muy pocas especies en Asia” [8]. De acuerdo a reportes previos, el potencial antioxidante de las especies de *Vismia* puede estar relacionado con antronas, antraquinonas, flavonoides y derivados fenólicos biosintetizados por estas plantas [13].

«Estas especies han sido empleadas abundantemente alrededor del mundo en la medicina tradicional para el tratamiento de algunas enfermedades, particularmente el látex producido por diferentes especies, tales como *V. augusta*, *V. confertiflora*, *V. dealbata*, *V. baccifera* ssp.

ferruginea y *V. guianensis* entre otras, se ha usado para el tratamiento de heridas y ulceraciones infectadas, enfermedades fúngicas de la piel, herpes en los labios, como purgante y febrífugo, entre otras» [14].

1.1.2 Género *Garcinia* spp. (Clusiaceae)

Garcinia es un género de la familia Clusiaceae que incluye más de 250 especies de arbustos y árboles comunes en los bosques húmedos tropicales de tierras bajas. Es nativo de Asia, Australia, África tropical y sureña y Polinesia. Tiene especies de árboles siempreverdes y arbustos, es dioico y varios de sus elementos son apomícticos [15].

«Muchas especies de *Garcinia* tienen frutos comestibles, comercializados localmente. La especie más conocida es el mangostán (*G. mangostana*), ahora cultivada en el sudeste de Asia, y en países tropicales después de recientes introducciones. Las menos conocidas son: la especie kandis (*G. forbesii*) con una pequeña fruta redonda de color rojo, de un sabor sub-ácido y sensación carnosa; el mangostán gota de limón (*G. intermedia*) de fruto amarillo, similar a un limón arrugado; y el mangostán de piel fina (*G. prainiana*) de color naranja»[16].

“Las especies tropicales de *Garcinia* se conocen por su goma-resina parda amarilla (xantona), usada como pigmento, purgativa y catártica. Debido a su uso tan extendido como pigmento, sobre todo en tiempos antiguos, se ha dado el nombre de “color gamboge” a este pigmento” [16].

1.1.3 Género *Neurolaena* spp. (Asteraceae)

«Es una planta herbácea de la familia Asteraceae, comprende 26 especies descritas y de estas, solo 12 aceptadas. Esta especie está muy extendida en todo Centroamérica, aunque también se ha encontrado en el noroeste de América del Sur y en Colombia se encuentra en regiones como la Amazonia, Andes, Pacífico, Valle del Cauca y Valle del Magdalena. Se utiliza comúnmente como remedio contra varias enfermedades, como malaria, diabetes, enfermedades de la piel, dolor de estómago y úlceras generales» [17].

“Se sugirió que la actividad analgésica se debe a la interferencia con el proceso inflamatorio. La caracterización farmacológica y fitoquímica de la planta atribuyó los diferentes efectos terapéuticos a las lactonas sesquiterpénicas identificadas como constituyentes principales” [18].

1.2 Generalidades de la obesidad

“La obesidad es una enfermedad por desequilibrio calórico que deriva de una ingesta excesiva de calorías por encima del consumo requerido por el organismo, conllevando un exceso de peso corporal. Clásicamente se ha definido la obesidad como el exceso de tejido adiposo de magnitud suficiente para afectar a la salud” [19]. Se diagnostica mediante el índice de masa corporal (IMC), según la OMS (Organización Mundial de la Salud) cuando se tiene un IMC (en kg/m^2) de 18,5 a 24,9 se clasifica como normopeso, de 25 a 29,9 se clasifica como sobrepeso o preobeso, de 30 a 34,9 se clasifica como obesidad grado I o moderada, de 35 a 39,9 se clasifica como obesidad grado II o severa y cuando es mayor o igual a 40 se clasifica como obesidad grado III o mórbida [20]. Sin embargo, el IMC no siempre refleja con precisión el grado de obesidad que presenta un individuo, e incluso no indica en qué lugar del cuerpo se está presentando el exceso de grasa. Es por ello que, además de considerar el IMC, la medición del perímetro de la cintura proporciona una evaluación más precisa del riesgo al que se ve expuesto la persona por la obesidad, manejando valores de corte de 102 cm para hombres y 88 cm para mujeres [21], dado que el aumento de la grasa intraabdominal se asocia con una mayor morbilidad por el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, que la acumulación de grasa periférica o subcutánea.

«Según el informe Panorama de la Seguridad Alimentaria y Nutricional 2018, de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), cada año se reportan 3,6 millones nuevos casos de personas obesas en Latinoamérica. En Colombia, 56% de la población entre los 18 y 64 años de edad, está en condición de sobrepeso u obesidad, según la Unicef, tres de cada 10 niños de 6 a los 12 años de edad, sufren de obesidad en el país y 30% de esta población entre los 5 y 19 años de edad tiene obesidad o sobrepeso en Latinoamérica. De acuerdo con la OMS, anualmente mueren cerca de 2,8 millones de personas por obesidad o sobrepeso»[22].

“El interés del estudio de la obesidad radica en su alta incidencia, y en que es un factor de riesgo de varias de las enfermedades más importantes del ser humano, incluyendo enfermedad cardiovascular (ECV), Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) y cáncer” [19]. Adicional a esto, se debe tener en cuenta que recientemente se han publicado los primeros estudios donde se sugiere que las personas con obesidad tienen más riesgo de desarrollar una enfermedad más grave por la infección con el virus SAR-CoV-2. “En concreto, los estudios muestran que la obesidad es un factor de riesgo

para la hospitalización, el ingreso en UCI y el desarrollo de consecuencias graves que llevan a la muerte, en caso de enfermedad por COVID-19” [23].

1.2.1 Tratamiento actual para la obesidad

«Para el tratamiento de la obesidad se enfatiza en la necesidad de cambios en el estilo de vida para conseguir y mantener un peso adecuado. Sin embargo, la dificultad para realizar actividad física, debida al mismo incremento de peso, así como la falta de resultados observables en las fases iniciales y el mayor apetito relacionado con el aumento de hormonas orexigénicas debido a la pérdida de peso, entre otras condiciones, dificultan que el paciente se apegue a estas estrategias. Ante estas situaciones es necesario incluir tratamiento farmacológico para el control de peso»[24].

Actualmente, los tratamientos farmacológicos de esta enfermedad no son muy amplios considerando la alta cantidad de personas que la padecen. A la fecha, los fármacos individuales aprobados por la FDA más utilizados contra la obesidad, los cuales abordan la enfermedad por distintas rutas y con su propio mecanismo de acción, son: Orlistat, Fentermina/Topiramato, Naltrexona/Bupropión, Lorcaserina y Liraglutida (ver Tabla 1).

Tabla 1.

Medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de la obesidad para el año 2018

Medicamento	Dosis	Mecanismo de acción	Efectos adversos	Duración máxima del tratamiento
Orlistat	60 a 120 mg, tres veces al día	Inhibidor de la lipasa pancreática y gástrica	Flatulencia, esteatorrea, evacuación oleosa, urgencia e incontinencia fecal, dolor abdominal, insuficiencia hepática	12 semanas
Lorcaserina	10 mg, dos veces al día	Agonista selectivo del receptor de serotonina 5HT 2C	Cefalea, mareo, somnolencia, visión borrosa, náuseas, boca seca, fatiga, nasofaringitis	12 semanas
Fentermina/topiramato	Dosis inicial: 3,75/ 23 mg al día Dosis recomendada: 7.5/46 mg Dosis máxima: 15/92 mg al día	Fentermina: agente liberador de norepinefrina Topiramato: modulador del receptor GABA	Boca seca, alteraciones en el sabor, parestesias, mareos, insomnio, palpitaciones, estreñimiento, disgeusia	2 años

Tabla 1. Continuación

Naltrexona/ bupropión	8/90 mg al día Dosis máxima: 32/360 mg al día	Naltrexona: antagonista de opioides Bupropión: inhibidor de recaptura de dopamina y norepinefrina	Náuseas, vómito, cefalea, mareo, insomnio, estreñimiento, elevación de la presión arterial	24 semanas
Liraglutida	0.6 - 3.0 mg	Antagonista del receptor GLP-1	Náuseas, vómito, diarrea, estreñimiento, hipoglucemia, colecistitis, pancreatitis	12 meses

Nota. Esta tabla contiene la descripción de los cinco medicamentos aprobados para el tratamiento de la obesidad a largo plazo; se describe la dosis establecida, el mecanismo de acción, los principales efectos adversos y la duración máxima del tratamiento. Tomado de A. Alarcón Sotelo, P. Gómez Romero, S. Regules Silva, M. Pardinas Llergo, F. Rodríguez Weber, and E. Diaz Greene, “Actualidades en el tratamiento farmacológico a largo plazo de la obesidad. ¿Una opción terapéutica?,” *Med Int Méx.*, vol. 35, no. 1, pp. 150–153, 2019.

No obstante, como se muestra en la Tabla 1, las características principales de los medicamentos y sus efectos secundarios graves para la salud generan una necesidad de realizar otras investigaciones para poder encontrar un medicamento que disminuya la aparición de efectos secundarios.

1.3. Generalidades de la diabetes tipo II

Según el International Diabetes Federation (IDF, por sus siglas en inglés), la diabetes tipo 2 o también conocida como mellitus tipo 2, es el tipo más común de diabetes y representa alrededor del 90% de todos los casos de diabetes [25]. “Conceptualmente, se define como un síndrome heterogéneo originado por la interacción genético-ambiental, que se manifiesta con una hiperglucemia crónica” [26], y se caracteriza por la resistencia a la insulina, donde el cuerpo no responde completamente a la insulina. “Debido a que la insulina no puede funcionar correctamente, los niveles de glucosa en sangre siguen aumentando, liberando más insulina” [25]. A nivel global, la prevalencia de la diabetes tipo 2 es alta y aumenta en todas las regiones. Este aumento se debe al envejecimiento de la población, al desarrollo económico y al incremento de la urbanización, lo que deriva en estilos de vida más sedentarios e incremento en el consumo de alimentos poco saludables que se relacionan con la obesidad [27].

«En Colombia, los reportes de la Cuenta de Alto Costo (CAC) indican que 3 de cada 100 personas tiene diabetes mellitus. Sin embargo, se estima que el número real es mucho más elevado y una de cada 10 personas sufre de esta enfermedad y esto se debe a que casi la mitad de los individuos con esta patología no saben que están enfermos» [28]. Entre “el 1 de julio de 2018 y el 30 de junio de 2019 fueron reportadas a la CAC 1.294.940 personas con diagnóstico de diabetes mellitus, equivalentes a una prevalencia de 2,58 casos nuevos por cada 100 habitantes, lo que indica un aumento de 85.462 personas más que el periodo anterior. Del total de las personas con diabetes, 59,54% eran mujeres” [29]. La información reportada identificó a Bogotá, D.C. con el mayor número de personas residentes con diagnóstico de diabetes mellitus ($n = 240.287$ PA = 2,71), seguido de Antioquia ($n = 224.195$ PA = 3,16) y Valle del Cauca ($n = 187.409$ PA = 3,56) donde n corresponde al número de casos y PA a la prevalencia de la enfermedad ajustada. En este mismo análisis, se encontró que el departamento del Valle del Cauca tuvo la prevalencia más elevada, donde 3,56 de cada 100 habitantes son diabéticos [29]. “Durante el periodo de estudio se reportaron 27.656 personas fallecidas con diagnóstico de Diabetes Mellitus (DM). Del total de los pacientes fallecidos con DM, el 55,10% ($n = 15.238$) fueron mujeres. La tasa de mortalidad para DM se calculó en 55,19 casos por cada 100.000 habitantes con un promedio de edad de 76,26 años” [29].

1.3.1 Tratamiento actual de la diabetes tipo II

Resulta de suma importancia mejorar las estrategias en salud pública para el diagnóstico de la enfermedad y desarrollar un sistema de registro fiable. Al desconocer la prevalencia de la enfermedad en la población colombiana se puede asumir que gran parte de los afectados no están diagnosticados. Adicionalmente, “diversos estudios han reportado que alrededor del 50% de los diabéticos no reciben un tratamiento médico adecuado. Estos dos factores aumentan la probabilidad de que se presenten complicaciones microvasculares o macrovasculares y por consiguiente un aumento en la morbi-mortalidad” [30]. “El tratamiento no farmacológico implica modificación del estilo de vida y en especial la reducción del peso corporal en el paciente con sobrepeso, este es el único tratamiento integral capaz de controlar simultáneamente la mayoría de los problemas metabólicos de las personas con diabetes, incluyendo la hiperglicemia, la resistencia a la insulina, la dislipoproteinemia y la hipertensión arterial” [26].

Sin embargo, debe considerarse el empleo de un tratamiento farmacológico (ver Tabla 2) en los pacientes cuando con la dieta y el ejercicio físico no se consiga un adecuado control de la Diabetes Mellitus (DM), tras un período razonable (4-12 semanas) después del diagnóstico.

Tabla 2.

Medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de la diabetes tipo II para el año 2020

Medicamento	Dosis	Mecanismo de Acción	Efectos Adversos
INHIBIDORES DE LA DPP-IV			
Alogliptina	25 mg por boca diarios Se toma una vez por día		Nariz congestionada o con goteo, dolor de garganta, jaqueca, infección del tracto respiratorio superior, reacciones alérgicas severas raramente (inflamación de la lengua, garganta, rostro o cuerpo; sarpullido severo) raras veces se informó pancreatitis, no hay aumento de peso
Sitagliptina	Inicial: 100 mg diarios Rango: 25-100 mg diarios Dosis: Se toma una vez por día	Aumento posprandial de la enzima inhibiendo la actividad de la enzima que inactiva las incretinas que estimulan la secreción de insulina en las células B e inhiben la secreción de glucagón en las células alfa pancreáticas	Nariz con goteo, infección del tracto respiratorio superior, reacciones alérgicas severas raramente (inflamación de la lengua, garganta, rostro o cuerpo; sarpullido severo) No hay aumento de peso; si hay problemas renales se usan dosis más bajas
Saxagliptina	Inicial: 2,5 o 5 mg diarios Rango: 2,5-5 mg diarios Dosis: Se toma una vez por día		Infección del tracto respiratorio superior, infección del tracto urinario, jaqueca No hay aumento de peso; si hay problemas renales se usan dosis más bajas
Linagliptina	Inicial: 5 mg por día Dosis: Se toma una vez por día		Nariz con goteo, dolor de garganta, rara vez se informaron casos de pancreatitis, reacciones alérgicas severas raramente, no hay aumento de peso

Tabla 2. Continuación

ANÁLOGOS DEL GLP-1		
Exenatida	<p>Inicial: 5 mcg SC dos veces por día Rango: hasta 10 mcg SC dos veces por día Dosis: Se toma dos veces por día</p>	<p>Náuseas, jaqueca, hipoglucemia (cuando se utiliza con secreta gogos de la insulina), rara vez se informaron casos de pancreatitis (inflamación del páncreas) súbita.</p>
Liraglutida	<p>Inicial: 0,6 mg SC una vez por día Rango: hasta 1,8 mg SC una vez por día Dosis: Se toma una vez por día</p>	<p>Náuseas, jaqueca, diarrea, hipoglucemia cuando se utiliza con secreta gogos de la insulina), rara vez se informaron casos de pancreatitis (inflamación del páncreas) súbita. No se puede usar si se tiene antecedentes de cáncer tiroideo medular</p>
Albiglutida	<p>Inicial: 30 mg una vez por semana Rango: se puede incrementar a 50 mg una vez por semana si la respuesta es inadecuada</p>	<p>Se unen a los receptores del GLP-1, estimulando la secreción de insulina en las células B e inhiben la secreción de glucagón en las células alfa pancreáticas, disminuyen la velocidad de vaciamiento gástrico. Estimulan el centro de la saciedad hipotalámico</p>
Dulaglutida	<p>Inicial: 0,75 mg una vez por semana Rango: se puede incrementar hasta 1,5 mg una vez por semana si hay una respuesta inadecuada</p>	<p>Reacción en el sitio de la inyección, náuseas, diarrea, infección del tracto respiratorio superior.</p>
Dulaglutida	<p>Inicial: 0,75 mg una vez por semana Rango: se puede incrementar hasta 1,5 mg una vez por semana si hay una respuesta inadecuada</p>	<p>Náuseas, diarrea, vómitos, dolor abdominal. No se puede usar si se tienen antecedentes familiares de carcinoma tiroideo medular</p>
INHIBIDORES DE LA ALFA-GLUCOSIDASA		
Acarbosa	<p>Inicial: 25 mg tres veces por día Rango: 75-300 mg (máximo 150 mg si <60 kg) Dosis: se toma tres veces por día</p>	<p>Disminución de la absorción de glucosa en el intestino</p> <p>Flatulencia, se toma con el primer bocado de comida, comenzar con una dosis baja y lentamente, para minimizar la intolerancia GI.</p>

Nota. Esta tabla presenta los medicamentos aprobados por la FDA para el tratamiento de la diabetes tipo II del tipo inhibidores de la alfa-glucosidasa, análogos del GLP-1 e inhibidores de la DPP-4. Tomado de: Asociación Diabetes Madrid, “Tratamiento farmacológico para la diabetes tipo 2,” En línea, Apr. 19, 2017. <https://diabetesmadrid.org/farmacos-diabetes-tipo-2> (acceso Sep. 15, 2021) y S. F. Diabetes Teaching Center at the University of California, “Terapias no insulínicas para la diabetes tipo 2,” *En línea*. <https://dtc.ucsf.edu/es/tipos-de-diabetes/diabetes-tipo-2/tratamiento-de-la-diabetes-tipo-2/medicamentos-y-terapias-2/terapias-no-insulinicas-para-la-diabetes-tipo-2/tabla-de-medicamentos/> (acceso Sep. 15, 2021).

En la Tabla 2 se observan varios de los fármacos utilizados para tratar la diabetes tipo II, los fármacos convencionalmente prescritos para el tratamiento de los pacientes diabéticos pierden eficacia y exhiben gradualmente un amplio número de limitaciones, incluidos el aumento en el riesgo de episodios de hipoglucemia, efectos cada vez más prominentes en la ganancia de peso corporal y la inducción de eventos adversos de tipo gastrointestinal, edema e incluso insuficiencia cardiaca, por lo que se buscan alternativas de fármacos no convencionales [31].

1.4 Generalidades del blanco molecular DPP-IV

«La enzima Dipeptidil peptidasa IV conocida también como CD26, es una glicoproteína transmembrana que se expresa en la superficie celular y pertenece a la familia de las proli-oligopeptidasas. En particular, DPP-IV ha sido el miembro de esta familia mejor estudiado y caracterizado, destacándose por su ubicuidad (hígado, intestino, bazo, glándula adrenal, linfocitos, células endoteliales), siendo el riñón el órgano donde se encuentra su mayor actividad específica. Entre los sustratos naturales de la DPP-IV se encuentran hormonas de naturaleza peptídica que controlan el metabolismo en mamíferos como por ejemplo el péptido similar a glucagón 1 (GLP-1)»[32].

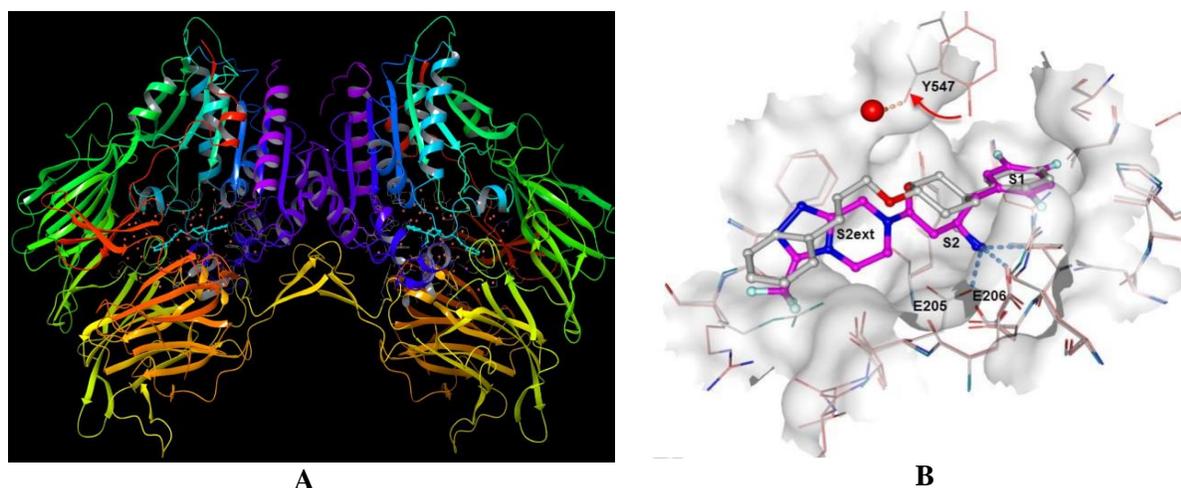
«La enzima DPP-IV humana es una glicoproteína de membrana de 110 kDa con 766 residuos de aminoácidos, es una enzima aminopeptidasa sérica que consiste de tres partes fundamentales: una región citoplasmática (residuos 1 al 6), una región de transmembrana (residuos del 7 al 28) y una extensa región extracelular que comprende los residuos 29 al 766. Esta región se caracteriza por la presencia de dos dominios muy bien definidos: a) un dominio catalítico que contiene a la triada Ser630-Asp708-His740 típica de las PS, que se caracteriza por un plegamiento del tipo α/β -hidrolasa (residuos 56 al 497) y que permite clasificarla como una ecto-enzima (enzimas con el centro activo hacia el exterior celular) y b) un dominio de tipo β -propela, formado por ocho hojas- β , también se caracteriza por dos sitios o bolsillos de unión al sustrato (S1 y S2)» [32] que se observan en la Figura 2.

«En pacientes diabéticos tipo 2, la actividad del GLP-1 con frecuencia se encuentra reducida y la infusión continua del GLP-1 mejora la función secretora de insulina y deprime la secreción de glucagón (frecuentemente incrementada en estos pacientes). Sin embargo, el GLP-1 tiene una vida media plasmática sumamente corta, debido a que se inactiva en pocos minutos por acción de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-IV)» [33].

Lo anterior avala que se requiere el desarrollo de inhibidores de la DPP-IV, para elevar las concentraciones endógenas del GLP-1, ya que mientras más GLP-1, habrá menos acumulación de glucosa en la sangre.

Figura 2.

Caracterización de la enzima DPP-IV y sus sitios activos



Nota. En esta figura se presenta la estructura original de la enzima DPP-IV (A) y se identifican sus sitios activos (B). Tomado de: K. Namoto et al., “Discovery of C-(1-aryl-cyclohexyl)-methylamines as selective, orally available inhibitors of dipeptidyl peptidase IV,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 24, no. 3, pp. 731–736, 2014, doi: 10.1016/j.bmcl.2013.12.118.

1.5 Generalidades del acoplamiento molecular (*Docking*)

«El campo del acoplamiento molecular ha surgido durante las últimas tres décadas impulsado por las necesidades de la biología molecular estructural y el descubrimiento de fármacos basado en estructuras. El objetivo del software automatizado de acoplamiento molecular es comprender y predecir el reconocimiento molecular, tanto estructuralmente, encontrando modos de unión probables, como energéticamente, prediciendo la afinidad de unión. El acoplamiento molecular se realiza generalmente entre una molécula pequeña y una macromolécula diana, lo cual se conoce como acoplamiento ligando-proteína» [34].

