



Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud
PRESENTE

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

Datos del Alumno

Nombre : Andrea Garrido Mendoza	
Matrícula : 2163067296	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica
Domicilio : Avenida San Fernando 86, Peña Pobre, Tlalpan.	
Teléfono : 5521254793	Celular : 5536531010
Correo Electrónico : garrido.m.andrea@gmail.com	CURP : GAMA941022MDFRNN04

Datos del Proyecto

Nombre del Proyecto : Estudios bioinformáticos de acoplamiento y dinámica moleculares de compuestos derivados del ácido glicirretínico con heterociclos fusionados como inhibidores de la enzima PTP1B.							
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Vía remota, adscrito al laboratorio N-015 de UAM Xochimilco.							
Dependencia : Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco							
Entidad Federativa : Distrito Federal							
Municipio : Coyoacán	Localidad : Calzada del Hueso 1100, Villa de la Quietud, Coapa.						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	4	1	2021		4	7	2021

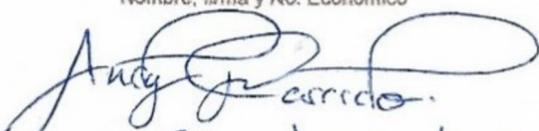
PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES

Sector: 1.- Educativo	Tipo: 2.- Interno
Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición	

FIRMAS


Dr. Juan Francisco Cortés Benítez (42603)
Asesor Interno
Nombre, firma y No. Económico


Dr. Jaime Pérez Villanueva (35386)
Asesor Externo
Nombre, firma y No. Económico


Andrea Garrido Mendoza
Alumno
Nombre, firma


Dra. Tomasa Verónica Barón Flores
Vo. Bo. de la Comisión
Nombre y firma de la persona que autoriza

CDMX, a 19 de julio de 2021

Mtra. María Elena Contreras Garfias
Directora de la División de Ciencias
Biológicas y de la Salud

PRESENTE

Se extiende la presente para informar que la C. Andrea Garrido Mendoza, con número de matrícula 2163067296, alumna de la Carrera de Químico Farmacéutico Biológica; realizó su Servicio Social bajo la dirección de los profesores, Dr. Juan Francisco Cortés Benítez y Dr. Jaime Pérez Villanueva, del 4 de enero de 2021 al 4 de julio de 2021, cumpliendo con 480 horas.

Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes.

ATENTAMENTE



Dr. Juan Francisco Cortés Benítez
Número económico 42603



Dr. Jaime Pérez Villanueva
Número económico 35386



Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe final de servicio social

Estudios bioinformáticos de acoplamiento y dinámica moleculares de compuestos derivados del ácido glicirretínico con heterociclos fusionados como inhibidores de la enzima PTP1B.

PROYECTO GENÉRICO CORRESPONDIENTE

Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

ETAPA DEL PROYECTO GENÉRICO

Obtención de compuestos orgánicos utilizados en la preparación de insumos para la salud.

Presenta:

Andrea Garrido Mendoza

Matricula: 2163067296

Asesores

Dr. Juan Francisco Cortés Benítez

Dr. Jaime Pérez Villanueva

Laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas

Fecha de inicio: 4 de enero de 2021

Fecha de terminación: 4 de junio de 2021

Firma de asesores responsables:



Dr. Juan Francisco Cortés Benítez Profesor Asociado D de TC Departamento de
Sistemas Biológicos

División de Ciencias Biológicas y de la Salud E. mail: jcortesb@correo.xoc.uam.mx



Dr. Jaime Pérez Villanueva Profesor Titular C de TC Departamento de Sistemas
Biológicos División de