El acoplamiento molecular puede ser entonces definido como un método bioinformático que permite predecir y calcular computacionalmente la posición más favorable de interacción entre un ligando y un blanco usualmente proteico a partir de sus representaciones tridimensionales. “Mientras más estable, específica y favorable sea la unión entre un ligando (fármaco) y su blanco

proteico (diana terapéutica), mayor será su actividad biológica (fármaco más efectivo). Por tanto, este método bioinformático juega un rol importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevos principios activos o fármacos” [35].

«El modo de unión de un ligando con respecto al receptor se puede definir de forma única por sus variables de estado. Estos consisten en su posición (traslaciones x, y, z), orientación (ángulos de Euler, eje-ángulo o un cuaternión) y, si el ligando es flexible, su conformación (los ángulos de torsión para cada enlace giratorio). Cada una de estas variables de estado describe un grado de libertad en un espacio de búsqueda multidimensional y sus límites describen el alcance de la búsqueda. El acoplamiento de un cuerpo rígido es más rápido que tratar el ligando como flexible, porque el tamaño del espacio de búsqueda es mucho más pequeño, pero si la conformación del ligando no es correcta, habrá una menor probabilidad de encontrar un ajuste complementario» [34].

“El proceso de tomar una estructura cristalina conocida de un complejo del objetivo de interés, separar el ligando y luego volver a acoplarlo se conoce como "*re-docking*" ” [34] . El cual permite comparar la capacidad de los métodos y parámetros de acoplamiento elegidos para volver a acoplar una variedad de ligandos al objetivo de interés. “El éxito se mide a menudo en términos de la desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés) de las coordenadas cartesianas de los átomos del ligando en las conformaciones acopladas y cristalográficas; un acoplamiento generalmente se considera exitoso si es menor que el umbral de 2 Å”. [34]

«En el desarrollo de medicamentos, el acoplamiento molecular es muy utilizado, ya que se pueden realizar cálculos rápidos y se obtiene información de la predicción de la interacción de ligantes con algún tipo de molécula relacionada con alguna enfermedad, mucho más rápido y a menor costo que un estudio experimental. El acoplamiento molecular es una de las herramientas de cribado virtual que permite realizar un filtro de una biblioteca virtual de ligantes candidatos al desarrollo de un fármaco, generando una ventaja en costo y tiempo sobre el proceso experimental» [36].

Para realizar acoplamiento molecular existen varios programas comerciales y de uso libre. Para esta investigación se usó AutodockTools 1.5.6 (<https://autodock.scripps.edu/>), AutodockVina (<https://vina.scripps.edu/>), Maestro[®] (<https://www.schrodinger.com/products/maestro>) y PyRx (<https://pyrx.sourceforge.io/>), ya que estos cuentan con una versión libre de fácil acceso y uso.

2. METODOLOGÍA

La metodología se describe de acuerdo al orden propuesto de los objetivos específicos (OE):

2.1 OE1. Determinar el grupo de metabolitos secundarios con los que se hará el acoplamiento molecular y sus estructuras moleculares

Para la búsqueda de los ligandos con los que se realizó el acoplamiento molecular a la proteína DPP-IV se realizó una búsqueda bibliográfica donde se reportaran metabolitos secundarios en los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) que hacen parte de la flora del departamento del Chocó y pueden tener un potencial uso polifarmacológico para el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo 2, es importante aclarar que el estudio de estos géneros se ha venido desarrollando en el macroproyecto titulado “Fortalecimiento de capacidades técnico-científicas para el desarrollo de potenciales productos aplicables en el tratamiento de obesidad y diabetes II, que permitan valorar y aprovechar sosteniblemente la diversidad ecosistémica y cultural del Chocó” actualmente sometido a la Convocatoria Bienal No. 6 – “CONVOCATORIA DEL SISTEMA GENERAL DE REGALÍAS - FONDO DE CTEI - PARA LA CONFORMACIÓN DE UN LISTADO DE PROPUESTAS DE PROYECTOS ELEGIBLES DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PARA EL AVANCE DEL CONOCIMIENTO Y LA CREACIÓN – 2020” de Minciencias, por lo que en este caso solo se adelantará la parte que es netamente teórica del macroproyecto anteriormente mencionado. Sin embargo, el trabajo experimental realizado por la alianza PRONADIAB que también hace parte del macroproyecto, ha permitido identificar una serie de metabolitos secundarios de estos géneros los cuales también fueron considerados en este estudio y se indican con un asterisco en la Tabla 4.

La búsqueda otros posibles metabolitos, se realizó en artículos de bases de datos como Science Direct, Scopus, Scifinder, Google Scholar, ACS Publications y Pubmed, así como en las bases de datos PCIDB (Phyto Chemical INTERACCIONES DB), PubChem, Zinc y CHEBI donde se reportan metabolitos secundarios de los géneros anteriormente mencionados que presentan alguna actividad farmacológica.

Para identificar cada metabolito se hizo uso de códigos únicos proporcionados por bases de datos como PubChem, Zinc y ChEBI (Chemical Entities of Biological Interest), de las cuales se

obtienen las estructuras cristalográficas de los ligandos junto con su código SMILES, a estas estructuras se les realizó un estudio conformacional en el Software Avogadro (<https://avogadro.cc/>) con el fin de obtener la forma más estable de la molécula, es decir la que posee menor energía.

2.2 OE2. Seleccionar y preparar la estructura 3D del blanco Dipeptidil Peptidasa-IV (DPP-IV) identificando su sitio activo

Para la preparación del blanco molecular los criterios de búsqueda y selección de la estructura cristalográfica de la enzima DPP-IV fueron: que sea de origen humano, que tenga una resolución menor a 2,0 Å y que se hubiera reportado su complejo con un ligando para contar con un punto de comparación respecto al modo de unión y así validar la correcta ejecución del acoplamiento mediante un *redocking*. Teniendo en cuenta lo anterior se hace uso de la base de datos *Protein Data Bank* (PDB) donde se filtran los resultados y se determina cual es la mejor opción a trabajar.

Una vez seleccionada la enzima mediante el uso del módulo *Protein Preparation Wizard* del software Maestro[®] se realiza la preparación de la enzima. Inicialmente en el menú *Preprocess* se identifican las posiciones alternas que son cadenas laterales duplicadas que pueden tener diferentes conformaciones, sobre todo aquellas que están más expuestas al solvente. Se debe seleccionar la conformación de mayor ocupancia ya que está relacionada con la estabilidad de la molécula y este es un factor importante para poder realizar los estudios de acoplamiento, ya que si el residuo hace parte del sitio catalítico se debe hacer un acoplamiento para cada conformación.

En el menú *review and modify* se muestran todas las cadenas presentes en la estructura cristalográfica, por lo que se deben eliminar todas aquellas que no hacen parte de la región de estudio, y finalmente en el menú *refine* se ajusta el pH al cual se va a trabajar. Para la investigación actual, el pH elegido es 7,4, dado que “esta enzima se caracteriza por su ubicuidad (hígado, intestino, bazo, glándula adrenal, linfocitos, células, endoteliales) y estos órganos se encuentran a un pH fisiológico con el valor mencionado” [32].

Para la identificación del sitio de unión es fundamental saber que los inhibidores de la DPP-IV son de tipo competitivo [31], es decir, que compiten por el sitio catalítico de la enzima, por esta

razón el acoplamiento molecular se realizó en el lugar donde se encuentra el ligando original (2KS) que se descargó de la *Protein Data Bank*.

2.3 OE3. Modelar los modos de unión de los metabolitos secundarios y el blanco molecular

Para realizar los cálculos de acoplamiento molecular se utiliza la enzima previamente preparada en Maestro[®] junto con los metabolitos seleccionados. En este punto, se debe tener en cuenta que aquellos que posean grupos funcionales ácidos o básicos, se les debe hacer un análisis previo del estado de protonación; para lo cual, se empleó el Software MarvinSketch (<https://chemaxon.com/products/marvin>).

Una vez se tienen todos los metabolitos con su correcto estado de protonación al pH = 7,4, mediante el uso del Software PyRx, se realizó el estudio de acoplamiento molecular corrigiendo el número de modos (número de resultados del acoplamiento) a 1 para obtener el acoplamiento más estable de cada ligando y se aumentó la exhaustividad de la búsqueda conformacional de 8 a 20. Considerando los resultados de las afinidades de unión, se organizaron en orden descendente desde la más negativa para determinar cuáles pueden ser evaluadas como posibles opciones de fármacos, y se calculó la constante inhibitoria (K_i), que se comparó con la obtenida para el ligando usado en el protocolo de validación. Esta constante se obtuvo mediante la Ecuación 1 que relaciona la afinidad de unión con K_i .

Ecuación 1.

$$\Delta G = RT \ln(K_i)$$

$$K_i = e^{\left(\frac{\Delta G}{RT}\right)}$$

Donde ΔG es la afinidad de unión en kcal/mol, R es la constante universal de los gases, $1,987 \times 10^{-3}$ kcal/mol K y T es la temperatura absoluta, que se supone temperatura ambiente de 298,15 K [37].

2.4 OE4. Caracterización farmacocinética de los metabolitos con mayor potencial inhibitorio

A los metabolitos que presentaron mayor afinidad por la enzima y menores K_i se les calcularon los parámetros ADME (*absorption, distribution, metabolism, excretion*) y datos de interferencia (*PAINs; pan-assay interference compounds*) usando la herramienta SwissADME

(<http://www.swissadme.ch/>). Esto permitió definir si dichos compuestos cumplen o no con las reglas de Lipinski. Cuando estas reglas se cumplen, se predice que posiblemente dichos metabolitos pueden considerarse como fármacos de administración oral. Se tuvo en cuenta los fármacos ya establecidos para tratar estas enfermedades tales como los mostrados en la Tabla 1 y 2 y así poder comprobar su potencial inhibitorio frente a la DPP-IV.

3. RESULTADOS

3.1 Búsqueda y selección de metabolitos reportados de los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*).

Mediante una exhaustiva búsqueda bibliográfica se logró seleccionar 25 ligandos por género (75 ligandos en total) con lo que se construyó una base de datos en donde se especifica el tipo de compuesto, el código de identificación, la estructura cristalográfica en 2D y su respectiva energía (kJ/mol), ver Tabla 3.

Tabla 3.

Metabolitos reportados en el género Vismia spp. (Hypericaceae)

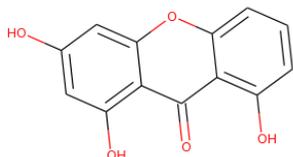
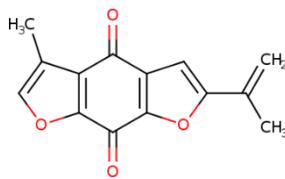
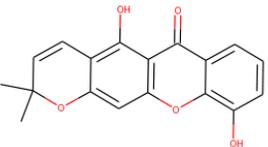
N°	NOMBRE	TIPO DE COMPUESTO	CÓDIGO ZINC	ENERGÍA (kJ/MOL)	ESTRUCTURA (2D)	REF.
1	1,4,8-trihidroxixantona	Xantonas	ZINC14821968	123,8644		[8], [38], [39]
2	1,5-dihidroxí-8-metoxixantona	Xantonas	CHEBI:4040	279,8274		[7],[8]
3	6-deoxijacareubina	Xantonas	ZINC5762059	322,437		[8], [39]

Tabla 3. Continuación

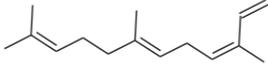
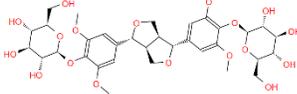
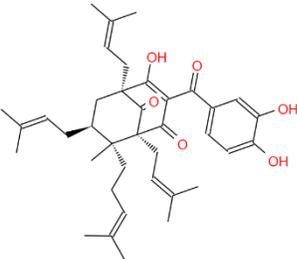
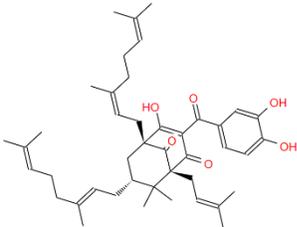
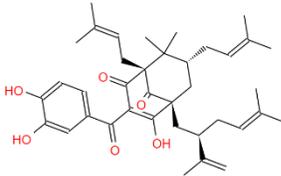
4	Cis- α -farneseno	Terpenos/ Sesquiterpenos	ZINC1531531	145,0831		[8]
5	Deacetilsiringaresinol	Lignan	ZINC85486983	1498,8305		[39]
6	Guttiferonas A	Benzofenonas	ZINC5543718	819,9837		[8], [39]
7	Guttiferonas B	Benzofenonas	ZINC150602241	582,131		[8], [39]
8	Guttiferonas F	Benzofenonas	ZINC44352558	710,148		[8], [39]

Tabla 3. Continuación

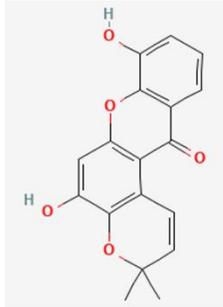
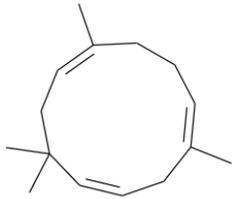
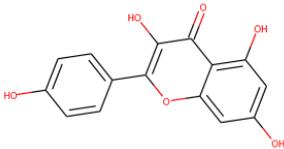
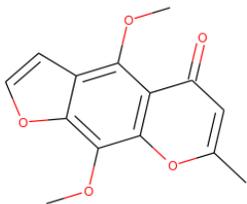
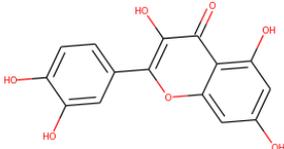
9	Hipericanarina	Xantonas	PubChem CID 5492070	315,1466		[39]
10	Humuleno	Terpenos/ Sesquiterpenos	ZINC30726967	266,6189		[8]
11	Kaempferol	Flavonoide	ZINC3869768	290,462		[8]
12	Kielcorina	Xantonas	ZINC56654	265,3811		[39]
13	Quercetina	Flavonoide	ZINC3869685	265,928		[8]

Tabla 3. Continuación

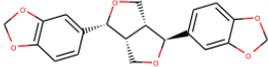
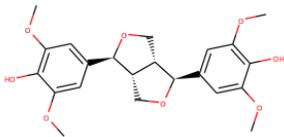
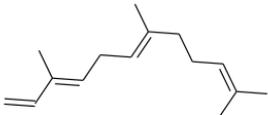
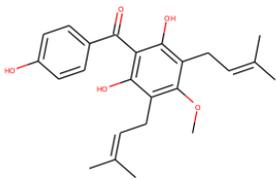
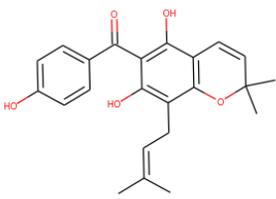
14	Sesamina	Lignanos	ZINC18037965	252,1698		[8], [39]
15	Siringaresinol	Lignanos	ZINC4098933	420,8514		[39]
16	Trans- α -farneseno	Terpenos/ Sesquiterpenos	ZINC1531529	141,8687		[39]
17	Vismiaphenone D	Benzofenonas	ZINC3875278	393,2915		[8]
18	Vismiaphenone E	Benzofenonas	ZINC5854369	431,7937		[39]

Tabla 3. Continuación

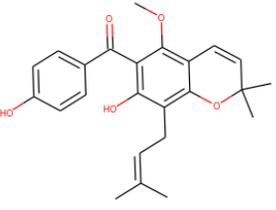
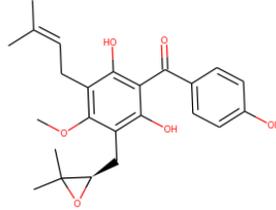
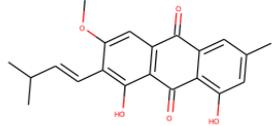
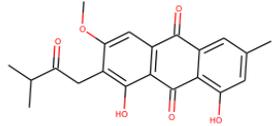
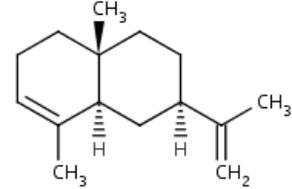
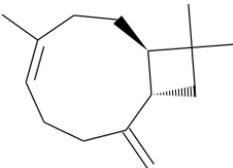
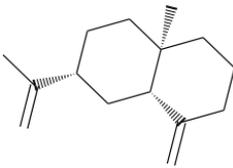
19	Vismiaphenone F	Benzofenonas	ZINC5854373	554,6228		[8]
20	Vismiaphenone G	Benzofenonas	ZINC14780698	403,189		[39]
21	Vismiaquinone	Quinonas	ZINC14883285	316,6475		[39]
22	Vismiaquinone B	Antraquinonas	ZINC14883287	235,8284		[8]
23	α -sileneno	Terpenos /Sesquiterpenos	CHEBI:59961	187,1283		[8], [39]

Tabla 3. Continuación

24	β -cariofileno	Terpenos /Sesquiterpenos	ZINC8234282	271,4295		[8], [39]
25	β -sileneno	Terpenos/ Sesquiterpenos	ZINC8234293	188,9322		[8], [39]

Nota. Esta tabla muestra la base de datos obtenida para hacer el acoplamiento molecular de los metabolitos pertenecientes al género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*)

Tabla 4.

Metabolitos reportados en el género Garcinia spp. (*Clusiaceae*)

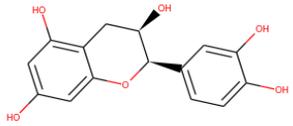
N°	NOMBRE	TIPO DE COMPUESTO	CÓDIGO ZINC	ENERGÍA (kJ/mol)	ESTRUCTURA (2D)	REF
1	(-)-Epicatechin (cis) forms/Catechin	Flavonoide	ZINC119988	189,164		[40]

Tabla 4. Continuación

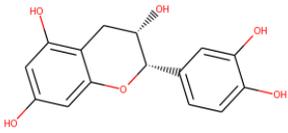
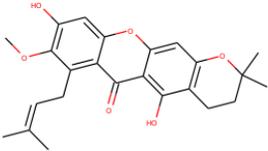
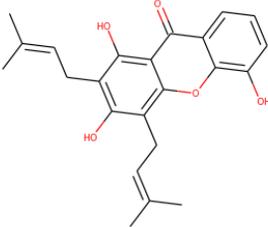
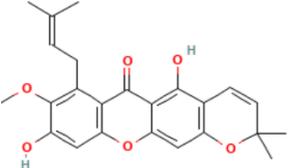
2	(+)-Catechin (Catequina)	Flavonoide	ZINC119978	177,777		[40]
3	3-Isomangostin	Xantona	ZINC13382496	39,0768		[41]
4	8-Desoxygartanin*	Xantona	ZINC5849312	81,3729		[42],[43]
5	9-Hydroxycalabaxanthone*	Xantona	ZINC13382495	176,414		[44],[43]

Tabla 4. Continuación

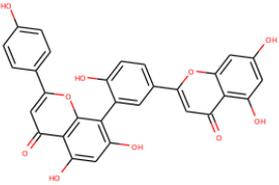
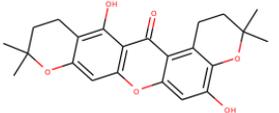
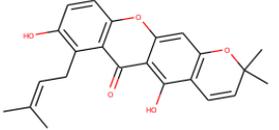
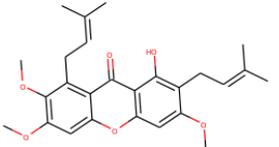
6	Amentoflavona	Biflavonoides	ZINC3984030	156,096		[45]
7	BR_Xanthone_A	Xantona	ZINC14766825	289,969		[44]
8	Demethylcalabaxanthone	Benzopiranos	ZINC13382494	504,196		[44]
9	Fuscaxanthone C/ 3,6-Dimethylmangostin*	Xantona	ZINC4539100	317,25		[43]

Tabla 4. Continuación

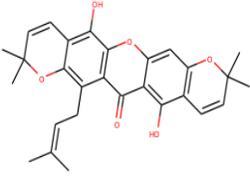
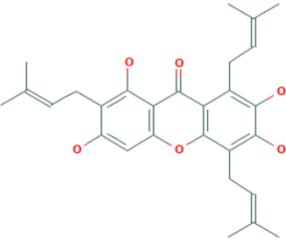
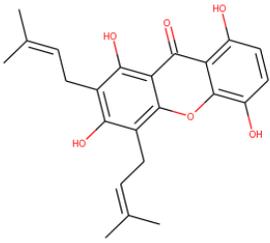
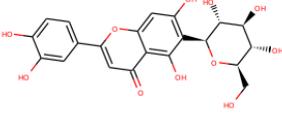
10	Garcimangosone_A	Xantona	ZINC15252012	244,05		[40], [44]
11	Garcinone E	Xantonas	ZINC13108877	317,04		[40], [42]
12	Gartanin*	Xantona	ZINC5854400	200,1607		[42],[43]
13	Isoorientina	Flavonoides	ZINC4349262	54,3186		[46]

Tabla 4. Continuación

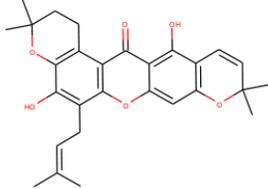
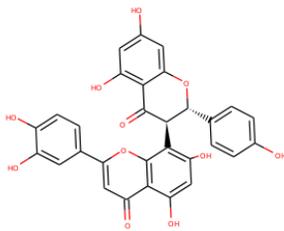
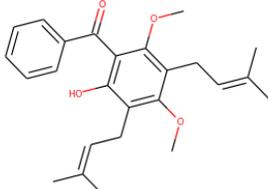
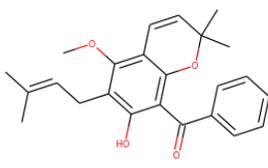
14	Mangostenona B	Xantona	ZINC14768740	106,51		[44]
15	Morelloflavona	Biflavonoides	ZINC26187321	395,9779		[45]
16	Myrtiaphenone A	Benzofenona	ZINC14780695	418,535		[47]
17	Myrtiaphenone-B	Benzofenona	ZINC85949815	524,232		[47],[41]

Tabla 4. Continuación

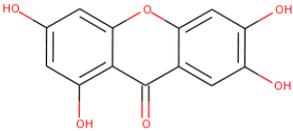
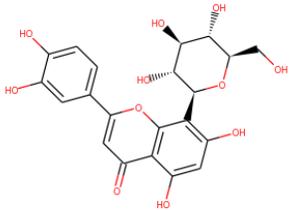
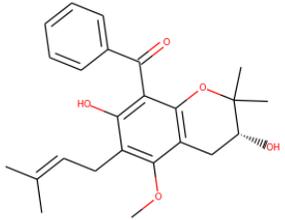
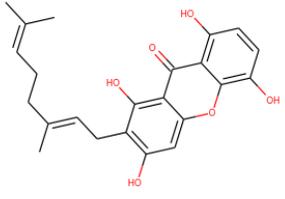
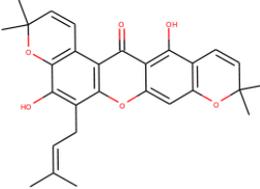
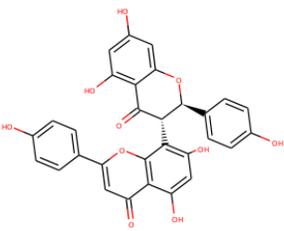
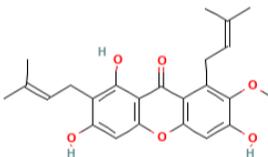
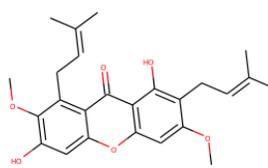
18	Norathyriol	Xantona	ZINC6090922	82,6191		[41]
19	Orientina	Flavonoides	ZINC4098560	601,3383		[46]
20	Pseudoguttiaphenone A	Benzofenona	ZINC85949824	655,0077		[47]
21	Smeathxanthone A	Xantona	ZINC15120680	239,088		[42],[41]

Tabla 4. Continuación

22	Tovophyllin B	Xantona	ZINC14768737	1052,97		[42], [44]
23	Volkensiflavona	Biflavonoides	ZINC26183774	222,746		[45]
24	α -mangostin	Xantonas	PubChem 5281650	371,3958		[40]
25	β -mangostin	Xantonas	ZINC3925289	321,0134		[40], [44]

Nota. Esta tabla muestra la base de datos obtenida para hacer el acoplamiento molecular de los metabolitos pertenecientes al género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*). * Estas estructuras fueron encontradas en el trabajo realizado por la alianza PRONADIAB

Tabla 5.

Metabolitos reportados en la especie Neurolaena spp. (Asteraceae)

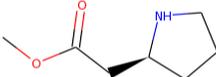
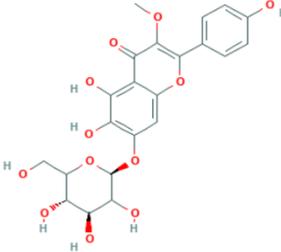
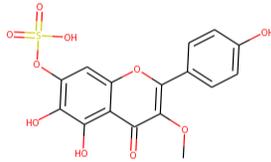
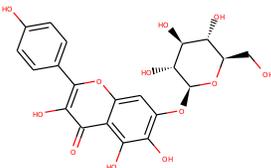
N°	NOMBRE	TIPO DE COMPUESTO	CÓDIGO ZINC	ENERGÍA (kJ/mol)	ESTRUCTURA (2D)	REF.
1	2-Pyrrolidineacetic acid, methyl ester	Alcaloides pirrolizidínicos	ZINC14684366	13,3487		[48]
2	6-Hydroxykaempferol 3-methyl ether 7-glucoside	Flavonoide	PubChem CID 44259743	767,565		[41], [49]
3	6-Hydroxykaempferol 3-methylether-7-sulphate	Flavonoide	ZINC14644900	-16,093		[9], [49]
4	6-Hydroxykaempferol 7-glucoside	Flavonoide	ZINC33831754	618,2551		[41], [49]

Tabla 5. Continuación

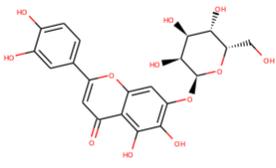
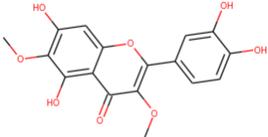
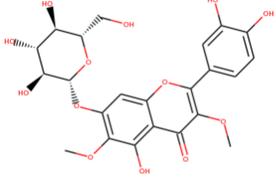
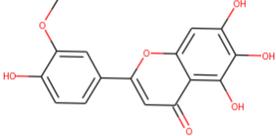
5	6-hydroxyluteolin 7-glucoside	Flavonoide	ZINC14644793	660,927	 <p>The structure shows a luteolin core with a hydroxyl group at position 6 and a glucose moiety attached at position 7. The glucose is in its cyclic pyranose form with hydroxyl groups at positions 2, 3, and 6.</p>	[49]
6	Axillarin	Flavonoide	ZINC6483405	315,38	 <p>The structure shows a flavone core with a methoxy group at position 7 and a 3,4-dihydroxyphenyl group at position 8.</p>	[50]
7	Axillarin 7-glucoside	Flavonoide	ZINC238732983	861,369	 <p>The structure shows an axillarin core with a glucose moiety attached at position 7. The glucose is in its cyclic pyranose form with hydroxyl groups at positions 2, 3, and 6.</p>	[41]
8	Batatifolin	Flavonoide	ZINC14760695	543,309	 <p>The structure shows a flavone core with a methoxy group at position 7 and a 3,4-dihydroxyphenyl group at position 8.</p>	[41]

Tabla 5. Continuación

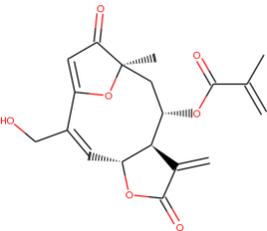
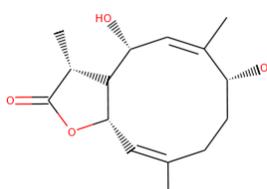
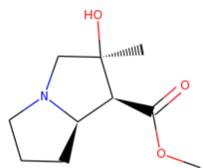
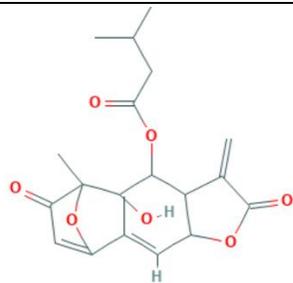
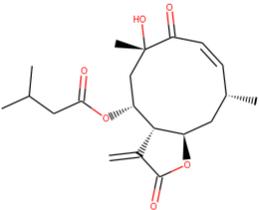
9	Furanoheliangolide	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC5410014	224,935		[51]
10	Germacranolide	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC13323154	-23,2254		[51]
11	Isotussilagine	Alcaloides pirrolizidínicos	ZINC6469367	142,114		[41]
12	Lobatin B	Lactonas sesquiterpénicas	PubChem CID 5373700	462,128		[41], [48]
13	Neurolenin A	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC100090135	288,0601		[41], [48], [52]

Tabla 5. Continuación

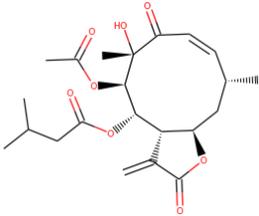
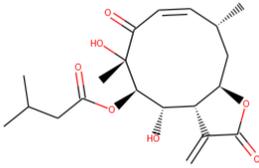
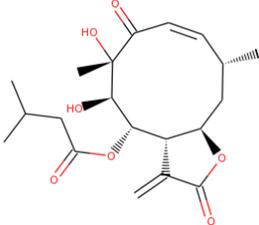
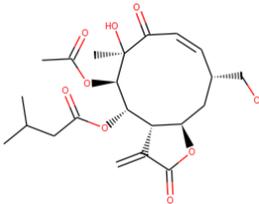
14	Neurolenin B	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC100090140	317,162		[41], [48], [52]
15	Neurolenin C	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC100090147	415,102		[41], [48]
16	Neurolenin D	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC100090153	410,902		[41], [48]
17	Neurolenin E	Lactonas sesquiterpénicas	ZINC238781012	363,621		[41], [48]

Tabla 5. Continuación

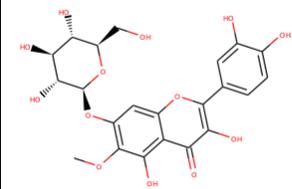
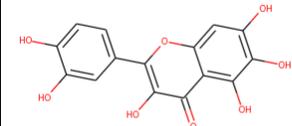
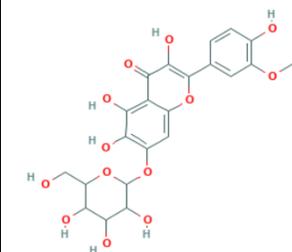
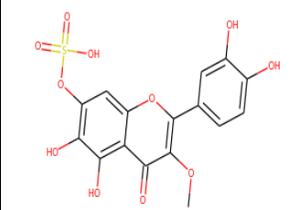
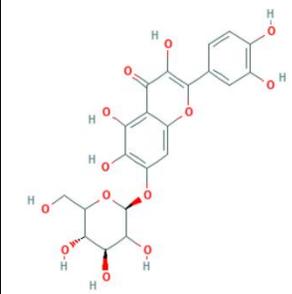
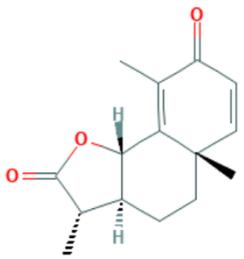
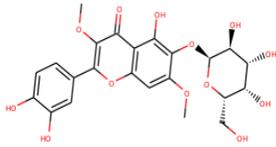
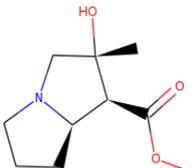
18	Patuletin 7-glucoside	Flavonoide	ZINC33833251	676,7771		[41], [48]
19	Quercetagetin	Flavonoide	ZINC5784821	358,867		[41]
20	Quercetagetin 3-methyl ether 7-glucoside	Flavonoide	PubChem CID 7420821	829,67		[41], [50]
21	Quercetagetin 3-methyl ether 7-O-sulfate	Flavonoide	ZINC14647297	-171,186		[41], [49]
22	Quercetagetin 7-glucoside	Flavonoide	PubChem CID 44259796	785,505		[41], [49]

Tabla 5. Continuación

23	Santonin	Terpeno	ZINC3881689	118,371		[53]
24	Tomentin 6-galactoside	Flavonoide	ZINC14727282	796,5172		[41]
25	Tussilagine	Alcaloides pirrolizidínicos	ZINC6468546	129,343		[9]

Nota. Esta tabla muestra la base de datos obtenida para hacer acoplamiento molecular de los metabolitos pertenecientes al género *Neurolaena* spp.(*Asteraceae*)

3.2 Selección y preparación de la estructura 3D del blanco Dipeptidil Peptidasa- IV

Después de realizar una búsqueda minuciosa en Protein Data Bank con los criterios mencionados en la metodología, se determinó que la estructura cristalográfica con código 4N8D era la más adecuada para realizar el acoplamiento molecular. Esta estructura tiene una resolución de 1,65 Å y fue reportado su complejo con el ligando 2KS, su núcleo es un ciclohexilo sustituido geminalmente con un grupo aminometilo y un anillo aromático [54], lo cual permite realizar una comparación de los resultados. Esta estructura fue descargada directamente desde la base de datos en formato pdb para ser preparada en el software Maestro[®].

Después de importar la proteína 4N8D en el *workspace* de Maestro[®] se procedió a realizar los ajustes pertinentes. Como primera medida en el menú *Preprocess* se identifican las posiciones

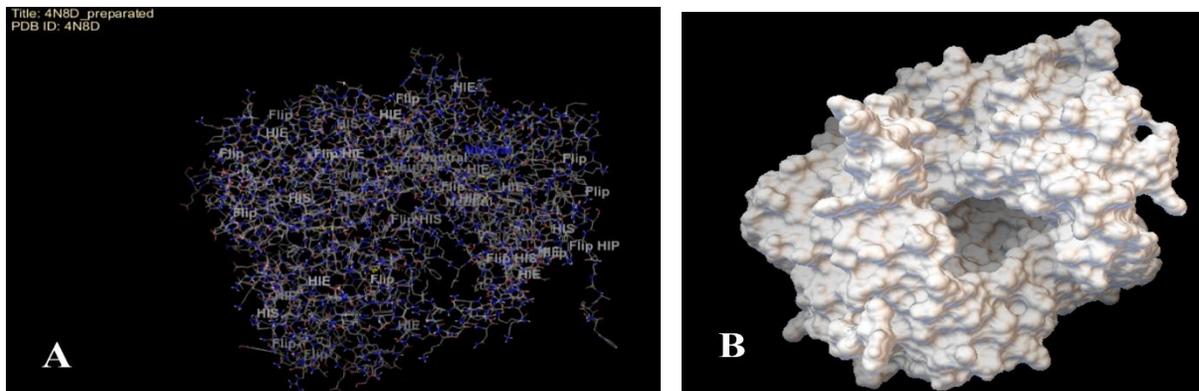
alternas que son cadenas laterales duplicadas que pueden tener diferentes conformaciones y se eliminan de la estructura. Posteriormente, en el menú *Review and Modify* se evidenció que la enzima contiene 3 cadenas principales (A, B, C) de las cuales dos pertenecen a la enzima (A y B). La tercera cadena (C) corresponde a un sacárido que ayudó a la cristalización de la enzima más no hacía parte de la región de estudio de la misma, por lo cual se eliminó esta cadena junto con las moléculas de agua, iones metálicos y otras cadenas alternas.

Al analizar las dos cadenas A y B se identificó que eran homodímeros, ya que ambas cadenas eran exactamente iguales como se evidencia en la Figura 2A, lo que permite trabajar solo con una de ellas. Sin embargo, para determinar cuál era la mejor opción para hacer el acoplamiento se rectificó que las cadenas presentaran todos los residuos catalíticos. Se encontró que en la cadena A no estaba presente el residuo catalítico 756 que corresponde a una serina, por lo que se decidió trabajar con la cadena B, esta cadena contenía el ligando 2KS (1-(cis-1-phenyl-4-[[[(2E)-3-phenylprop-2-en-1-yl]oxy]cyclohexyl)methanamine)) con el cual se hizo el acoplamiento molecular.

Una vez elegida la cadena a trabajar, se hizo una copia con el ligando para posteriormente eliminarlo debido a que la optimización de la enzima se debe hacer sin este. Seguidamente, se ajustó el pH de la estructura a 7,4 [55] por medio del módulo *Refine* y se optimizaron los grupos hidroxilo para minimizar la energía, rotando los puentes de hidrógeno. Además, se generaron los estados de protonación de los residuos de la proteína que están expuestos al solvente, ya que estos residuos pueden o no estar protonados (ionizados). Esto último es importante a la hora de hacer el acoplamiento molecular porque los grupos funcionales que están cargados sienten las interacciones electroestáticas con los ligandos que poseen carga.

Figura 3.

Enzima DPP-IV preparada en Maestro[®] sin y con superficie



Nota. La figura muestra la estructura de la enzima Dipeptidil Peptidasa 4 optimizada en el programa Maestro[®] (A) y la estructura con superficie obtenida del programa AutoDockTools.

Por otro lado, se analizó el ligando 2KS en el software MarvinSketch en el menú de *calculations* con la opción *Protonation* y *pKa*, a partir de los resultados se obtuvo la distribución de especies de los estados de protonación con respecto al pH.

Figura 4.

Estados de protonación con respecto al pH del ligando 2KS

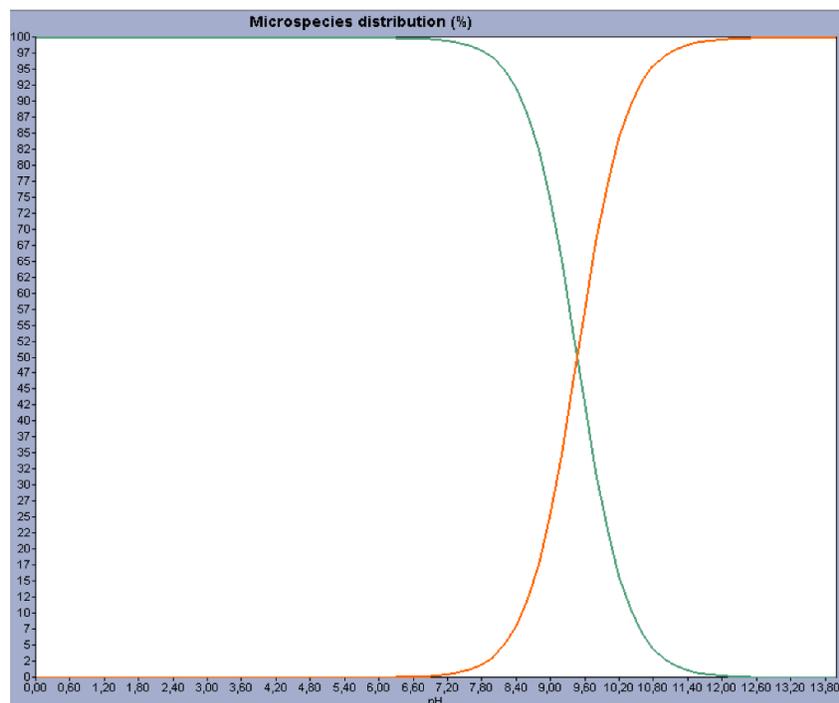
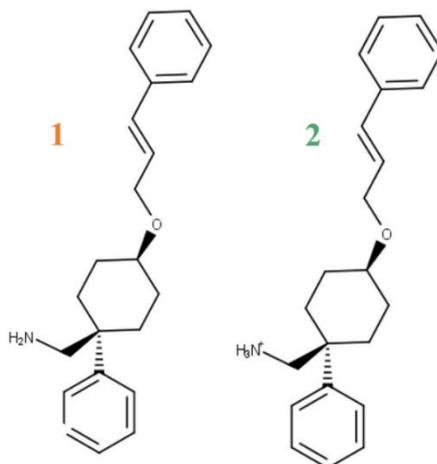


Figura 4. Continuación



Nota. En la figura se muestra la distribución de microespecies obtenida en el software Marvin Sketch, en el eje x se observa el pH en la escala de 0 a 14, en el eje y se tiene el porcentaje de cada uno de los estados de protonación 1 y 2 del ligando.

Según los resultados (ver Figura 4), la molécula 2KS tiene dos estados de protonación, en el primero no está protonado el grupo funcional amina (-NH₂), ya que no existe a pH bajos, por lo que cuando se acerca a 7,4 el porcentaje de población de ese estado de protonación es de 0,84%. Para el segundo estado, donde la estructura se encuentra protonada (-NH₃⁺) es el único estado de protonación que existe. Cuando se acerca a 7,4 el porcentaje de población de ese estado de protonación es de 99,16%.

Esto es muy importante en el acoplamiento molecular porque las interacciones que genera este grupo funcional con carga formal positiva son del tipo electrostáticas, que son mucho más fuertes que las interacciones de puentes de hidrógeno, ya que interactúan a larga distancia. Esto significa que cuando el ligando entre a la cavidad del sitio catalítico va a tender a buscar residuos con carga negativa dado que la estructura tiene una carga positiva y a partir de ahí se empiezan a dar las demás interacciones.

Por otro lado, para hacer el protocolo de validación se hizo uso de la proteína preparada previamente junto con el ligando 2KS protonado, para esto se debe analizar el sitio de unión del ligando al blanco molecular. Para este fin, se hace uso del software AutoDockTools-1.5.6 en el

módulo *Grid* donde se establece el tamaño del *Grid Box* (ver Tabla 6) el cual debe ser lo suficientemente amplio para abarcar todo el sitio activo.

Tabla 6.

Dimensiones (Angstroms) del Grid Box establecidas para el acoplamiento molecular

EJE	CENTRO	DIMENSIONES
X	25,456	26
Y	69,460	19
Z	80,311	24

Nota. En la tabla se observan las dimensiones del grid box en angstroms y las coordenadas del centro de la caja en los ejes x, y, z.

Adicionalmente, se debe establecer la configuración del software Vina en la cual el número de modos por defecto es 9 (cantidad de resultados del acoplamiento). Para un cálculo más riguroso se aumentó la exhaustividad de la búsqueda conformacional de 8 a 20, una vez definidos los parámetros anteriores se procedió a correr el programa. Los resultados obtenidos del *redocking* mostraron que la estructura más estable tiene una energía de $-8,4$ kcal/mol, ver Figura 5. Posteriormente, esta estructura se pasa a formato .pdb para que sea compatible con el programa Maestro[®] en donde se deben agregar o modificar los enlaces que no corresponden a la estructura del ligando, ver Figura 6.

Figura 5.

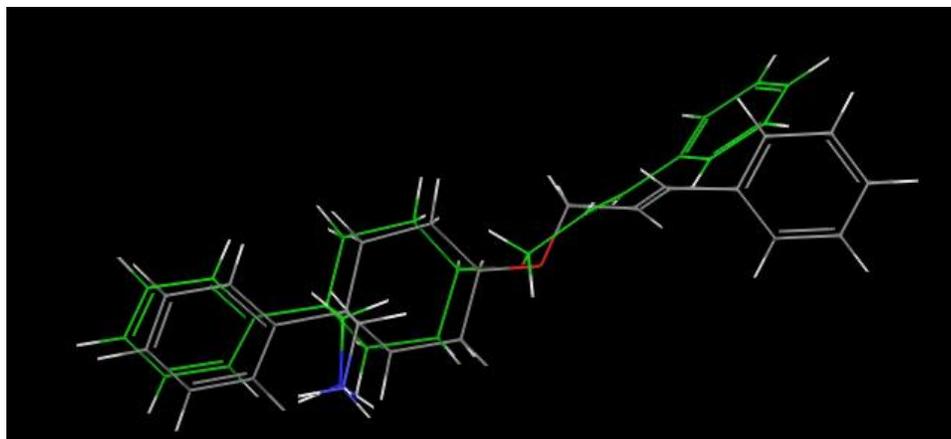
Comparación del ligando 2KS original con el resultado de acoplamiento más estable del redocking obtenida en AutodockTools



Nota. La figura muestra el valor de energía en kcal/mol de la estructura más estable del *redocking* (estructura en rosado) y su comparación con el ligando 2KS original (estructura en verde).

Figura 6.

Comparación del ligando 2KS con el resultado de acoplamiento más estable del redocking obtenida en el software Maestro®



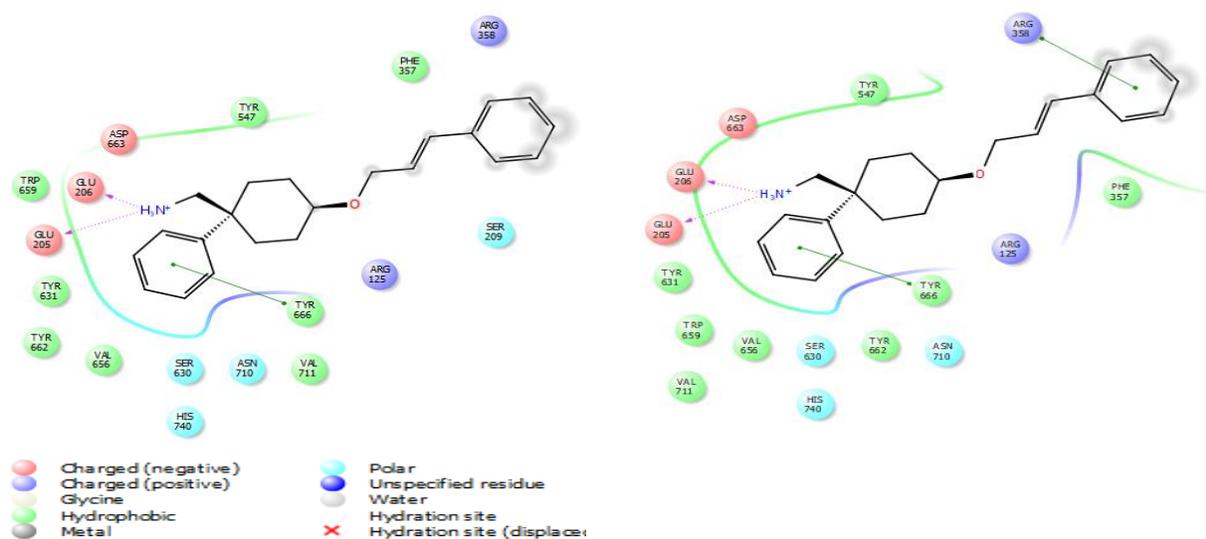
Nota. La figura muestra el valor de energía en kcal/mol de la estructura más estable del redocking (estructura en verde) y su comparación con el ligando 2KS original (estructura en blanco) con los enlaces ajustados con sus respectivos hidrógenos.

En la Figura 5 se observa que las dos conformaciones iniciales hacen parte de una misma familia de un estado conformacional. Debido a que la parte superior derecha del anillo aromático es muy flexible y la cavidad del sitio de unión de la proteína es muy amplia, los puntos de anclaje más importantes se dan en el amino cuaternario como se observó en la Figura 4, donde se estudió el estado de protonación de este ligando.