Ciencias Biológicas y de la Salud E. mail: jpvillanueva@correo.xoc.uam.mx

RESUMEN

En la presente investigación se analiza y evalúa *in silico* la actividad inhibitoria de cuatro derivados del ácido glicirretínico contra la enzima Proteína Tirosina Fosfatasa 1B (PTP1B), enzima implicada en el desarrollo de diabetes y obesidad. En primera instancia se realizó una revisión bibliográfica sobre la diabetes y obesidad, su distribución, impacto en el estado de salud y avance de la enfermedad, asimismo la influencia de la enzima PTP1B en la progresión de los síntomas asociados a estos padecimientos. En la bibliografía se reportan inhibidores triterpénicos que han demostrado actividad para esta enzima, dentro de las modificaciones estructurales que les son realizadas, se encuentra la incorporación de anillos de tiazol. Después de esta revisión bibliográfica, se propusieron cuatro derivados del ácido glicirretínico que cuentan con un anillo de tiazol fusionando que a su vez, este anillo contiene diferentes bencilaminas sustituidas, de estos derivados se realizó el modelado molecular; los recursos bioinformáticos, que se utilizaron en para el modelado molecular fueron: Acoplamiento molecular (docking), en donde se cuantificó la energía de afinidad de cada compuesto, así como su modo de unión en la PTP1B; también, se realizaron estudios de dinámica molecular en donde se probó la estabilidad de la unión de los compuestos propuestos con la PTP1B en un tiempo determinado, con condiciones que se acercan a las encontradas en un medio fisiológico (presión, pH y temperatura), lo que permite una simulación que ejemplifica el comportamiento de estos compuestos con la interacción con PTP1B, seleccionando así el compuesto con mejor acoplamiento no sólo estático, si no, que también en sea capaz de formar enlaces duraderos y estables.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, María Eugenia y Miguel Ángel, porque siempre creyeron en mí, incluso en los momentos en los que yo misma no lo hacía, por la educación que me dieron y todo el esfuerzo que hicieron día con día para permitirme las mejores oportunidades para realizarme no sólo en lo académico, si no en lo personal, gracias por cada café, por cada libro y por cada día de mi vida.

A mi hermano Miguel, porque siempre has sido mi más grande cómplice de sueños y esperanzas, nuestro apoyo y amor será eternamente incondicional.

A mi hijo Ciro, porque tú me enseñaste lo que es la verdadera tenacidad y motivación, porque durante todo este tiempo has sido mi razón para superarme cada día.

A mis amigos, con los que descubrí los secretos de la química, aquellos que me acompañaron cada día, que crecieron conmigo y a aquellos que aún a la distancia nunca me abandonaron, que siempre escucharon y compartieron mis alegrías y tristezas que disipaban mis dudas.

Al Dr. Francisco Cortés por su infinita paciencia y dedicación que a pesar de las adversidades que se presentaron durante todo el periodo de realización no dejó de apoyarme en ningún momento.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, por ser mi segundo hogar, por albergarme y abrirme las puertas al conocimiento, siempre de la mano de los docentes que me formaron, y que me guiaron más allá del desarrollo de un plan de estudios, si no que me enseñaron la ética y responsabilidad con la que se debe ejercer esta hermosa profesión.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	8
2. ANTECEDENTES.....	9
2.1 Diabetes y Obesidad	9
2.1.1 Definición de diabetes.....	9
2.1.2 Diabetes tipo II.....	9
2.1.3 Obesidad	12
2.2 Leptina.....	13
2.2.1 Leptina en diabetes y obesidad	13
2.3 Enzima PTP1B	15
3. HIPÓTESIS.....	22
4. JUSTIFICACIÓN.....	22
5. OBJETIVOS	23
5.1 Objetivo general	23
5.2 Objetivos específicos.....	23
6. METODOLOGÍA	23
6.1 Estudios de acoplamiento molecular	23
6.1.1 Preparación de la proteína PTP1B	24
6.1.2 Preparación de los ligandos	24
6.1.3 Acoplamiento molecular	25
6.2 Dinámica molecular	26
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
7.1 Acoplamiento molecular	26
7.1.1 Enzima PTP1B	26
7.1.2 Acoplamiento molecular	27
7.2 Dinámica molecular	35
Compuesto 4a.....	35
Compuesto 4b.....	37
Compuesto 4 c.....	39
Compuesto 4d.....	41
8. CONCLUSIÓN.....	43
9. REFERENCIAS.....	43

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes y la obesidad son padecimientos que se encuentran frecuentemente como comorbilidades, los cuales, causan rápido y progresivo deterioro del estado de salud de los pacientes y que a su vez cada día aumenta el número de casos a nivel tanto mundial como nacional, poniendo en riesgo la vida de millones de pacientes. Se ha determinado el papel fundamental que tiene la leptina en el desarrollo de estas enfermedades, debido a que las anomalías en su funcionamiento tienen un impacto negativo en el estado nutricional, así como en el control de los niveles plasmáticos de glucosa; estas pueden tener un origen en la actividad irregular de la Proteína Tirosina Fosfatasa 1 (PTP1B) que interfiere con la recepción adecuada, tanto de la leptina como de la insulina.

Debido a lo anterior, la búsqueda y el diseño de inhibidores de esta enzima podría representar una alternativa terapéutica innovadora capaz de controlar el deterioro y progresión de la diabetes y obesidad simultáneamente. Atendiendo a esta situación los fines de la presente investigación incluye el análisis de compuestos derivados del Ácido glicirretínico, un comprobado inhibidor de la actividad de PTP1B, actividad que se busca potenciar, con la fusión de un anillo de tiazol, que permitan una mejor afinidad esta enzima. Para determinar la potencial actividad inhibidora de los compuestos propuestos, se realizaron estudios *in silico*, con herramientas bioinformáticas tales como acoplamiento molecular o docking, con la finalidad de identificar las interacciones ligando-receptor formadas. Posteriormente, con ayuda de la técnica de dinámica molecular, se analizó el comportamiento y estabilidad en el tiempo de estas interacciones.