Finalmente, después de realizar el protocolo de validación del acoplamiento molecular se puede evidenciar en la Figura 7 que las interacciones electrostáticas presentes entre el ligando 2KS y el ligando del resultado del acoplamiento molecular con la proteína son en general las mismas. Sin embargo, existe una pequeña diferencia en la interacción que presenta el anillo aromático con Arg358 que es de tipo apilamiento Pi-Pi, lo cual podría ser bastante típico debido a la flexibilidad que presenta. Además, es indispensable realizar la protonación correcta para poder replicar el resultado experimental (Ligando original) ya que como se observó en la Figura 7, el ligando 2KS (con el segundo estado de protonación, $-\text{NH}_3^+$) interactúa con los ácidos glutámicos 205 y 206 por medio de puentes de hidrógeno. Con esto en mente, puede considerarse que el resultado es suficiente para corroborar que el acoplamiento molecular está bien ejecutado y se puede aplicar para el cribado virtual de los metabolitos a estudiar.

Figura 7.

Interacciones del ligando 2KS con la proteína DPP-IV



Nota. La figura muestra las interacciones del ligando 2KS original con la proteína DPP-IV (A) y las interacciones que tiene el ligando resultante del acoplamiento molecular con los residuos catalíticos de la proteína (B).

3.3 Modelar los modos de unión de los metabolitos secundarios y el blanco molecular

Para los estudios de acoplamiento molecular de los metabolitos secundarios de las especies consideradas, se realizó el análisis de los estados de protonación de aquellos ligandos que poseían un grupo funcional ácido o básico en el software MarvinSketch, ver Tablas 7 a 9.

Tabla 7.

Porcentaje de distribución de las microespecies (estados de protonación) a un pH de 7,4 de los metabolitos del género Vismia spp. (Hypericaceae)

Nº	CÓDIGO ZINC	DISTRIBUCIÓN DE LAS MICROESPECIES (%)
1	ZINC14821968	51,01
2	CHEBI:4040	
3	ZINC5762059	65,75
4	ZINC1531531	
5	ZINC85486983	100
6	ZINC5543718	80,62
7	ZINC150602241	80,63
8	ZINC44352558	80,61
9	PUBCHEM5492070	56,67
10	ZINC30726967	

Tabla 7. Continuación

11	ZINC3869768	57,85
12	ZINC56654	
13	ZINC3869685	57,50
14	ZINC18037965	
15	ZINC4098933	97,55
16	ZINC1531529	
17	ZINC3875278	50,15
18	ZINC5854369	27,88
19	ZINC5854373	44,15
20	ZINC14780698	22,91
21	ZINC14883285	75,61
22	ZINC14883287	67,46
23	CHEBI:59961	
24	ZINC8234282	
25	ZINC8234293	

Nota. Esta tabla muestra el porcentaje de distribución de las microespecies a un pH de 7,4 para los metabolitos secundarios del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*)

Tabla 8.

*Porcentaje de distribución de las microespecies (estados de protonación) a un pH de 7,4 de los metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*)*

N°	CÓDIGO ZINC	DISTRIBUCIÓN DE LAS MICROESPECIES (%)
1	ZINC119988	97,56
2	ZINC119978	97,56
3	ZINC13382496	69,17
4	ZINC5849312	41,15
5	ZINC13382495	64,14
6	ZINC3984030	45,62
7	ZINC14766825	74,91
8	ZINC13382494	84,57
9	ZINC4539100	84,86
10	ZINC15252012	60,99
11	ZINC13108877	23,71
12	ZINC5854400	50,07
13	ZINC4349262	55,03
14	ZINC14768740	63,03
15	ZINC26187321	49,56
16	ZINC14780695	74,03
17	ZINC85949815	61,83

Tabla 8. Continuación

18	ZINC6090922	34,20
19	ZINC4098560	70,70
20	ZINC85949824	56,54
21	ZINC15120680	41,29
22	ZINC14768737	57,10
23	ZINC26183774	49,67
24	PUBCHEM5281650	34,66
25	ZINC3925289	62,40

Nota. Esta tabla muestra el porcentaje de distribución de las microespecies a un pH de 7.4 para los metabolitos secundarios del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*)

Tabla 9.

Porcentaje de distribución de las microespecies (estados de protonación) a un pH de 7,4 de los metabolitos del género Neurolaena spp. (*Asteraceae*)

N°	CÓDIGO ZINC	DISTRIBUCIÓN DE LAS MICROESPECIES (%)
1	ZINC14684366	100
2	PUBCHEM 44259743	82,58
3	ZINC14644900	82,63
4	ZINC33831754	47,33
5	ZINC14644793	
6	ZINC6483405	57,97
7	ZINC238732983	61,63
8	ZINC14760695	38,02
9	ZINC5410014	100
10	ZINC13323154	100
11	ZINC6469367	99,35
12	PUBCHEM5373700	100
13	ZINC100090135	100
14	ZINC100090140	100
15	ZINC100090147	100
16	ZINC100090153	100
17	ZINC238781012	100
18	ZINC33833251	
19	ZINC5784821	58,76
20	PUBCHEM74208821	
21	ZINC14647297	81,38
22	PUBCHEM44259796	

Tabla 9. Continuación

23	ZINC3881689	
24	ZINC14727282	57,07
25	ZINC6468546	99,35

Nota. Esta tabla muestra el porcentaje de distribución de las microespecies a un pH de 7.4 para los metabolitos secundarios del género *Neurolaena* spp.(*Asteraceae*)

Para determinar cuál era el mejor estado de protonación se escoge aquel que presenta un mayor porcentaje de población, los resultados de este análisis se muestran en las Tablas 7, 8 y 9. Posteriormente se hacen las respectivas modificaciones de las cargas de los ligandos en el software Maestro[®] donde además se modificó el tipo de archivo de .sdf a .mol2 para realizar el acoplamiento molecular.

El acoplamiento molecular se realizó por medio PyRx, que es un software que permite modelar los modos de unión de bibliotecas de metabolitos con el blanco molecular, este programa utiliza como software de acoplamiento AutoDock 4 y AutoDock Vina. En este caso se realizaron los estudios de acoplamiento por género, iniciando por *Vismia* spp. (*Hypericaceae*). En el módulo *Vina Wizard* se cargaron todas las moléculas correspondientes a los ligandos de esta especie y adicionalmente se cargó la proteína DPP-IV como macromolécula. Una vez especificadas las moléculas con las que se van a realizar los cálculos, se ajusta manualmente el tamaño de la caja con las dimensiones que se establecieron en la Tabla 6 y se ajustó la exhaustividad con un valor igual a 20. Luego de obtenerse los resultados de este *docking*, se realizó el mismo procedimiento anteriormente descrito para los dos géneros restantes *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*).

Después de la finalización exitosa de las ejecuciones de acoplamiento, se obtuvieron diferentes conformaciones de los ligandos conocidos como modos de unión con su respectiva energía/afinidad de unión (kcal/mol). “La afinidad de unión se mide y se informa como el equilibrio constante de disociación que se utiliza para calcular y evaluar el orden de la solidez de las interacciones biomoleculares. Mientras más pequeño sea su valor, mayor será la afinidad de unión del ligante para su objetivo” [56].

PyRx no da los valores de la constante de inhibición K_i , pero permite que se calculen usando la Ecuación 1.

Es importante resaltar que en cuanto a la constante de inhibición (K_i), en general, a mayor valor de esta, más débil será la unión del inhibidor a la enzima [57]. Por lo tanto, se evidencia que la relación entre la afinidad de unión con la constante de inhibición es inversamente proporcional.

Los resultados del acoplamiento molecular de cada una de los géneros ordenados de forma descendiente desde el más estable se muestran en las Tablas 10, 11 y 12.

Tabla 10.

Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género Vismia spp. (Hypericaceae) con la proteína DPP-IV

Ligando	Afinidad de unión	Constante de inhibición K_i
ZINC85486983	-10,0	4,67E-08
ZINC18037965	-9,2	1,80E-07
ZINC44352558	-9,1	2,13E-07
ZINC14883287	-9,0	2,53E-07
ZINC150602241	-9,0	2,53E-07
ZINC5543718	-8,9	2,99E-07
ZINC5762059	-8,9	2,99E-07
ZINC3869768	-8,8	3,54E-07
ZINC14883285	-8,8	3,54E-07
PUBCHEM5492070	-8,7	4,19E-07
ZINC3869685	-8,6	4,96E-07
ZINC5854369	-8,6	4,96E-07
ZINC5854373	-8,4	6,95E-07
ZINC14780698	-8,4	6,95E-07
ZINC3875278	-8,3	8,23E-07
ZINC14821968	-7,9	1,62E-06
ZINC4098933	-7,8	1,91E-06
CHEBI4040	-7,3	4,45E-06
ZINC8234293	-6,9	8,74E-06
CHEBI59961	-6,8	1,04E-05
ZINC1531529	-6,7	1,23E-05
ZINC56654	-6,6	1,45E-05
ZINC1531531	-6,6	1,45E-05
ZINC8234282	-6,5	1,72E-05
ZINC30726967	-6,4	2,03E-05

Nota. Esta tabla muestra la afinidad y la constante inhibitoria que tiene cada uno de los metabolitos del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) con la enzima DPP-IV ordenados de mayor a menor obtenidos del estudio del cribado molecular.

Tabla 11.

Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) con la proteína DPP-IV

Ligando	Afinidad de unión	Constante de inhibición K_i
ZINC14768737	-11,0	8,63E-09
ZINC14768740	-10,5	2,01E-08
ZINC3984030	-10,3	2,81E-08
ZINC15252012	-10,0	4,67E-08
ZINC13382495	-9,7	7,75E-08
ZINC13382494	-9,4	1,29E-07
ZINC14766825	-9,4	1,29E-07
ZINC13382496	-9,3	1,52E-07
ZINC26183774	-9,2	1,80E-07
ZINC26187321	-9,2	1,80E-07
ZINC13108877	-9,0	2,53E-07
ZINC85949824	-9,0	2,53E-07
PUBCHEM5281650	-8,7	4,19E-07
ZINC4098560	-8,7	4,19E-07
ZINC5849312	-8,7	4,19E-07
ZINC3925289	-8,6	4,96E-07
ZINC4349262	-8,6	4,96E-07
ZINC4539100	-8,6	4,96E-07
ZINC5854400	-8,6	4,96E-07
ZINC15120680	-8,6	4,96E-07
ZINC85949815	-8,6	4,96E-07
ZINC14780695	-8,2	9,74E-07
ZINC119988	-7,9	1,62E-06
ZINC119978	-7,7	2,27E-06
ZINC6090922	-7,5	3,18E-06

Nota. Esta tabla muestra la afinidad y la constante inhibitoria que tiene cada uno de los metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) con la enzima DPP-IV ordenados de mayor a menor obtenidos del estudio del cribado molecular.

Tabla 12.

Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) con la proteína DPP-IV

Ligando	Afinidad de unión	Constante de inhibición K_i
ZINC14644793	-9,4	1,29E-07

Tabla 12. Continuación

PUBCHEM44259743	-8,8	3,54E-07
ZINC100090147	-8,8	3,54E-07
ZINC33831754	-8,8	3,54E-07
PUBCHEM74208821	-8,7	4,19E-07
ZINC33833251	-8,7	4,19E-07
ZINC14727282	-8,3	8,23E-07
ZINC238732983	-8,3	8,23E-07
ZINC5784821	-8,3	8,23E-07
PUBCHEM5373700	-8,2	9,74E-07
ZINC14644900	-8,2	9,74E-07
ZINC14647297	-8,2	9,74E-07
PUBCHEM44259796	-8,1	1,15E-06
ZINC5410014	-8,1	1,15E-06
ZINC14760695	-7,9	1,62E-06
ZINC6483405	-7,8	1,91E-06
ZINC100090135	-7,7	2,27E-06
ZINC100090153	-7,7	2,27E-06
ZINC13323154	-7,6	2,68E-06
ZINC238781012	-7,6	2,68E-06
ZINC100090140	-7,2	5,27E-06
ZINC3881689	-7,2	5,27E-06
ZINC6468546	-5,7	6,63E-05
ZINC6469367	-5,5	9,29E-05
ZINC14684366	-4,9	2,56E-04

Nota. Esta tabla muestra la afinidad y la constante inhibitoria que tiene cada uno de los metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) con la enzima DPP-IV ordenados de mayor a menor obtenidos del estudio del cribado molecular.

Para determinar cuáles son los metabolitos que presentan un correcto modo de unión al blanco molecular se toma como referencia el valor de -8,4 kcal/mol que corresponde a la afinidad de unión del metabolito original (2KS) de la DPP-IV como se muestra en la Figura 5. Por lo tanto, se tomaron en cuenta aquellos metabolitos que presentan un valor de afinidad de unión igual o mayor al metabolito original. En el caso del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) como se observa en la Tabla 10, cuenta con 14 metabolitos, por su parte el género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) en la Tabla 11, cuenta con 21 metabolitos y por último en la Tabla 12 se observa que el género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) cuenta con 6 metabolitos.

3.4 Caracterizar el grupo de metabolitos con el mayor potencial de actividad inhibitoria frente al DPP-IV

Una vez determinado el grupo de 41 metabolitos que tienen la mejor afinidad de unión y el menor valor de K_i , se llevaron al programa Maestro[®] para corregir las estructuras. Los archivos de salida de los resultados de acoplamiento molecular se visualizan en AutodockTools y este programa elimina algunos enlaces, por lo que es necesario agregarlos nuevamente para proceder a calcular los parámetros farmacocinéticos, evaluando la viabilidad de los metabolitos como fármacos de administración oral utilizando la herramienta virtual gratuita SwissADME.

La herramienta SwissADME “permite calcular descriptores fisicoquímicos, así como predecir los parámetros ADME, las propiedades farmacocinéticas, la naturaleza similar a la de un fármaco y la compatibilidad con la química medicinal de una o varias moléculas pequeñas para respaldar el descubrimiento de fármacos” [58]. Al realizar los cálculos de estos parámetros para los metabolitos de las tres especies se obtuvieron los resultados mostrados en las Tablas 13 a 15.

Tabla 13.

Parámetros farmacocinéticos obtenidos para metabolitos del género Vismia spp. (Hypericaceae)

Ligando	Peso Molecular	#H-donadores	#H-aceptores	LogP	Alertas PAINS	Absorción GI	Biodisponibilidad
ZINC85486983	742,72	8	18	-1,06	0	Bajo	0,17
ZINC18037965	354,35	0	6	2,77	0	Alto	0,55
ZINC44352558	611,87	3	6	5,31	1	Bajo	0,55
ZINC14883287	368,38	2	6	3,03	1	Alto	0,55
ZINC150602241	672,93	3	6	N/A	N/A	N/A	N/A
ZINC5543718	610,86	3	6	8,04	1	Bajo	0,56
ZINC5762059	310,3	2	5	2,99	0	Alto	0,55
ZINC3869768	288,25	4	6	0,85	0	Alto	0,55
ZINC14883285	354,4	2	5	3,8	1	Alto	0,55
PUBCHEM5492070	310,3	2	5	2,85	0	Alto	0,55
ZINC3869685	302,24	5	7	1,23	1	Alto	0,55
ZINC5854369	382,45	3	5	4,18	0	Alto	0,55
ZINC5854373	394,46	2	5	4,46	0	Alto	0,55
ZINC14780698	414,49	3	6	4,13	0	Alto	0,55

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos obtenidos en la herramienta SwissADME para cada uno de los metabolitos seleccionados del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*)

Tabla 14.

Parámetros farmacocinéticos obtenidos para metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*)

Ligando	Peso molecular	#H- donadores	#H- aceptores	LogP	Alertas PAINS	Absorción GI	Biodisponibilidad
ZINC14768737	460,52	2	6	5,16	0	Alto	0,55
ZINC14768740	464,55	2	6	5,51	0	Alto	0,55
ZINC3984030	538,46	6	10	3,62	0	Bajo	0,17
ZINC15252012	462,53	2	6	5,35	0	Alto	0,55
ZINC13382495	408,44	2	6	4,43	0	Alto	0,55
ZINC13382494	380,43	2	5	4,57	0	Alto	0,55
ZINC14766825	396,43	2	6	4,11	0	Alto	0,55
ZINC13382496	412,48	2	6	4,66	0	Alto	0,55
ZINC26183774	540,47	6	10	3,19	0	Bajo	0,17
ZINC26187321	556,47	7	11	2,77	1	Bajo	0,17
ZINC13108877	462,53	2	6	4,71	1	Alto	0,55
ZINC85949824	396,48	2	5	4,02	0	Alto	0,55
PUBCHEM5281650	410,46	3	6	4,64	0	Alto	0,55
ZINC4098560	448,38	8	11	-0,47	1	Bajo	0,17
ZINC5849312	384,47	3	5	4,78	0	Alto	0,55
ZINC3925289	428,52	2	6	5,23	0	Alto	0,55
ZINC4349262	448,38	8	11	-0,34	1	Bajo	0,17
ZINC4539100	442,54	1	6	5,58	0	Alto	0,55
ZINC5854400	400,46	4	6	4	0	Alto	0,55
ZINC15120680	400,46	4	6	4,52	0	Alto	0,55
ZINC85949815	380,48	1	4	4,91	0	Alto	0,55

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos obtenidos en la herramienta SwissADME para cada uno de los metabolitos seleccionados del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*)

Tabla 15.

Parámetros farmacocinéticos obtenidos para metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*)

Ligando	Peso molecular	#H- donadores	#H- aceptores	LogP	Alertas PAINS	Absorción GI	Biodisponibilidad
ZINC14644793	464,38	8	12	-0,1	1	Bajo	0,17
PUBCHEM44259743	478,4	7	12	0	1	Bajo	0,17
ZINC100090147	382,45	2	7	1,69	0	Alto	0,55
ZINC33831754	464,38	8	12	-0,3	1	Bajo	0,17
PUBCHEM74208821	494,4	8	13	-0,28	1	Bajo	0,17
ZINC33833251	494,4	8	13	-0,37	1	Bajo	0,17

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos obtenidos en la herramienta SwissADME para cada uno de los metabolitos seleccionados del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*)

Para analizar la información farmacocinética de cada uno de los metabolitos, es importante considerar en primer lugar, las alertas PAINS [Pan-Assay INterference compoundS] las cuales causan señales de ensayo falsas positivas debido a la reactividad en las condiciones del ensayo, incluidas modificaciones covalentes o efectos redox, quelación, auto fluorescencia o degradación, por lo que se utilizan como filtros computacionales para detectar compuestos con potenciales pasivos químicos [59].

Se descartaron los metabolitos que contienen alertas PAINS porque generalmente no resultan útiles y pueden hacer incurrir en costos de investigación innecesarios, por este motivo según la información obtenida de herramienta SwissADME en el género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) se descartan 6 metabolitos, por su parte en el género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) se descartan 4 y finalmente 5 para el género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*), quedando entonces en total 26 posibles metabolitos con aplicación farmacológica.

3.4.1 Caracterización de los metabolitos como posibles fármacos de administración oral.

Para determinar si un metabolito puede ser administrado de manera oral, ya que “tiene una mayor aceptabilidad por los pacientes, porque garantiza la permeabilidad de las células expuestas a nivel intestinal con un área de superficie expuesta grande y mayor confiabilidad de la exposición” [60] se debe entonces cumplir unas reglas formuladas por Lipinski. Estas reglas establecen propiedades físico-químicas comunes que influyen la biodisponibilidad de cualquier medicamento administrado por esta vía [60].

Lipinski determina que un fármaco tendrá buena absorción cuando:

- El número de donadores de puentes de hidrógeno < 5
- El número de aceptores de puentes de hidrógeno < 10
- Peso molecular < 500 Da
- Coeficiente de reparto Octanol-Agua $[\log P] < 5$

Sin embargo, Lipinski no considera todas las variables que influyen en la absorción, por esta razón se han realizado modificaciones a esta regla como las que plantea Ghose que determina que “el log P calculado debe estar entre -0,4 y 5,6, el peso molecular entre 160 y 480 Da, la refractividad molar entre 40 y 130 y el número total de átomos en un rango de 20 a 70” [61]. Los parámetros de Ghose se muestran en las tablas 16 a la 18. Por su parte, Veber plantea que un

fármaco tendrá una buena aceptabilidad cuando el área de superficie polar sea menor o igual a 140 \AA^2 , el número de enlaces rotativos ≤ 10 y la suma de los donadores y aceptores de puentes de hidrogeno ≤ 12 [62], estos datos se muestran en las Tablas 19 a la 21.

Tabla 16.

Parámetros de las reglas de Ghose evaluados en metabolitos del género Vismia spp. (Hypericaceae)

Ligando	Refractividad Molar (RM)	Número de átomos
ZINC85486983	172,13	52
ZINC18037965	90	26
ZINC5762059	88,16	23
ZINC3869768	72,51	21
PUBCHEM5492070	88,16	23
ZINC5854369	110,7	28
ZINC5854373	114,7	29
ZINC14780698	116,27	30

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos para evaluar las reglas de Ghose obtenidos en la herramienta SwissADME para los metabolitos del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*)

Tabla 17.

Parámetros de las reglas de Ghose evaluados en metabolitos del género Garcinia spp. (Clusiaceae)

Ligando	Refractividad Molar (RM)	Número de átomos
ZINC14768737	136	34
ZINC14768740	136,15	34
ZINC3984030	146,97	40
ZINC15252012	136,47	34
ZINC13382495	118,37	30
ZINC13382494	112,35	28
ZINC14766825	111,64	29
ZINC13382496	118,53	30
ZINC26183774	143,6	40
ZINC85949824	113,52	29
PUBCHEM5281650	119,99	30
ZINC5849312	114,45	28
ZINC3925289	125,41	31
ZINC4539100	129,88	32
ZINC5854400	115,59	29
ZINC15120680	116,31	29
ZINC85949815	113,15	28

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos para evaluar las reglas de Ghose obtenidos en la herramienta SwissADME para los metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*)

Tabla 18.

Parámetros de las reglas de Ghose evaluados en metabolitos del género Neurolaena spp. (Asteraceae)

Ligando	Refractividad Molar (RM)	Número de átomos
ZINC100090147	98,68	27

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos para evaluar las reglas de Ghose obtenidos en la herramienta SwissADME para los metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*)

Tabla 19.

Parámetros de las reglas de Veber evaluados en metabolitos del género Vismia spp. (Hypericaceae)

Ligando	Área superficial	#Enlaces rotativos	Σ H-donadores-Aceptores
ZINC85486983	254,14	12	26
ZINC18037965	55,38	2	6
ZINC5762059	79,9	0	7
ZINC3869768	107,22	1	10
PUBCHEM5492070	79,9	0	7
ZINC5854369	86,99	5	8
ZINC5854373	75,99	5	7
ZINC14780698	99,52	8	9

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos para evaluar las reglas de Veber obtenidos en la herramienta SwissADME para los metabolitos del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*).

Tabla 20.

Parámetros de las reglas de Veber evaluados en metabolitos del género Garcinia spp. (Clusiaceae)

Ligando	Área superficial	#Enlaces rotativos	Σ H-donadores-Aceptores
ZINC14768737	89,13	2	8
ZINC14768740	89,13	3	8
ZINC3984030	181,8	3	16
ZINC15252012	89,13	3	8
ZINC13382495	89,13	3	8
ZINC13382494	79,9	3	7
ZINC14766825	89,13	0	8
ZINC13382496	89,13	4	8
ZINC26183774	177,89	3	16
ZINC85949824	75,99	5	7
PUBCHEM5281650	100,13	5	9
ZINC5849312	90,9	6	8
ZINC3925289	89,13	8	8

Tabla 20. Continuación

ZINC4539100	78,13	9	7
ZINC5854400	111,13	6	10
ZINC15120680	111,13	7	10
ZINC85949815	55,76	6	5

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos para evaluar las reglas de Veber obtenidos en la herramienta SwissADME para los metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*).

Tabla 21.

Parámetros de las reglas de Veber evaluados en metabolitos del género Neurolaena spp. (*Asteraceae*)

Ligando	Área superficial	#Enlaces rotativos	Σ H-donadores-Aceptores
ZINC100090147	110,13	4	9

Nota. Esta tabla muestra los parámetros farmacocinéticos para evaluar las reglas de Veber obtenidos en la herramienta SwissADME para los metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*).

Teniendo en cuenta los parámetros que evalúan las reglas de Lipinski y sus correspondientes modificaciones de Ghose y Veber que se establecieron en las Tablas 13 a 21, se identificó el número de incumplimientos a las reglas anteriormente mencionadas, (ver tablas de la 22 a la 24).

Tabla 22.

Número de incumplimientos a las reglas Lipinski, Ghose, Veber en metabolitos del género Vismia spp. (*Hypericaceae*)

Ligando	# Incumplimientos Lipinski	# Incumplimientos Ghose	# Incumplimientos Veber
ZINC85486983	3	4	2
ZINC18037965	0	0	0
ZINC5762059	0	0	0
ZINC3869768	0	0	0
PUBCHEM5492070	0	0	0
ZINC5854369	0	0	0
ZINC5854373	0	0	0
ZINC14780698	0	0	0

Nota. En esta tabla se muestra el número de incumplimientos que presenta cada uno de los metabolitos del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) a las reglas que establecen las características para que una molécula pueda ser administrada como fármaco de manera oral.

Tabla 23.

Número de incumplimientos a las reglas Lipinski, Ghose, Veber en metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*)

Ligando	# Incumplimientos Lipinski	# Incumplimientos Ghose	# Incumplimientos Veber
ZINC14768737	0	2	0
ZINC14768740	0	2	0
ZINC3984030	2	2	1
ZINC15252012	0	2	0
ZINC13382495	0	0	0
ZINC13382494	0	0	0
ZINC14766825	0	0	0
ZINC13382496	0	0	0
ZINC26183774	2	2	1
ZINC85949824	0	0	0
PUBCHEM5281650	0	0	0
ZINC5849312	0	0	0
ZINC3925289	0	0	0
ZINC4539100	0	1	0
ZINC5854400	0	0	0
ZINC15120680	0	0	0
ZINC85949815	0	0	0

Nota. En esta tabla se muestra el número de incumplimientos que presenta cada uno de los metabolitos del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) a las reglas que establecen las características para que una molécula pueda ser administrada como fármaco de manera oral.

Tabla 24.

Número de incumplimientos a las reglas Lipinski, Ghose, Veber en metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*)

Ligando	# Incumplimientos Lipinski	# Incumplimientos Ghose	# Incumplimientos Veber
ZINC100090147	0	0	0

Nota. En esta tabla se muestra el número de incumplimientos que presenta cada uno de los metabolitos del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) a las reglas que establecen las características para que una molécula pueda ser administrada como fármaco de manera oral.

Como criterio para la selección de los mejores metabolitos se tuvo en cuenta que cumplieran en totalidad con las tres reglas establecidas anteriormente (Lipinski, Ghose, Veber), es decir, que el número de incumplimientos para cada una de ellas fuera cero, en este caso para los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*), *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) , se obtuvieron 7, 11 y 1 metabolitos respectivamente para un total de 19 ligandos. Adicionalmente, se identificó que estos contaban con una biodisponibilidad del 55% y que su absorción gastrointestinal es alta ya que esto asegura que puedan ser efectivamente usados como fármacos de administración oral.

Posteriormente, como con estos 19 metabolitos con posible actividad farmacológica que pueden ser ingeridos de manera oral, se pretende inhibir la acción de la enzima DPP-IV, se decidió que se elegirían los 3 metabolitos que mejor potencial inhibitorio y afinidad de unión tuvieran a esta enzima, para el caso del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) son: ZINC18037965, ZINC5762059 y ZINC3869768, para el género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) son: ZINC13382495, ZINC13382494 y ZINC14766825, y para el caso de *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) solo se identificó un metabolito que cumpliera con todos los parámetros descritos anteriormente que corresponde a ZINC100090147.

Para comparar el potencial inhibitorio de los 7 metabolitos elegidos, se realizó el estudio de acoplamiento molecular en PyRx con las dimensiones establecidas en la Tabla 6 con los tres fármacos de administración oral más comunes que se usan para inhibir la enzima DPP-IV que se presentaron en la Tabla 2, los cuales son Sitagliptina, Alogliptina y Linagliptina obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 25.

Tabla 25.

Resumen de los resultados de acoplamiento a la proteína DPP-IV comparados con el potencial inhibitorio de medicamentos de administración oral reportados en la literatura

Identificador	Ligando	Tipo de compuesto	Afinidad de Unión	Constante de inhibición Ki
<i>VISMIA SPP. (HYPERICACEAE)</i>				
V-1	ZINC18037965	Lignanoso	-9,2	1,80E-07
V-2	ZINC5762059	Xantonas	-8,9	2,99E-07
V-3	ZINC3869768	Flavonoide	-8,8	3,54E-07

Tabla 25. Continuación

<i>GARCINIA SPP. (CLUSIACEAE)</i>				
G-1	ZINC13382495	Xantonas	-9,7	7,75E-08
G-2	ZINC13382494	Benzopiranos	-9,4	1,29E-07
G-3	ZINC14766825	Xantonas	-9,4	1,29E-07
<i>NEUROLAENA SPP. (ASTERACEAE)</i>				
N-1	ZINC100090147	Lactonas sesquiterpénicas	-8,8	3,54E-07
MEDICAMENTOS ADMINISTRACIÓN ORAL				
	Linagliptina		-9,9	5,53E-08
	Sitagliptina		-9,3	1,52E-07
	Alogliptina		-7,8	1,91E-06

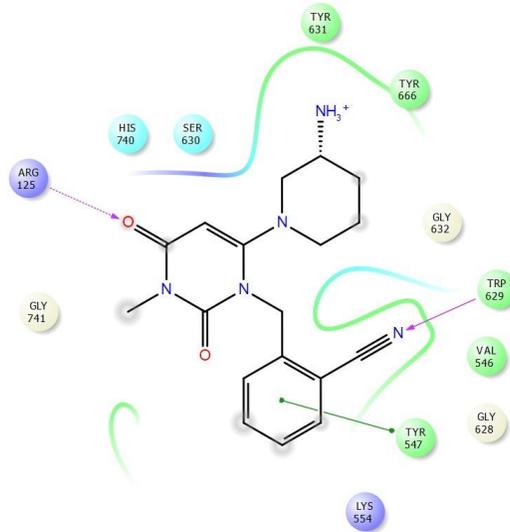
Nota. En esta tabla se muestra los resultados del acoplamiento molecular para los metabolitos seleccionados con mayor potencial de inhibición y que cumplen con las reglas de Lipinski comparados con los medicamentos de administración oral que actualmente se usan para inhibir la enzima DPP-IV.

Teniendo en cuenta los valores de afinidad de unión de los medicamentos estudiados mostrados en la Tabla 25, se identificó que el que presenta mayor afinidad de unión es la Linagliptina, seguido de la Sitagliptina y finalmente la Alogliptina, cuyo rango está desde $-9,9$ kcal/mol a $-7,8$ kcal/mol, por lo cual se confirmó que los ligandos seleccionados para cada uno de los géneros se encuentran dentro de este rango. Respecto a la constante de inhibición K_i , se observó que los valores de los ligandos tienen un valor pequeño aproximadamente de la misma magnitud para todos en un orden entre 10^{-7} y 10^{-8} , estos se compararán con los K_i que presentan los medicamentos. Se identificó que son valores similares, lo que indica que la unión del ligando a la enzima DPP-IV es fuerte, por lo que el poder inhibitorio es alto para los metabolitos propuestos.

Además, se realizó un estudio de las interacciones de los medicamentos con la enzima DPP-IV para compararlas con las que presentan los ligandos propuestos para fármacos de administración oral, mostradas en las Figuras 8 a 10 y en la Tabla 26.

Figura 10.

Interacciones que presenta el fármaco Alogliptina con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el fármaco Alogliptina con la enzima DPP-IV

Tabla 26.

Interacciones de los medicamentos con los residuos de aminoácidos del sitio activo de la DPP-IV

Medicamento	Interacciones de los residuos del sitio catalítico																			
Linagliptina	GLY 549	TYR 666	VAL 711	TYR 631	VAL 656	TRP 659	TYR 662	SER 630	LYS 554	TYR 547	VAL 546	ASP 545	TRP 627	GLY 628	TRP 629	HIS 740	GLY 741	ARG 125	GLY 632	
Sitagliptina	TRP 569	VAL 711	VAL 656	TYR 662	TYR 631	ASN 710	ARG 125	TRP 629	TRP 627	TYR 752	GLY 741	HIS 740	SER 630	TYR 547						
Alogliptina	TYR 666	TYR 631	HIS 740	SER 630	ARG 125	GLY 741	LYS 554	TYR 547	GLY 628	VAL 546	TRP 629	GLY 632								

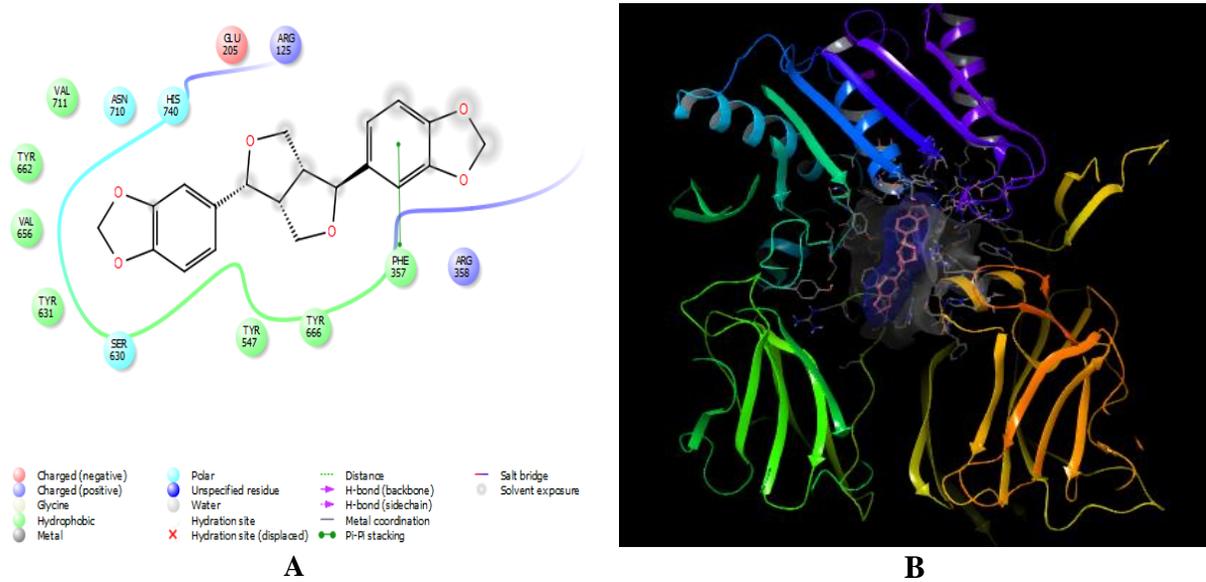
Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presentan los ligandos con el sitio activo de la DPP-IV, donde el color verde representa el enlace de tipo PI-PI, y el color morado representa los enlaces de puentes de hidrogeno.

En las Figuras de la 8 a 10 se observa que los medicamentos mencionados en la Tabla 25 presentan interacciones de tipo PI-PI con los aminoácidos TYR y TRP, y de tipo puentes de hidrogeno los aminoácidos ARG, TRP, y ASP.

Finalmente, se realizó la caracterización de las interacciones que presentan los ligandos seleccionados con la enzima DPP-IV mediante el uso del software Maestro® (Figura 11 a Figura 17) para definir con cuales residuos y por medio de cual tipo de interacciones tienen contacto.

Figura 11.

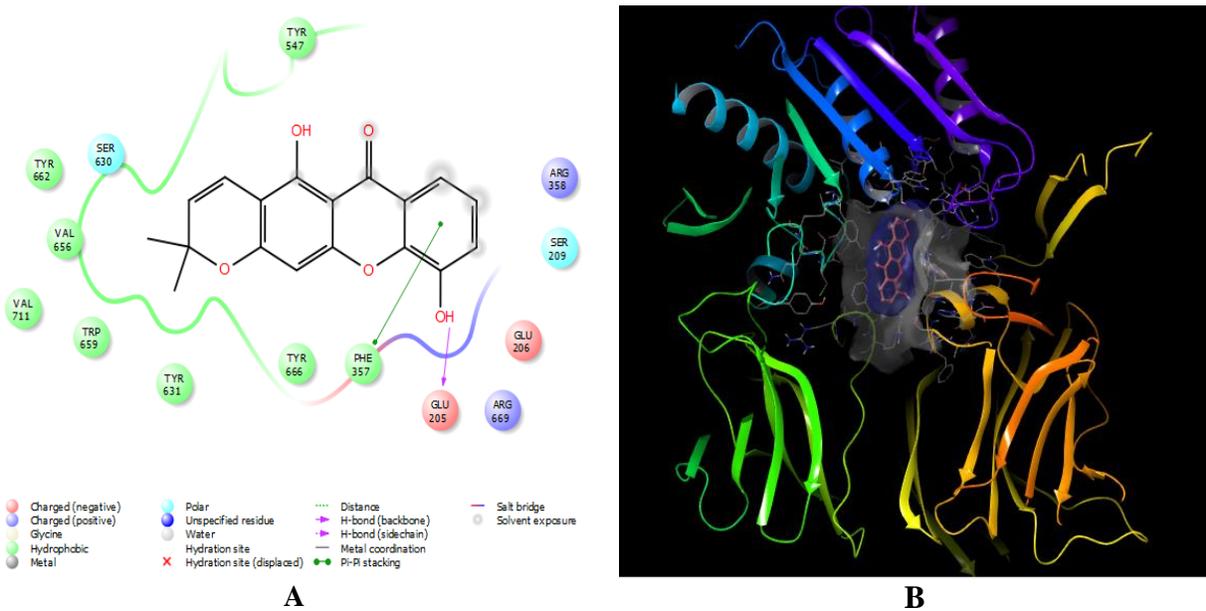
Interacciones que presenta el ligando V-1 del género Vismia spp.(Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-1 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 12.

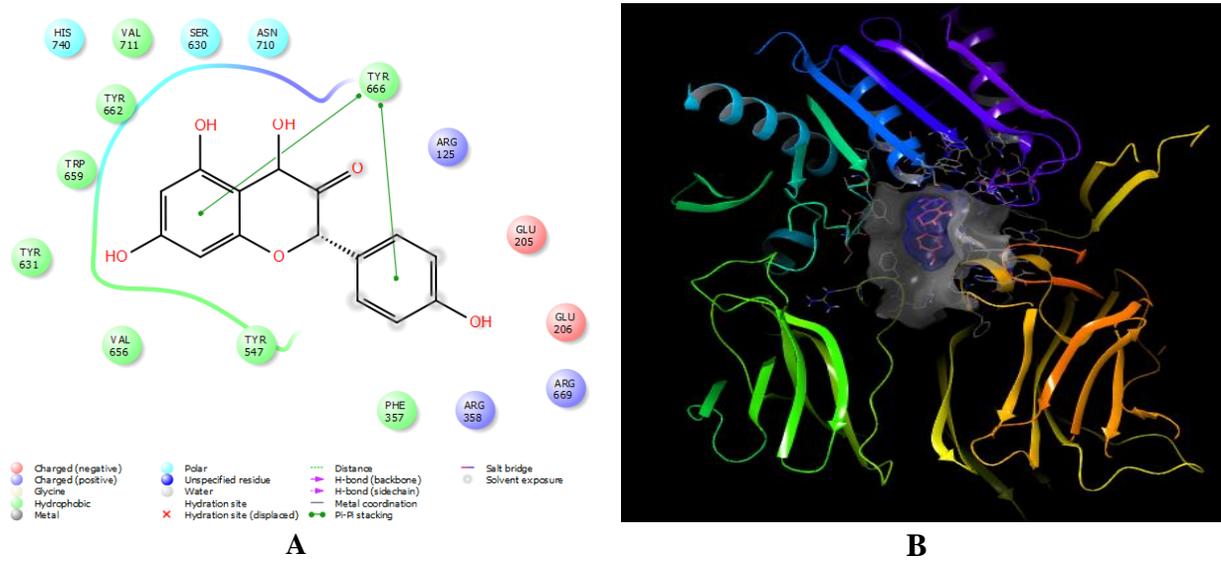
Interacciones que presenta el ligando V-2 del género Vismia spp.(Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-2 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 13.

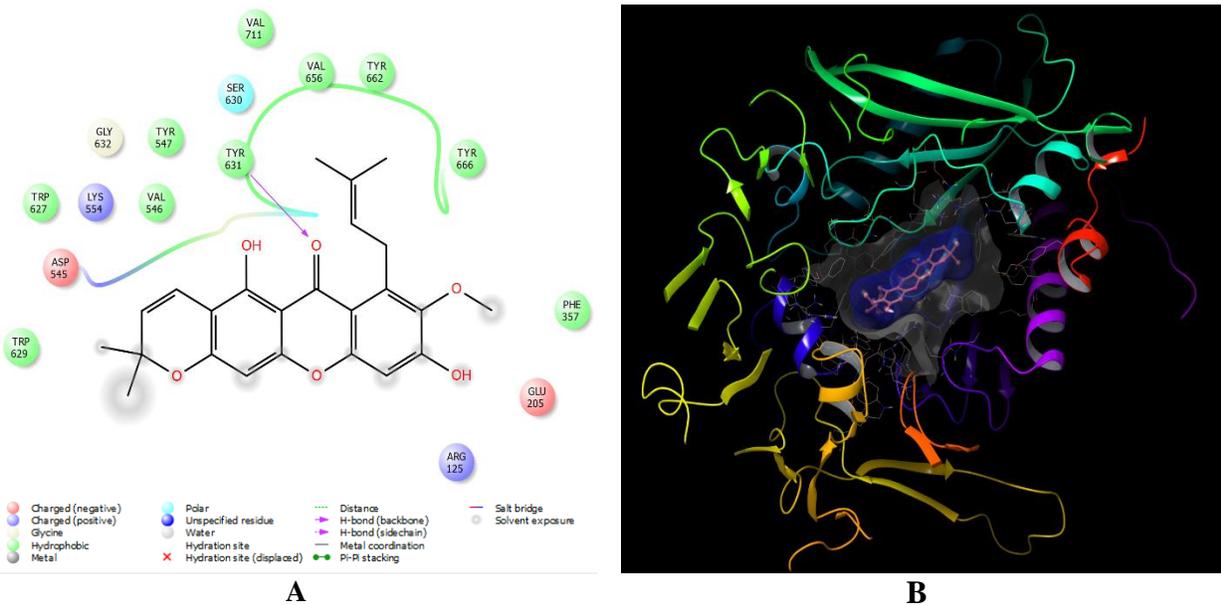
Interacciones que presenta el ligando V-3 del género Vismia spp. (Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-3 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 14.

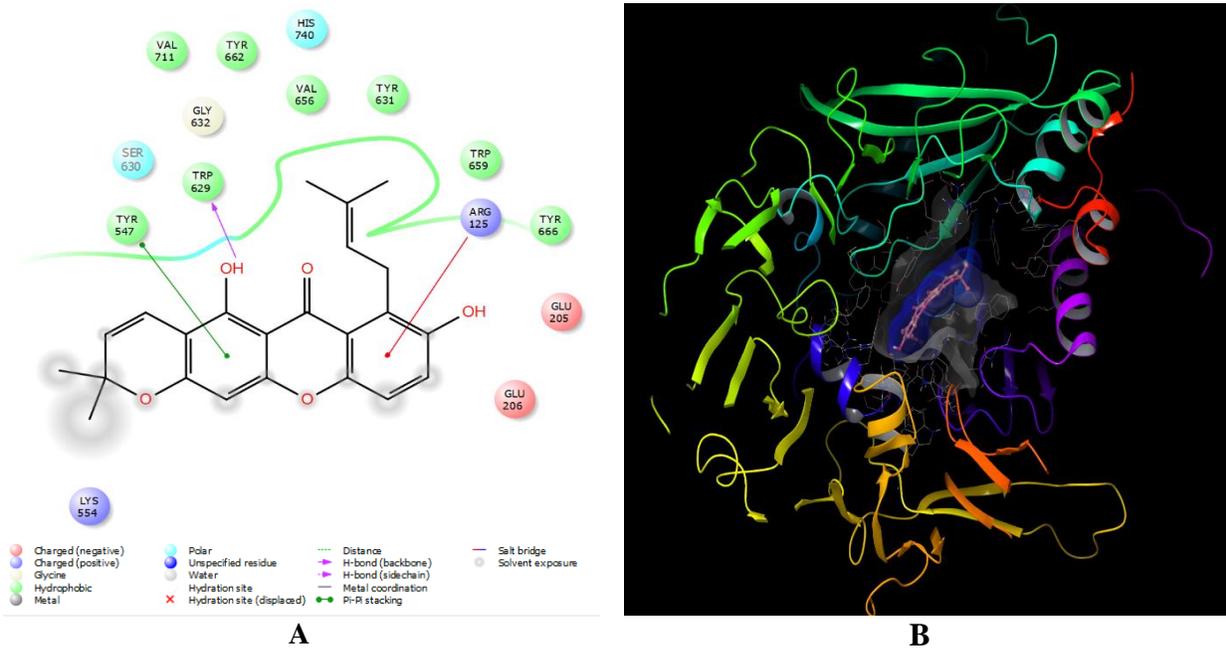
Interacciones que presenta el ligando G-1 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-1 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 15.

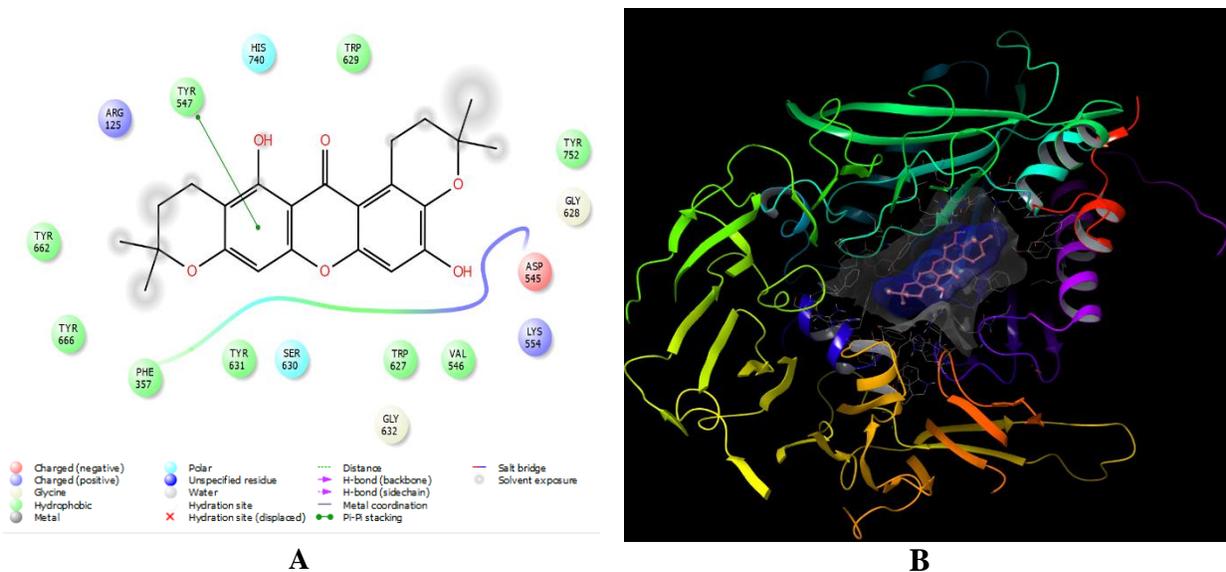
Interacciones que presenta el ligando G-2 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-2 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 16.

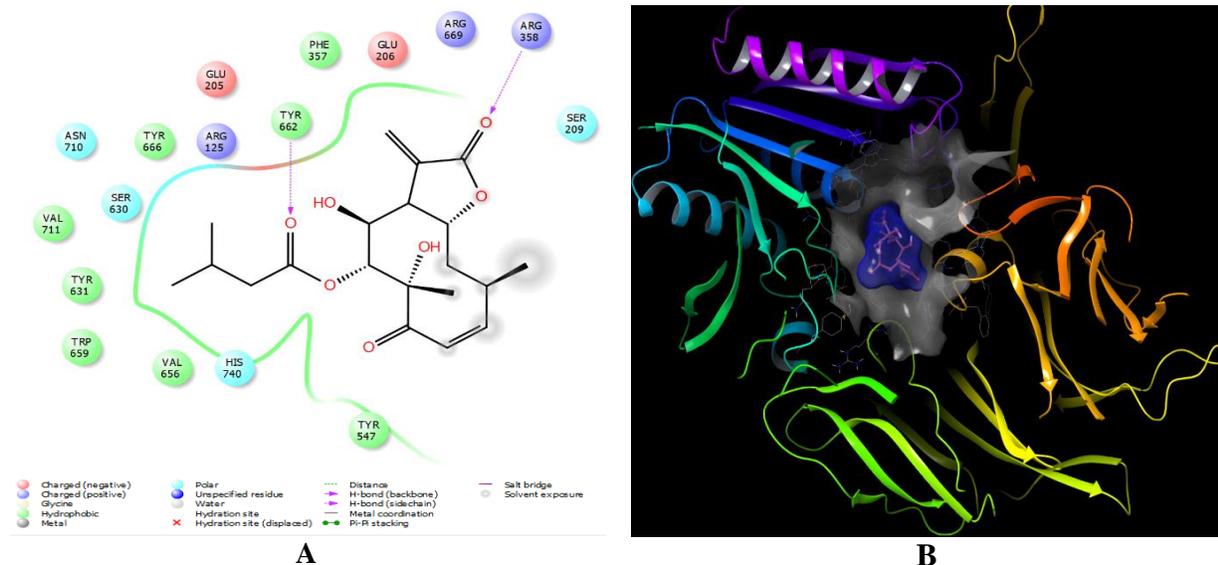
Interacciones que presenta el ligando G-3 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-3 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 17.

Interacciones que presenta el ligando N-1 del género Neurolaena spp.(Asteraceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando N-1 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Por medio del Software Maestro[®] se identifica el sitio activo en la superficie de la enzima DPP-IV, esto es un paso significativo, ya que predice la puntuación y la correcta ejecución del acoplamiento real de la molécula. En las Figuras 11B a 17B se observa que el ligando se encuentra unido en el sitio catalítico y no en otro lugar donde no se garantice la inhibición del blanco molecular.

Las interacciones específicas que tiene cada uno de los ligandos propuestos con la enzima DPP-IV se muestran en la Tabla 27.

Tabla 27.

Interacciones de los ligandos con los residuos de aminoácidos del sitio activo de la DPP-IV

Ligando	Interacciones de los residuos del sitio catalítico																
<i>VISMIA SPP. (HYPERICACEAE)</i>																	
V-1	ARG 358	PHE 357	TYR 666	HIS 740	ASN 710	VAL 656	VAL 711	TYR 662	SER 630	TYR 631	TYR 547	ARG 125	GLU 205				
V-2	ARG 358	SER 209	ARG 669	GLU 206	GLU 205	PHE 357	TYR 666	TYR 631	TRP 659	VAL 656	TYR 662	SER 630	VAL 711	TYR 547			
V-3	PHE 357	GLU 206	ARG 669	ARG 358	GLU 205	ARG 125	TYR 666	ASN 710	SER 630	VAL 711	HIS 740	TYR 662	TRP 659	VAL 656	PYR 631	TYR 547	
<i>GARCINIA SPP. (CLUSIACEAE)</i>																	
G-1	GLU 205	ARG 125	PHE 357	TYR 666	TYR 662	VAL 656	SER 630	GLY 632	VAL 711	TYR 631	TYR 547	VAL 546	LYS 554	ASP 545	TRP 627	TRP 629	
G-2	LYS 554	GLU 206	GLU 205	TYR 666	ARG 125	TRP 659	TYR 631	VAL 656	HIS 740	TYR 662	VAL 711	GLY 632	TRP 629	SER 630	TYR 547		
G-3	TRP 629	HIS 740	TYR 547	ARG 125	TYR 662	TYR 666	PHE 357	TYR 631	SER 630	GLY 632	TRP 627	VAL 546	LYS 554	ASP 545	GLY 628	TYR 752	
<i>NEUROLAENA SPP. (ASTERACEAE)</i>																	
N-1	ARG 358	SER 209	PHE 357	GLU 206	ARG 669	TYR 662	ARG 125	TYR 666	GLU 205	TRP 659	TYR 631	HIS 740	VAL 656	ASN 710	SER 630	VAL 711	TYR 547

Nota. En esta tabla se muestran las interacciones que presentan los ligandos con el sitio activo de la DPP-IV, donde el color verde representa el enlace de tipo PI-PI, el color morado representa los enlaces de puentes de hidrogeno y el color rosa representa los enlaces PI-Catión.

Como ya había sido resaltado por J.Nisha los residuos de aminoácidos más activos implicados en la acción enzimática de DDP-4 son Tyr226, Glu205, Glu206, Tyr547, Tyr667, Asn710, Val711, His740, Ser630, Ser209, Arg358, Phe357 y Val207, con sus inhibidores Beta sitosterol, Glabrina, Kanjona, Pongol, Esterolina, Pinnantina, Quercetina y Sitagliptina [55].

Por otra parte, Awad Saeed Alsamghan et al., proponen que los residuos que interactúan con la enzima son Glu205, Glu206, Try547, Ser630, Asn710, Arg125, Lys554, y Trp629 con sus inhibidores methyl 2-(2-((2S)-2-(2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanamido)propanamido)acetamido) propanoate hydrochloride, N-(2-(1H-imidazol-4-yl)ethyl)-3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-3-((1'S,6'R)-7-chloro-2'-hydroxy-4,6-dimethoxy-6'-methyl-3,4'-dioxo-3H-spiro[benzofuran-2,1'-cyclohex[2]en]-3'-yl) propanamide y 7-(4-hydroxy-6-methyl-2-oxo-2H-pyran-3-yl)-1-(4-methoxyphenethyl) pyrido[2,3-d]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione[63].

Desde otro punto de vista, Alexandra Quek et al., proponen que las interacciones del tipo puentes de hidrogeno se observaron en los residuos Arg358, Glu205, Glu206, Ser209, Arg125, Tyr662 mientras que se observaron interacciones hidrofóbicas con Ser630, Tyr666 y Phe357, por último,

reportaron que los residuos que presentaban interacciones de tipo PI- PI Tyr666 y Tyr662 con sus inhibidores sitagliptina y p-cumarato de metilo [64].

Teniendo en cuenta los reportes de la literatura anteriormente mencionados y las interacciones que presentan los fármacos en la Tabla 26, se puede concluir que las interacciones obtenidas de Maestro[®] para los 7 ligandos propuestos que se muestran en la Tabla 27, coinciden con los mismos residuos de aminoácidos que presentan los autores en sus estudios de acoplamiento molecular para la enzima DPP-IV y los presentes en los fármacos de administración oral actualmente usados para el tratamiento de diabetes, lo que confirma que pueden ser utilizados como inhibidores de dicha enzima.

3.4.2 Caracterización de los metabolitos como posibles fármacos con otras formas de administración

«Para administrar fármacos en el organismo existen diferentes vías, siendo la más importante y frecuente en la práctica diaria la vía oral, la cual es generalmente la vía de elección para la prescripción de medicamentos. Sin embargo, cuando concurren una serie de circunstancias especiales dependientes del fármaco a administrar (por ejemplo, biodisponibilidad, farmacocinética, etc.) se deberán utilizar vías alternativas tales como la vía intramuscular, la vía intravenosa, la rectal, la transdérmica o la vía subcutánea» [65].

“Estos métodos de dosificación tienen el problema de que no son selectivos y afectan a todos los órganos y tejidos a los que llegan, por lo que la efectividad es baja y los efectos secundarios y/o toxicidad pueden ser considerables” [66].

Teniendo esto en cuenta, los sistemas de encapsulamiento poliméricos son cada vez más utilizados en la medicina actual. Un claro ejemplo se propone en el estudio realizado por Arias et. al para el encapsulamiento del fármaco Anfotericina B por medio de copolímeros de PEG-b-PCL conjugado con fosfolípidos [67]. Debido a que los polímeros son muy versátiles, existe gran cantidad de polímeros naturales y sintéticos, “dicha versatilidad reside en la posibilidad de modificar química y topológicamente su estructura, incorporar aditivos, modificar sus propiedades ópticas y mecánicas, y hacerlos sensibles a estímulos (variación de temperatura, pH, polaridad, etc.)” [68].

“Mediante la funcionalización del polímero, se puede conseguir que las nanopartículas viajen hasta los tejidos enfermos y, una vez en ellos, liberen controladamente el fármaco contenido en ellas, minimizando los efectos en otros tejidos y maximizando la eficacia del fármaco” [66]. Esta tecnología puede favorecer la absorción de fármacos que quedarían fuera de los límites de la regla de cinco de Lipinski.

Por esta razón se evaluaron los ligandos que tuvieran mayor afinidad de unión y por tanto menor valor de K_i , así estos no cumplieran con las reglas de Lipinski. En este sentido, se escogieron los cuatro mejores para cada género, excluyéndose aquellos que ya fueron estudiados como fármacos de administración oral. Los 12 ligandos elegidos se muestran en las Tablas 28 a 30.

Tabla 28.

Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género Vismia spp. (Hypericaceae) con la proteína DPP-IV

Identificador	Ligando	Tipo de Compuesto	Afinidad de unión	Constante de inhibición K_i
V-4	ZINC85486983	Lígnanos	-10,0	4,67E-08
V-5	ZINC44352558	Benzofenonas	-9,1	2,13E-07
V-6	ZINC14883287	Antraquinonas	-9,0	2,53E-07
V-7	ZINC150602241	Benzofenonas	-9,0	2,53E-07

Nota. Esta tabla muestra la afinidad y la constante inhibitoria que tienen los metabolitos seleccionados del género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) con la enzima DPP-IV ordenados de mayor a menor obtenidos del estudio del cribado molecular.

Tabla 29.

Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la proteína DPP-IV

Identificador	Ligando	Tipo de Compuesto	Afinidad de unión	Constante de inhibición K_i
G-4	ZINC14768737	Xantonas	-11,0	8,63E-09
G-5	ZINC14768740	Xantonas	-10,5	2,01E-08
G-6	ZINC3984030	Biflavonoides	-10,3	2,81E-08
G-7	ZINC15252012	Xantonas	-10,0	4,67E-08

Nota. Esta tabla muestra la afinidad y la constante inhibitoria que tienen los metabolitos seleccionados del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) con la enzima DPP-IV ordenados de mayor a menor obtenidos del estudio del cribado molecular.

Tabla 30.

Afinidad de unión (kcal/mol) y constante inhibitoria de los metabolitos del género Neurolaena spp. (Asteraceae) con la proteína DPP-IV

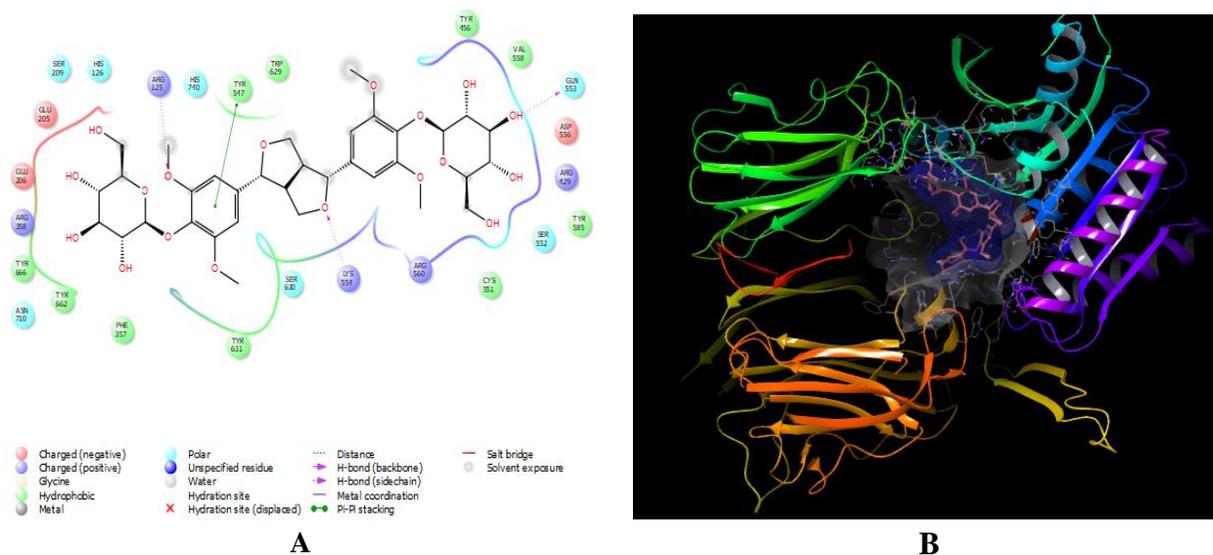
Identificador	Ligando	Tipo de compuesto	Afinidad de unión	Constante de inhibición Ki
N-2	ZINC14644793	Flavonoides	-9,4	1,29E-07
N-3	PubChem44259743	Flavonoides	-8,8	3,54E-07
N-4	ZINC33831754	Flavonoides	-8,8	3,54E-07
N-5	PubChem74208821	Flavonoides	-8,7	4,19E-07

Nota. Esta tabla muestra la afinidad y la constante inhibitoria que tienen los metabolitos seleccionados del género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) con la enzima DPP-IV ordenados de mayor a menor obtenidos del estudio del cribado molecular.

A los ligandos seleccionados presentados en las Tablas 28 a 30, se les realizó sus respectivas caracterizaciones de las interacciones presentes con la enzima DPP-IV (ver Figuras 18 a 29).

Figura 18.

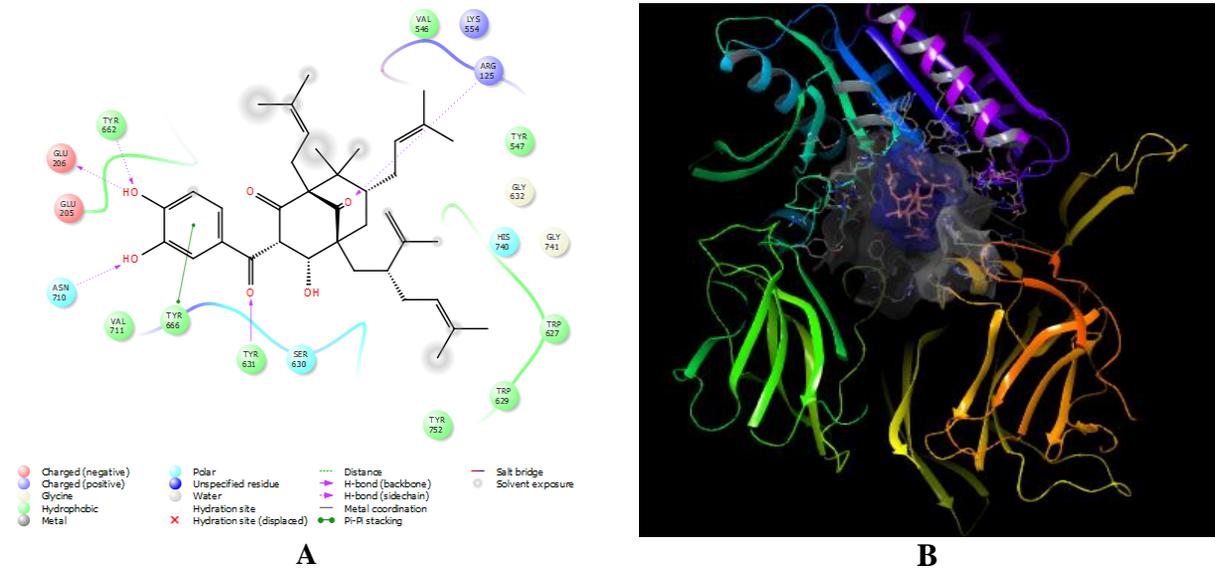
Interacciones que presenta el ligando V-4 del género Vismia spp.(Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-4 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 19.

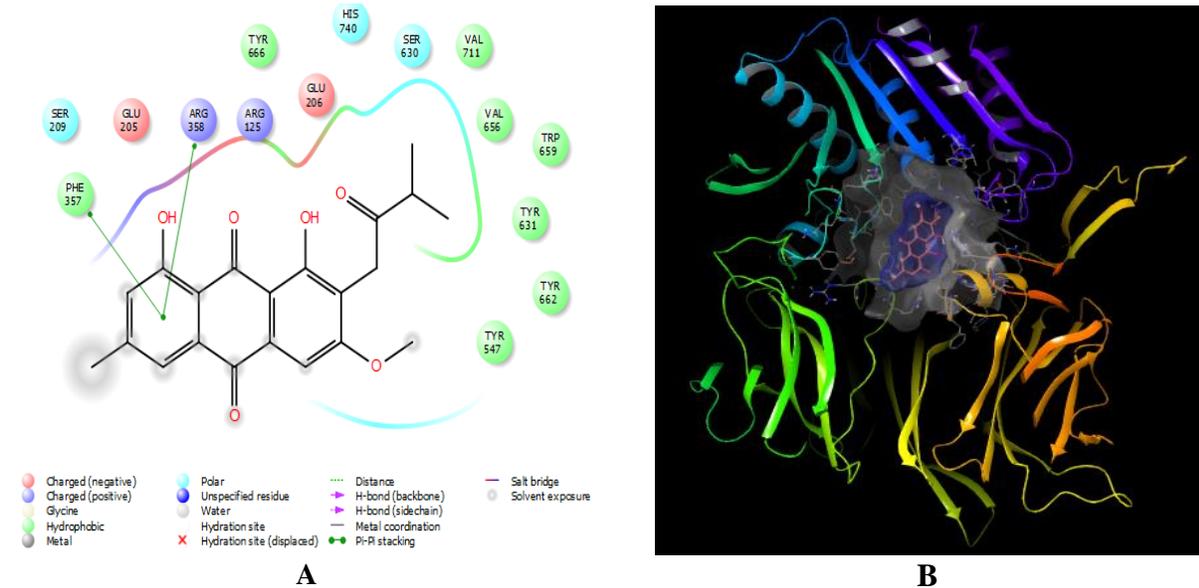
Interacciones que presenta el ligando V-5 del género Vismia spp.(Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-5 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 20.

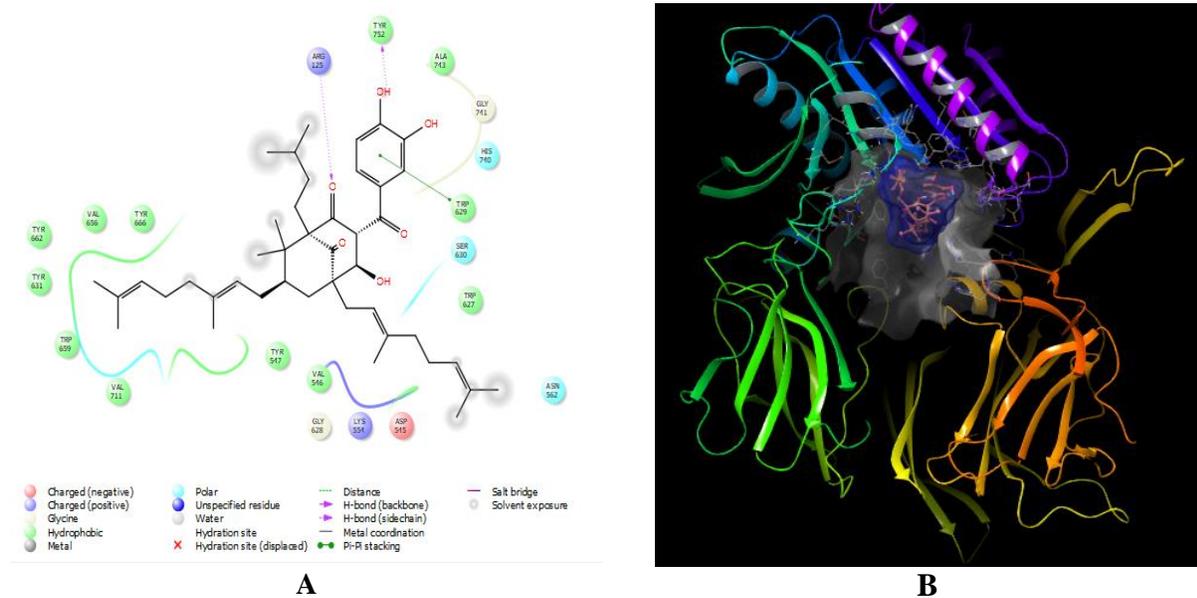
Interacciones que presenta el ligando V-6 del género Vismia spp.(Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-6 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 21.

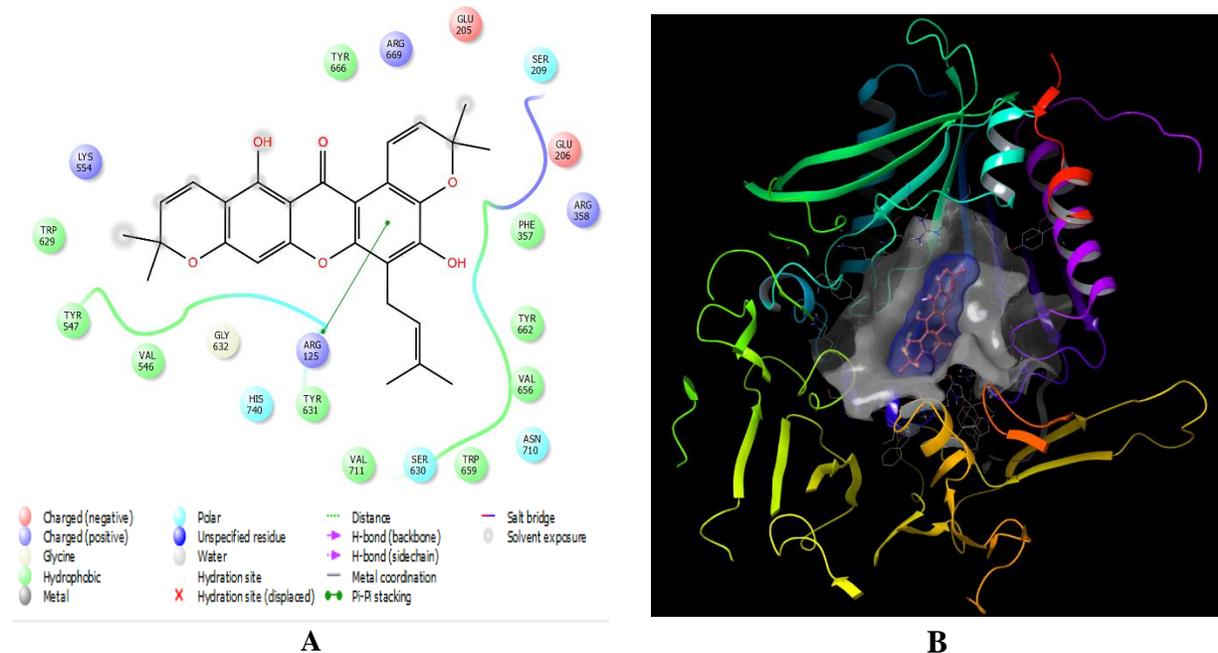
Interacciones que presenta el ligando V-7 del género Vismia spp.(Hypericaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando V-7 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 22.

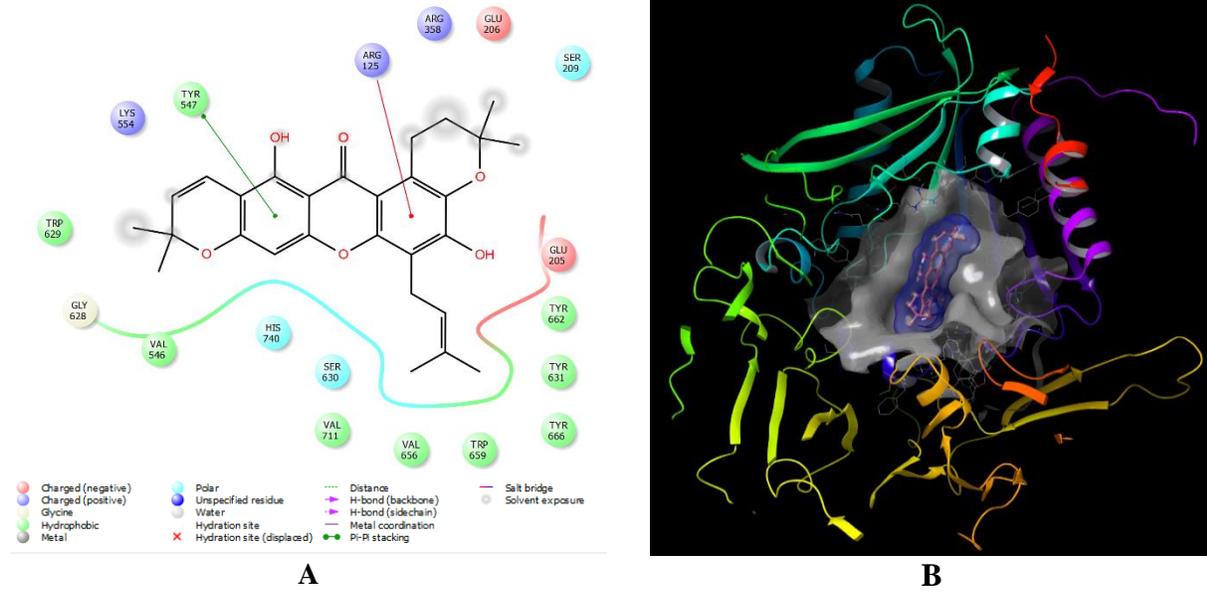
Interacciones que presenta el ligando G-4 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-4 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 23.

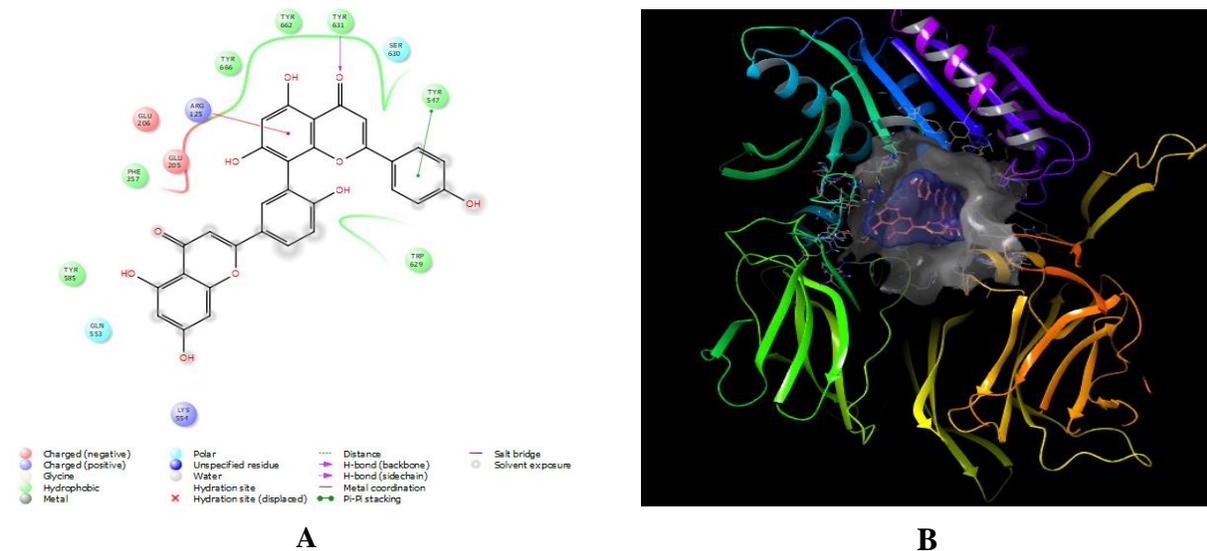
Interacciones que presenta el ligando G-5 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-5 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 24.

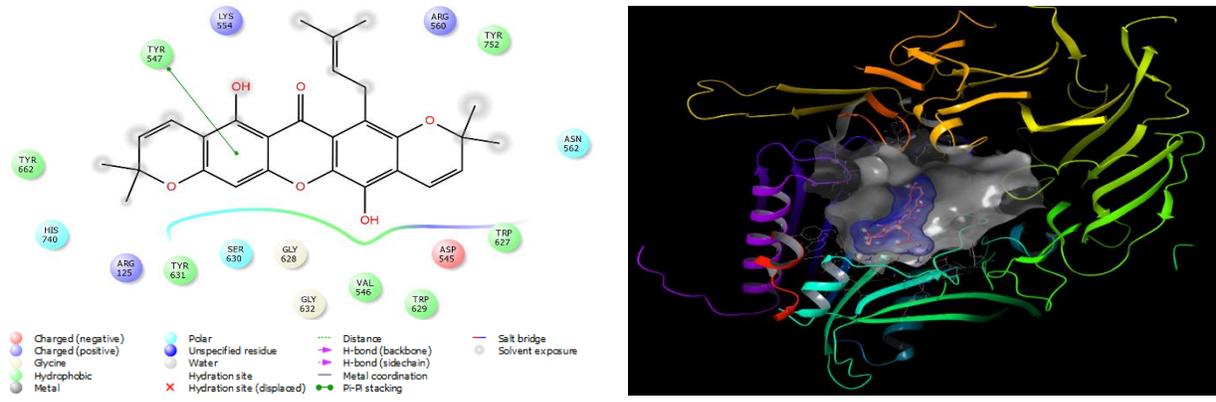
Interacciones que presenta el ligando G-6 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-6 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 25.

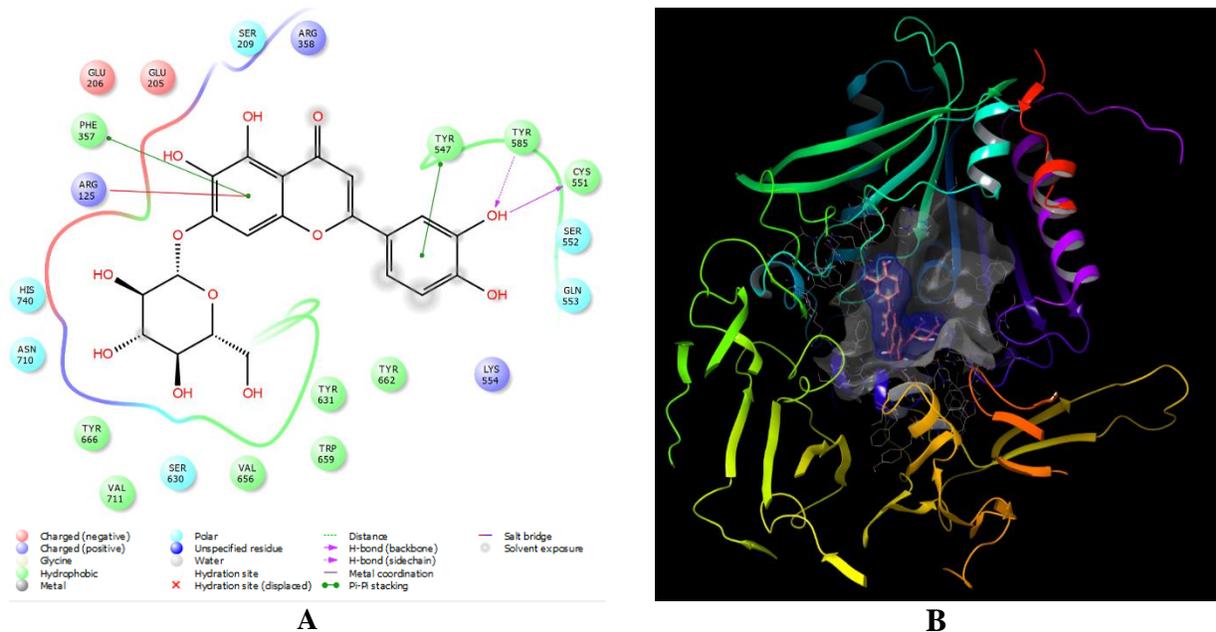
Interacciones que presenta el ligando G-7 del género Garcinia spp. (Clusiaceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando G-7 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 26.

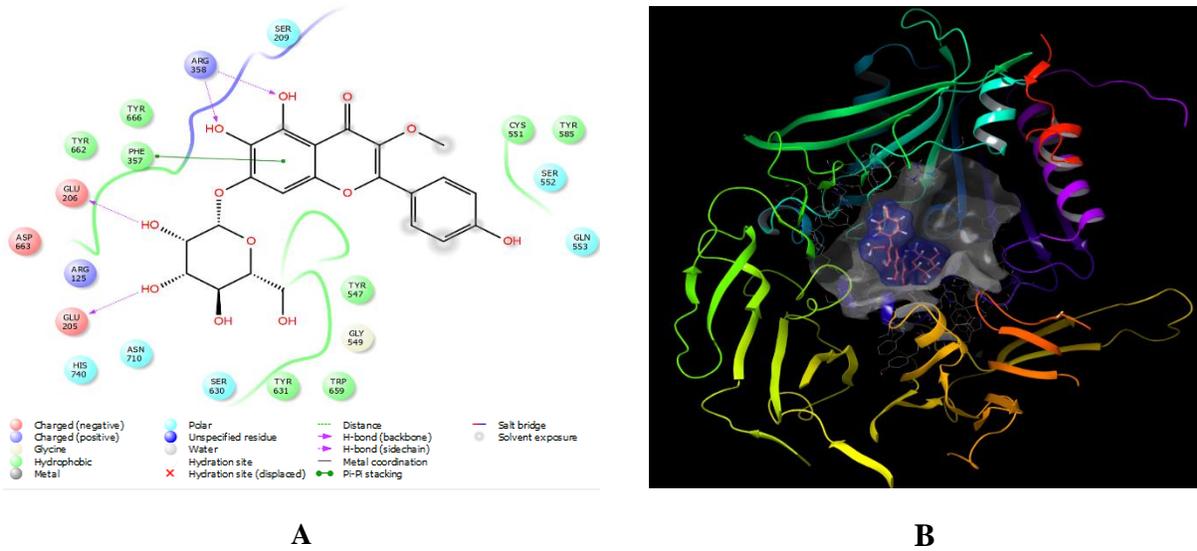
Interacciones que presenta el ligando N-2 del género Neurolaena spp.(Asteraceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando N-2 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 27.

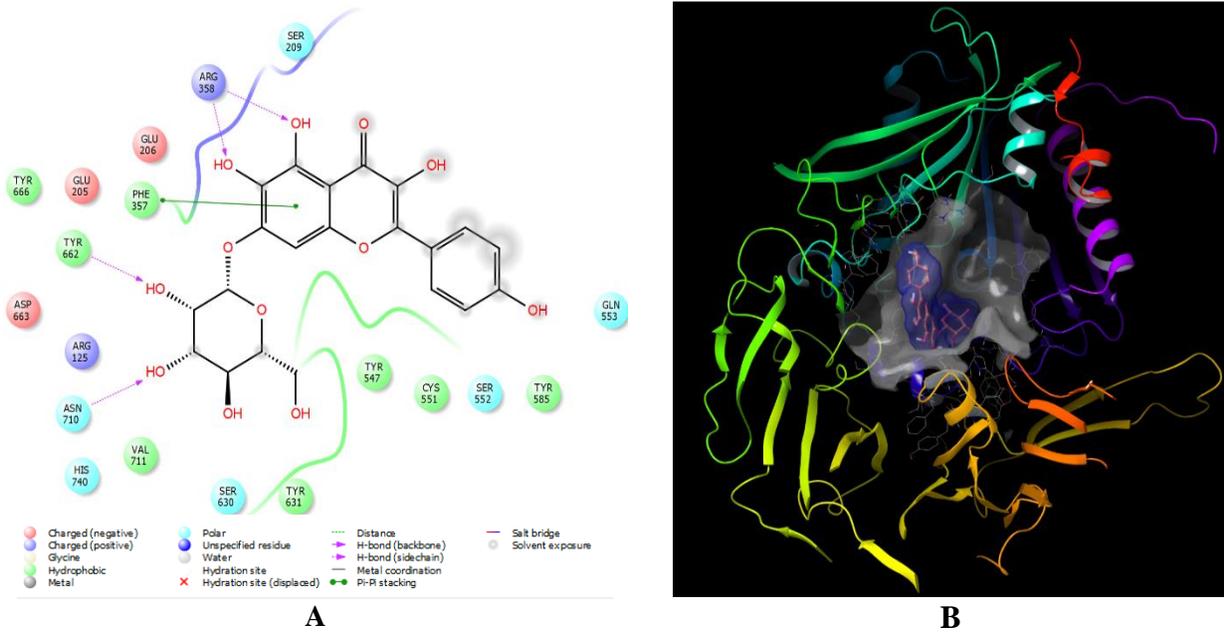
Interacciones que presenta el ligando N-3 del género Neurolaena spp.(Asteraceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando N-3 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 28.

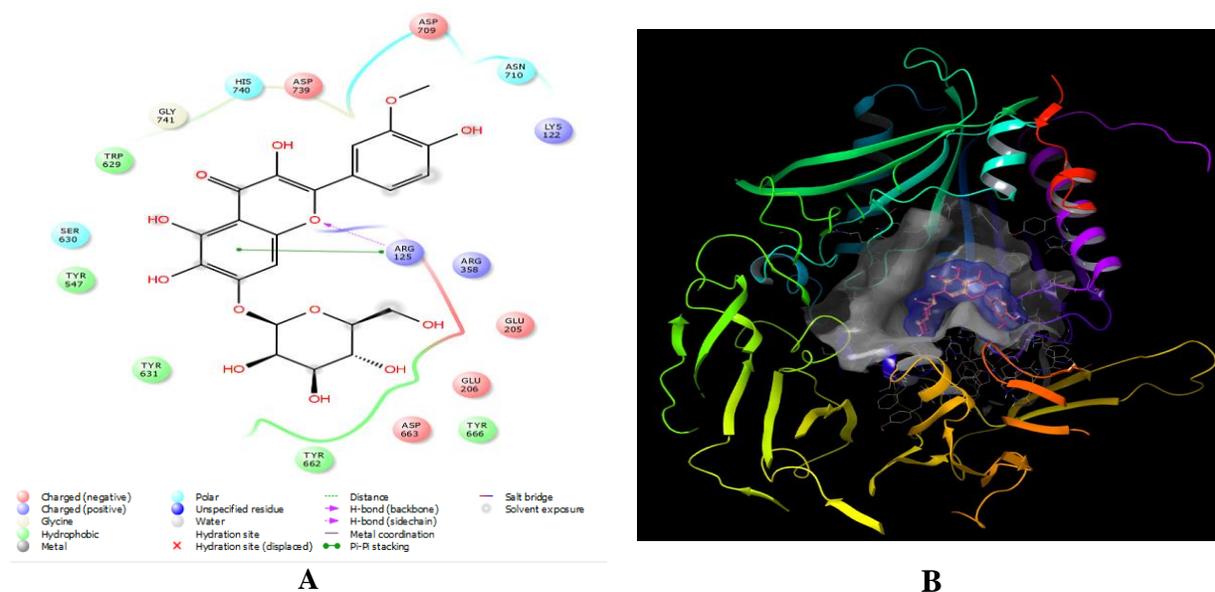
Interacciones que presenta el ligando N-4 del género Neurolaena spp.(Asteraceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando N-4 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Figura 29.

Interacciones que presenta el ligando N-5 del género Neurolaena spp.(Asteraceae) con la enzima DPP-IV



Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presenta el ligando N-5 con la enzima DPP-IV (A) y como se ve el acoplamiento molecular por medio del uso de superficies (B).

Teniendo en cuenta, las interacciones que presentan los ligandos propuestos como fármacos para administración oral (ver Tabla 27) y comparándolas con las interacciones de los ligandos propuestos para encapsulamiento polimérico que se muestran desde la Figura 18 hasta la Figura 29, se observa que estas últimas presentan más interacciones, ya que existe una complementariedad perfecta entre las formas del sitio de unión y del ligando. Esta complementariedad permite el contacto directo de varios átomos y por consiguiente el establecimiento de un número elevado de interacciones intermoleculares débiles, que da lugar a valores de K_i bajos, lo que implica que la unión a la enzima es más fuerte [69].

Las interacciones específicas que tiene cada uno de los ligandos propuestos de encapsulamiento polimérico con la enzima DPP-IV se muestran en la Tabla 31.

Tabla 31.

Interacciones de los ligandos con los residuos de aminoácidos del sitio activo de la DPP-IV

Ligando	Interacciones de los residuos del sitio catalítico																	
<i>VISMIA SPP. (HYPERICACEAE)</i>																		
V-4	TRP	TYR	HIS	ARG	HIS	SER	GLU	GLU	ARG	TYR	TYR	ASN	PHE	TYR	SER	LYS	ARG	
	629	547	740	125	126	209	205	206	358	666	662	710	357	631	630	54	560	
V-5	CYS	SER	TYR	ARG	ASP	GLN	VAL	TYR										
	551	552	585	429	556	553	558	456										
V-6	TYR	GLU	GLU	ASN	VAL	TYR	TYR	SER	TYR	TRP	TRP	HIS	GLY	GLY	TYR	ARG	LYS	
	662	206	205	710	711	666	631	630	752	629	627	740	741	632	547	125	54	
V-7	VAL																	
	546																	
G-4	VAL	SER	HIS	GLU	TYR	ARG	ARG	GLU	SER	PHE	TYR	TYR	TYR	TRP	VAL			
	711	630	740	206	666	125	358	205	209	357	547	662	631	659	656			
G-5	ARG	TYR	ALA	GLY	HIS	TRP	SER	TRP	ASN	ASP	LYS	GLY	VAL	TYR	VAL	TRP	TYR	
	125	752	743	741	740	629	610	627	562	545	554	628	546	547	711	659	631	
G-6	TYR	VAL	TYR															
	662	656	666															
G-7	LYS	TRP	TYR	VAL	GLY	HIS	ARG	TYR	VAL	SER	TRP	ASN	VAL	TYR	PHE	ARG	GLU	
	554	629	547	546	632	740	125	631	711	630	659	710	656	662	357	358	206	
G-5	SER	GLU	ARG	TYR														
	209	205	669	666														
G-6	SER	GLU	ARG	ARG	TYR	LYS	TRP	GLY	VAL	HIS	SER	VAL	VAL	TRP	TYR	TYR	TYR	
	209	206	358	125	547	54	629	628	546	740	630	711	656	659	666	631	662	
G-7	GLU																	
	205																	
G-6	TYR	SER	TYR	TYR	TYR	ARG	GLU	GLU	PHE	TYR	GLN	TRP						
	547	630	631	662	666	125	206	205	357	585	553	629						
G-7	ASN	TYR	ARG	LYS	TYR	TYR	HIS	ARG	TYR	SER	GLY	GLY	VAL	TRP	ASP	TRP		
	562	752	560	554	547	662	740	125	631	630	628	632	546	629	545	627		
<i>NEUROLAENA SPP. (ASTERACEAE)</i>																		
N-2	ARG	SER2	GLU	GLU	PHE	ARG	HIS	ASN	TYR	VAL	SER	VAL	TRP	TYR	TYR	LYS	GLN	
	368	09	205	206	357	125	740	710	666	711	630	656	659	631	662	554	553	
N-3	SER	CYS	TYR	TYR														
	552	551	585	547														
N-4	SER	ARG	TYR	PHE	TYR	GLU	ASP	ARG	GLU	HIS	ASN	SER	TYR	TRP	GLY	TYR	GLN	
	209	358	666	357	662	206	663	125	205	740	710	630	631	659	549	547	553	
N-5	SER	CYS	TYR															
	552	551	585															
N-4	SER	ARG	GLU	PHE	GLU	TYR	TYR	ASP	ARG	ASN	HIS	VAL	SER	TYR	PYR	CYS	SER	
	209	358	206	357	205	666	662	663	125	710	740	711	630	631	547	551	552	
N-5	TYR	GLN																
	585	553																
N-5	LYS	ASN	ASP	ASP	HIS	GLY	TRP	SER	TYR	TYR	TYR	ASP	TYR	GLU	GLU	ARG	ARG	
	122	710	709	739	740	741	629	630	547	631	662	663	666	206	205	358	125	

Nota. En esta imagen se muestran las interacciones que presentan los ligandos con el sitio activo de la DPP-IV, donde el color verde representa el enlace de tipo PI-PI, el color morado representa los enlaces de puentes de hidrógeno y el color rosa representa los enlaces PI-catión.

Como ya se mencionó anteriormente, estos 12 ligandos propuestos para el encapsulamiento polimérico presentan en mayor cantidad interacciones del tipo PI-PI, puentes de hidrógeno y PI-cación en el sitio de unión de la enzima DPP-IV que se muestra en las Tablas 28 a 30, en comparación con las presentadas por 7 ligandos propuestos para administración oral lo que implica que su afinidad y su poder inhibitorio sea mayor.

Adicionalmente, todos los ligandos propuestos tanto para administración oral como encapsulamiento polimérico coinciden con las interacciones del ligando natural 2KS con la enzima DPP-IV mostradas en la Figura 7 que son de tipo puentes de hidrogeno con los aminoácidos Glu206 y Glu205 y de tipo PI-PI con el aminoácido Tyr 666, lo cual indica que todos los ligandos seleccionados pueden inactivar la acción de la enzima por lo que existirá menor acumulación de glucosa en la sangre logrando controlar la diabetes mellitus tipo 2 y, por consiguiente, la obesidad.

Es importante destacar que en este estudio de acoplamiento molecular se encontró que el metabolito del género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) identificado con código ZINC13382495 que corresponde al compuesto 9-Hydroxycalabaxantona ya ha sido estudiado experimentalmente por la alianza PRONADIAB, lo cual valida los resultados presentados.

Ya que desde el 2014 se han buscado nuevas alternativas terapéuticas para el tratamiento y control de la diabetes realizando estudios etnobotánicos y etnofarmacológicos con el fin de caracterizar el potencial de las plantas medicinales nativas del pacifico colombiano.

Las simulaciones de modelado molecular se pueden utilizar como punto de partida de futuras investigaciones en el ámbito de la ingeniería química debido a las múltiples ventajas que ofrece la química computacional, entre ellas, permite calcular las propiedades termoquímicas, la geometría molecular y otros datos de moléculas que en algunos casos no se pueden cuantificar experimentalmente. Este tipo de información es muy relevante en lo referente a la toma de decisiones y búsqueda de alternativas en sistemas reactivos que involucran moléculas orgánicas complejas, el desarrollo de esta técnica cambia por completo la idea fundamental de que para obtener resultados en química es necesario experimentar, ya que permite ahorrar gastos y tiempo en experimentación descartada previamente gracias a los acoplamientos moleculares.

El programa de ingeniería química que ofrece la Universidad de América es uno de los que más énfasis Bio posee en el país. A diferencia de otras instituciones de educación superior, la universidad prepara a sus estudiantes de forma integral con las ciencias de la ingeniería con áreas como la gestión ambiental, los procesos industriales, la reingeniería, la evaluación financiera de proyectos, bioquímica, bioprocesos, microbiología industrial, investigación y la administración de procesos productivos, los cuales son importantes debido a que en la actualidad las investigaciones cada vez tienden más a ser del tipo interdisciplinarias, lo que supone un reto en cuanto a adquirir y dominar diferentes habilidades tanto desde el punto de vista experimental como computacional.

CONCLUSIONES

El estudio de acoplamiento molecular fue capaz de reproducir la orientación del ligando natural que presentó una afinidad de unión de $-8,4$ kcal/mol, lo cual estableció un parámetro de selección entre los 75 metabolitos inicialmente propuestos pertenecientes a plantas nativas del Chocó de los géneros *Vismia* spp. (*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*).

Los cálculos de parámetros farmacocinéticos establecieron que los metabolitos que se pueden considerar como fármacos de administración oral, ya que cumplen a cabalidad con las reglas de Lipinski, y adicionalmente poseen valores de la constante de inhibición en el rango de $7,75E-08$ a $1,29E-07$, son para el género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) Sesamina, 6-deoxijacareubina y Kaempferol identificados con los códigos ZINC18037965, ZINC5762059 y ZINC3869768, respectivamente. Para el género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) los metabolitos son 9-hidroxiclabaxantona, Demetilcalabaxantona y BR-Xantona A, identificados con los códigos ZINC13382495, ZINC13382494 y ZINC14766825, respectivamente. Por último, para el caso de *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) el metabolito corresponde a Neurolenina C identificado con el código ZINC100090147.

Se evaluaron aquellos metabolitos que no cumplieron con las reglas de Lipinski pero que presentan una mayor afinidad de unión a la enzima en un rango de $-11,0$ kcal/mol a $-8,7$ kcal/mol, dando como resultado 12 metabolitos que se proponen como posibles fármacos de administración por medio de encapsulamiento polimérico. Los mejores ligandos para el género *Vismia* spp. (*Hypericaceae*) son Deacetilsiringaresinol, Guttiferona F, Vismiaquinona B y Guttiferonas B, identificados con los códigos ZINC85486983, ZINC44352558, ZINC14883287 y ZINC150602241, respectivamente. Para el género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) se obtuvieron los ligandos Tovophyllin B, Mangostenona B, Amentoflavona y Garcimangosona A, identificados con los códigos ZINC14768737, ZINC14768740, ZINC3984030 y ZINC15252012 respectivamente. Por último, para el género *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*) se obtuvieron los ligandos 6-hidroxiluteolina 7-glucósido, 6-hidroxi kaempferol 3-metil éter 7-glucósido, 6-Hidroxi kaempferol 7-glucósido y Quercetagina 3-metil éter 7-glucósido, identificados con los códigos ZINC14644793, PubChem44259743, ZINC33831754 y PubChem74208821, respectivamente.

Se determinó que, de acuerdo al tipo de estructura, los ligandos obtenidos como fármacos de administración oral son del tipo Lignanós, Benzopiranos, Lactonas sesquiterpénicas, Flavonoides y en su mayoría Xantonas. Estos se caracterizan por ser compuestos polifenólicos, es decir que poseen en su estructura al menos un anillo aromático al que está unido uno o más grupos hidroxilo.

Se identificó que en el estudio experimental realizado por la alianza PRONADIAB se encuentra uno de los metabolitos obtenidos como resultado del acoplamiento molecular como potencial fármaco de administración oral, el cual pertenece al género *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) identificado con el código ZINC13382495 que corresponde al compuesto 9-hidroxiclabaxantona.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] O. L. Pereira Despaigne, “Diabesidad: una epidemia del siglo XXI,” *Medisan*, vol. 16, no. 2, pp. 295–298, 2012.
- [2] H. Gonzales, S. M. Sandoval Rodriguez, Ana soledad Roman Maldonado, and A. Panduro Cerda, “Obesidad y diabetes mellitus tipo 2,” *Investig. en Salud*, vol. III, no. 1, pp. 54–60, 2001.
- [3] A. Gutiérrez López, L. E. Laorou Pérez, J. M. Álvarez Díaz, B. B. MsC. Dra, Rodriguez Castro, and D. G. Á. A. Ariel, “Diabesidad y su riesgo cardiovascular global,” *Organo Científico Estud. Ciencias médicas Cuba*, vol. 53, no. 255, pp. 5–16, 2014.
- [4] OCDE:Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos, “Combatir la obesidad impulsaría la economía y el bienestar,” *En línea*, 2019. <https://www.oecd.org/centrodemexico/medios/combatirlaobesidadimpulsarialaeconomiyelbienestar.htm>.
- [5] A. F. Moreno, “Números alarmantes sobre la obesidad en Colombia,” *Universidad del Rosario: Nova et vera*, 2018. <https://www.urosario.edu.co/Periodico-NovaEtVetera/Salud/Numeros-alarmantes-sobre-la-obesidad-en-Colombia/>.
- [6] Cuenta de Alto Costo, “Dia mundial de la Diabetes. boletín de información técnica especializada,” *Bol. Inf. Tec. Espec.*, vol. 4, no. 17, pp. 2–6, 2018, [En línea]. Disponible: www.cuentadealtocosto.orgNOV.14DE2018.
- [7] Grupos de Investigación:GIFUJ Y QUIPRONAB, “Aprovechamiento sostenible de la biodiversidad chocoana para el desarrollo de fitoterapéuticos aplicables en el tratamiento de patologías asociadas al síndrome metabólico: obesidad y diabetes tipo II,” 2019.
- [8] M. Vizcaya, A. Morales, J. Rojas, and R. Nuñez, “Revisión bibliográfica sobre la composición química y actividades farmacológicas del género *Vismia* (Guttiferae),” *Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat.*, vol. 11, no. 1, pp. 12–34, 2012.
- [9] M. E. Paredes *et al.*, “Morphoanatomical and phytochemical studies for the quality control of *Neurolaena lobata* (L.) R.Br. ex Cass. (Asteraceae),” *Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat.*, vol. 18, no. 3, pp. 277–288, 2019.
- [10] L. O. Murillo, “Identificación de inhibidores polifuncionales contra blancos moleculares usados en el tratamiento de obesidad y diabetes,” *Repositorio.Unal.Edu.Co*, 2020, [En línea]. Disponible: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/79579>.
- [11] Organización Mundial de la Salud, “Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional,” 2013.
- [12] J. L. Cabrera-Carrión, C. Jaramillo-Jaramillo, F. Dután-Torres, J. Cun-Carrión, P. A. García, and L. R. De Astudillo, “Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. En función de su edad y altura,” *Bioagro*, vol. 29, no. 1, pp. 53–60, 2017.
- [13] A. Buitrago, J. D. C. Rojas, and Y. Peñalosa, “In vitro antioxidant activity and qualitative phytochemical analysis of two *Vismia* (Hypericaceae) species collected in Los Andes, Venezuela,” *Rev. Biol. Trop.*, vol. 64, no. 4, pp. 1431–1439, 2016, doi: 10.15517/rbt.v64i4.22968.
- [14] D. ÁLVAREZ, Edwin; JÍMENEZ , Orfa ; POSADA, Cristian; ROJANO, Benjamín; GIL, Jesús; GARCÍA , Carlos; DURANGO, “De Los Extractos Provenientes De Las Bayas De Dos Especies Del Género *Vismia* (Guttiferae),” *Vitae*, vol. 15, pp. 165–172, 2008.

- [15] D. M. Medellín Zabala, “Sistemática del género *Garcinia* (Clusiaceae): revisión taxonómica para Colombia y filogenia de las especies Neotropicales,” Universidad Nacional de Colombia, 2016.
- [16] Missouri Botanical Garden, “*Garcinia Mangostana*,” 2015. <https://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?taxonid=279214>.
- [17] J. S. Gracioso, C. A. Hiruma-Lima, and A. R. M. Souza Brito, “Antiulcerogenic effect of a hydroalcoholic extract and its organic fractions of *Neurolaena lobata* (L.) R.Br.,” *Phytomedicine*, vol. 7, no. 4, pp. 283–289, 2000, doi: 10.1016/S0944-7113(00)80045-8.
- [18] R. McKinnon *et al.*, “Pharmacological insight into the anti-inflammatory activity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* (L.) R.Br. ex Cass,” *Phytomedicine*, vol. 21, no. 12, pp. 1695–1701, 2014, doi: 10.1016/j.phymed.2014.07.019.
- [19] A. I. R. Ricote, “Fisiopatología De La Obesidad,” Universidad Complutense de Madrid, 2016.
- [20] G. Manuel Moreno, “Definición y clasificación de la obesidad,” *Rev. Médica Clínica Las Condes*, vol. 23, no. 2, pp. 124–128, 2012, doi: 10.1016/s0716-8640(12)70288-2.
- [21] H. R. Wyatt, “Update on treatment strategies for obesity,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 98, no. 4, pp. 1299–1306, 2013, doi: 10.1210/jc.2012-3115.
- [22] Portafolio, “Obesidad y sobrepeso, una realidad que enfrentar,” *Portafolio.co*, Bogotá DC, Aug. 31, 2020.
- [23] D. Petrova, E. Salamanca-Fernández, M. Rodríguez Barranco, P. Navarro Pérez, J. J. Jiménez Moleón, and M. J. Sánchez, “Obesity as a risk factor in COVID-19: Possible mechanisms and implications,” *Aten. Primaria*, vol. 52, no. 7, pp. 496–500, 2020, doi: 10.1016/j.aprim.2020.05.003.
- [24] D. Ferreira Hermosillo, Aldo Salame Khouri, Latife Cuenca Abruch, “Tratamiento de la obesidad,” *Prensa Med. Argent.*, vol. 43, no. 15, pp. 1240–1245, 1956.
- [25] International Diabetes Federation, “Diabetes tipo 2,” *En línea*, Oct. 16, 2020. <https://www.idf.org/aboutdiabetes/type-2-diabetes.html> (acceso Sep. 15, 2021).
- [26] F. A. Reyes Sanamé, M. L. Perez Alvarez, E. Alfonso Figueredo, M. Ramirez Estupiñan, and Y. Jimenez Rizo, “Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2,” *Correo Científico Médico de Holguín*, vol. 20, no. 1, pp. 289–292, 2016, doi: 10.1007/978-3-319-12715-6_40.
- [27] International Diabetes Federation, *ATLAS DE LA DIABETES DE LA IDF*, 9th ed. 2019.
- [28] Ministerio de salud, “Tres de cada 100 colombianos tienen diabetes,” *En línea*, Jul. 19, 2020. <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Tres-de-cada-100-colombianos-tienen-diabetes.aspx> (acceso Sep. 15, 2021).
- [29] Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo, “Situación de la Enfermedad Renal Crónica en Colombia, la hipertensión arterial y la Diabetes Mellitus,” *Cuenta Alto Costo*, 2019, [En línea]. Disponible: <https://cuentadealtocosto.org/site/publicaciones/situacion-erc-hip-art-dmell-col/>.
- [30] H. A. Ortegata, Maria Andrea Sangiovanni, Saveria Díaz, Magda Carolina Aguilar, Jaime García, José Isidro Santofimio, “Epidemiología de diabetes mellitus tipo 2 en la población colombiana y factores de riesgo que predisponen a la amputación de miembros inferiores. Revisión de la literatura,” *Salut. Sci. Spiritus*, vol. 4, no. 1, pp. 49–56, 2018.
- [31] E. Alfonso Figueredo, F. A. Reyes Sanamé, M. L. Pérez Álvarez, Y. Batista Acosta, and Y. Peña Garcell, “Inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 y una nueva estrategia farmacológica en la

- diabetes mellitus tipo 2,” *Rev. Cubana Med.*, vol. 55, no. 3, pp. 239–256, 2016.
- [32] Y. Arrebola Sánchez, L. Díaz Guevara, G. García Rodríguez, and I. Pascual Alonso, “Dipeptidil peptidasa IV: inhibidores y sus potenciales aplicaciones biomédicas / Dipeptidil peptidase IV: inhibitors and potentials biomedical applications,” *Rev. Cuba. Ciencias Biológicas*, vol. 3, no. 2, pp. 14–26, 2014.
- [33] G. Di Girolamo, A. L. T. Peña, and H. E. T. Pérez, “Inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4: Farmacodinamia, farmacocinética y seguridad,” *Med. Interna Mex.*, vol. 24, no. 2, pp. 142–147, 2008.
- [34] G. . Morris and M. Lim-Wilby, “Molecular Docking. Molecular modeling of proteins,” *Methods Mol. Biol.*, vol. 443, pp. 365–382, 2008, doi: 10.1007/3-540-29623-9_3820.
- [35] W. Ballón and R. Grados, “Acomplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos,” *Rev. Con-Ciencia*, vol. 7, no. 2, pp. 55–72, 2019.
- [36] C. Valencia Rodríguez, “Estudio computacional del acoplamiento molecular de XIAP-BIR3 con ligandos de núcleo estructural alquilfenol,” Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales, 2018.
- [37] S. O. Adejoro, Isaiah Ajibade Waheed, “Molecular Docking Studies of Lonchocarpus cyanescens Triterpenoids as Inhibitors for Malaria,” *J. Phys. Chem. Biophys.*, vol. 6, no. 2, pp. 2–5, 2016, doi: 10.4172/2161-0398.1000213.
- [38] F. D. Monache, M. M. Mac-Quhae, G. D. Monache, G. B. M. Bettolo, and R. A. De Lima, “Xanthonas, xanthonolignonas and other constituents of the roots of *vismia guaramirangae*,” *Phytochemistry*, vol. 22, no. 1, pp. 227–232, 1983, doi: 10.1016/S0031-9422(00)80095-3.
- [39] G. Hernandez, “Metabolitos secundarios del árbol tropical *Vismia mexicana* (Clusiaceae) y su actividad sobre la Transcriptasa Reversa (VIH-1).”, Universidad Nacional Autónoma de México, 2013.
- [40] G. A. Mohamed and S. R. M. Ibrahim, “New benzophenones and a dihydroflavanonol from *Garcinia mangostana* pericarps and their antioxidant and cytotoxic activities,” *Phytochem. Lett.*, vol. 39, no. April, pp. 43–48, 2020, doi: 10.1016/j.phytol.2020.07.007.
- [41] PCIDB, “PhytoChemical Interactions DataBase.” <https://www.genome.jp/db/pcidb>.
- [42] H. A. Jung, B. N. Su, W. J. Keller, R. G. Mehta, and A. D. Kinghorn, “Antioxidant xanthonas from the pericarp of *Garcinia mangostana* (Mangosteen),” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 6, pp. 2077–2082, 2006, doi: 10.1021/jf052649z.
- [43] J. Prieto and E. Al, “Identification of leading molecules of natural origin with polypharmacological action applicable in the treatment of obesity and type II diabetes,” 2021.
- [44] K. L. Arnedo Cervantez, “Identificación de Xanthonas presentes en la fruta de *Garcinia Mangostana* L como potenciales inhibidores de la enzima ADN METIL TRANSFERASA I,” Universidad de Cartagena, 2019.
- [45] E. Osorio D, G. Montoya P, and J. Bastida, “Caracterización fitoquímica de una fracción de biflavonoides de *Garcinia madruno*: Su inhibición de la oxidación de LDL humana y su mecanismo de estabilización de especies radicalarias,” *Vitae, Revista la Fac. química Farm.*, vol. 16, no. 3, pp. 369–377, 2009.

- [46] M. J. De la Cruz Flores, “Metabolitos secundarios, actividad citotóxica y antiinflamatoria de seis especies vegetales provenientes de la amazonía peruana,” UNAP, 2019.
- [47] S. Ali, R. Goundar, S. Sotheeswaran, C. Beaulieu, and C. Spino, “Benzophenones of *Garcinia pseudoguttifera* (Clusiaceae),” *Phytochemistry*, vol. 53, no. 2, pp. 281–284, 2000, doi: 10.1016/S0031-9422(99)00511-7.
- [48] G. François, C. M. Passreiter, H. J. Woerdenbag, and M. Van Looveren, “Antiplasmodial Activities and Cytotoxic effects of Aqueous Extracts and Sesquiterpene Lactones from *Neurolaena lobata*,” vol. 62, no. 1996, pp. 1994–1997, 2000.
- [49] K. M. Kerr, T. J. Mabry, and S. Yoser, “6-Hydroxy- and 6-methoxyflavonoids from *Neurolaena lobata* and *N. macrocephala*,” *Phytochemistry*, vol. 20, no. 4, pp. 791–794, 1981, doi: 10.1016/0031-9422(81)85176-X.
- [50] M. P. Gupta, A. I. Santana, and A. Espinosa, “Plantas medicinales de Panamá,” in *Rev Farmacol*, vol. 45, 1905, pp. 115–145.
- [51] C. M. Passreiter and M. B. Isman, “Antifeedant bioactivity of sesquiterpene lactones from *Neurolaena lobata* and their antagonism by γ -aminobutyric acid,” *Biochem. Syst. Ecol.*, vol. 25, no. 5, pp. 371–377, 1997, doi: 10.1016/S0305-1978(97)00023-9.
- [52] I. Lajter *et al.*, “Sesquiterpenes from *Neurolaena lobata* and their antiproliferative and anti-inflammatory activities,” *J. Nat. Prod.*, vol. 77, no. 3, pp. 576–582, 2014, doi: 10.1021/np400834c.
- [53] C. M. Passreiter, “Quantification of sesquiterpene lactones in leaves of *Neurolaena lobata*,” *Phytochem. Anal.*, vol. 9, no. 2, pp. 67–70, 1998, doi: 10.1002/(SICI)1099-1565(199803/04)9:2<67::AID-PCA389>3.0.CO;2-V.
- [54] K. Namoto *et al.*, “Discovery of C-(1-aryl-cyclohexyl)-methylamines as selective, orally available inhibitors of dipeptidyl peptidase IV,” *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, vol. 24, no. 3, pp. 731–736, 2014, doi: 10.1016/j.bmcl.2013.12.118.
- [55] J. Nisha, “Molecular Docking Analysis of Potential DPP-4 inhibitors from Siddha formulation for treating Diabetes Mellitus,” *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, vol. 4, no. 10, pp. 78–85, 2017, doi: 10.22192/ijarbs.
- [56] Malvern Panalytical, “Afinidad de unión,” 2018. [En línea]. Disponible: <https://www.malvernpanalytical.com/es/products/measurement-type/binding-affinity>.
- [57] R. Baldiris Ávila, D. Caicedo, M. Velásquez, V. Valdiris, and R. Vivas-Reyes, “Docking molecular de inhibidores de actividad quinasa: inhibición de la piridoxal quinasa,” *Cienc. y Salud Virtual*, vol. 6, no. 2, p. 99, 2014, doi: 10.22519/21455333.423.
- [58] Swiss Institute of bioinformatics, “SwissAdme,” 2021. <http://www.swissadme.ch/> (acceso Oct. 25, 2021).
- [59] J. B. Baell and J. W. M. Nissink, “Seven Year Itch: Pan-Assay Interference Compounds (PAINS) in 2017 - Utility and Limitations,” *ACS Chem. Biol.*, vol. 13, no. 1, pp. 36–44, 2018, doi: 10.1021/acscmbio.7b00903.
- [60] F. L. Cortez Gomez, “Identificación de moléculas naturales con potencial actividad antibacteriana, a través del análisis in silico de propiedades fisicoquímicas de dos librerías de compañías farmacéuticas,” Universidad de Santander, 2018.

- [61] G. R. Bickerton, G. V. Paolini, J. Besnard, S. Muresan, and A. L. Hopkins, “Quantifying the chemical beauty of drugs,” *Nat. Chem.*, vol. 4, no. 2, pp. 90–98, 2012, doi: 10.1038/nchem.1243.
- [62] D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, and K. D. Kopple, “Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates,” *J. Med. Chem.*, vol. 45, no. 12, pp. 2615–2623, 2002, doi: 10.1021/jm020017n.
- [63] M. Tarique, “From sequence analysis of DPP-4 to molecular docking based searching of its inhibitors,” *Bioinformation*, vol. 16, no. 6, pp. 444–451, 2020, doi: 10.6026/97320630016444.
- [64] A. Quek *et al.*, “ α -Amylase and dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitory effects of Melicope latifolia bark extracts and identification of bioactive constituents using in vitro and in silico approaches,” *Pharm. Biol.*, vol. 59, no. 1, pp. 964–973, 2021, doi: 10.1080/13880209.2021.1948065.
- [65] H. Soriano Fernandez, L. Rodenas García, D. Moreno Escribano, B. Roldán Castillo, E. Castaño Moreno, and E. Palazón García, “Utilización de la vía subcutánea en Atención Primaria,” *Revisión de Guías Clínicas*, vol. 2, no. 8, pp. 400–426, 2009, doi: 10.1016/s0212-6567(01)70488-x.
- [66] M. Marín Fernández, “Encapsulación de fármacos en poli (N-vinilcaprolactama) mediante tecnología de fluidos supercríticos,” Universidad Politécnica de Madrid, 2019.
- [67] E. R. Arias, V. Angarita-Villamizar, Y. Baena, C. Parra-Giraldo, and L. D. Perez, “Phospholipid-conjugated peg-b-pcl copolymers as precursors of micellar vehicles for amphotericin b,” *Polymers (Basel)*, vol. 13, no. 11, 2021, doi: 10.3390/polym13111747.
- [68] J. C. J. Bart, *Additives in Polymers*. 2005.
- [69] J. Corzo, “Unión de ligandos,” *Universidad de la Laguna*, 2008. <https://bioquibi.webs.ull.es/bioquimicaestructural/Archivoszip/Uniondeligandos.pdf%0Ahttps://es.khanacademy.org/science/biology/cell-signaling/mechanisms-of-cell-signaling/a/signal-perception> (acceso Nov. 03, 2021).

ANEXOS

ANEXO 1.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar posteriores cálculos de dinámica molecular para evaluar la estabilidad del acoplamiento en el tiempo. Asimismo, ampliar la base de ligandos presentes en los géneros *Vismia* spp.(*Hypericaceae*), *Garcinia* spp. (*Clusiaceae*) y *Neurolaena* spp. (*Asteraceae*).

Además, se recomienda validar los resultados obtenidos en este estudio de acoplamiento molecular de forma experimental con los metabolitos promisorios como fármacos para administración oral y encapsulamiento polimérico.

Estudiar la viabilidad de los resultados obtenidos para ser publicados en una revista indexada, así como su presentación en congresos científicos.