2. ANTECEDENTES

2.1 Diabetes y Obesidad

2.1.1 Definición de diabetes

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la diabetes como una enfermedad crónica que originada cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. Siendo un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por la presencia de hiperglucemia crónica que resulta de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina o ambas (Craig, 2009). La diabetes se manifiesta en una hiperglucemia que lleva a alteraciones del metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos, así como posteriores complicaciones vasculares a largo plazo. Existen cuatro tipos de diabetes: tipo I, tipo II, gestacional e inducida por factores externos, tales como medicamentos. (Dabelea, 2008). En tema del presente trabajo, se concentró en la diabetes mellitus tipo 2 (DMII).

2.1.2 Diabetes tipo II

2.1.2.1 Definición

La diabetes mellitus tipo II, es una enfermedad metabólica caracterizada por una respuesta inadecuada de las células pancreáticas beta a una progresiva resistencia a la insulina que típicamente se encuentra asociada a una edad avanzada, inactividad y e incremento de peso corporal (McCarthy, 2010). Esta enfermedad, representa una importante causa de mortalidad que puede reducir hasta 10 años de vida (Hernández, 2013). También es responsable de incrementar la morbilidad por enfermedades cardiovasculares, ceguera, disfunción renal y amputación de miembros (Miyamoto, 2020).

Al ser la DMII una enfermedad multifactorial, su progresión está mediada por la pérdida de homeostasis en el metabolismo de la glucosa, mientras que en el procesamiento normal de la glucosa la insulina liberada promueve la absorción de la

insulina en el cuerpo, evitando la liberación de las reservas de glucosa del hígado. En contraste, en la DMII, al romperse la homeostasis se desencadena la liberación excesiva de insulina, lo cual genera resistencia a la insulina en músculo, hígado y adipocitos, así como anomalías en la absorción de glucosa esplácnica. Estas alteraciones en la homeostasis pueden desencadenar el rompimiento del balance entre la apoptosis y generación de nuevos islotes beta en el páncreas, llevando a una progresión de la enfermedad dañando aún más la regulación de la glucosa (DeFronzo, 2004). Estas alteraciones impactan negativamente en la calidad de vida de los pacientes principalmente asociados a complicaciones tales como neuropatías, afecciones cutáneas, disfunciones sexuales, así como sociales debido a la necesidad de cuidados médicos, gastos, e impacto en las relaciones interpersonales y laborales, asociadas a dichas complicaciones (Abedini, 2020).

El diagnóstico de DMII, se realiza con un estudio de hemoglobina glicosilada (HbA1c), en la cual los niveles altos de glucosa de manera sostenida provocan la unión de glucosa al extremo N-terminal de la cadena beta de la hemoglobina, el porcentaje de hemoglobina que se encuentra glicosilada da un panorama de los niveles de glucosa de los tres meses anteriores al estudio, se consideran valores normales cuando el 6% o menos de hemoglobina glicosilada, mientras que valores por encima del 9% se consideran valores altos de glucosa, indicando la persistencia de diabetes, este estudio también es de importancia en el control de la enfermedad, ya que los tratamientos deben permitir la disminución de la HbA1c (Yun, 2019).

2.1.2.2 Incidencia a nivel mundial

La diabetes es la deficiencia hormonal más común en adultos (Fadayevatan, 2020). La federación internacional de diabetes estima que aproximadamente 463 millones de adultos (de entre 20 a 79 años) padecen diabetes, tasa que puede incrementar a 700 millones para 2045 (IDF Diabetes Atlas 9th).

2.1.2.3 Incidencia a nivel nacional.

En México, la prevalencia de DMII durante el año 2016 fue del 9.4%; para el año 2030 se prevé incremento de 12 a 18% y para el 2050, de 14 a 22% (ENSANUT, 2016). En 2018 la DMII representaba la segunda causa de muerte por enfermedades

en el país, representando el 15.4% las cuales estuvieron relacionadas a complicaciones de diabetes; en 2020 debido a la pandemia causada por el coronavirus SARS-Cov2, la DMII ocupó el tercer lugar en defunciones, siendo la causa de muerte de 52,136 hombres, 47,429 y mujeres, en las mujeres prevalece como segunda causa de muerte a nivel nacional; afecta principalmente a personas de 54-65 años, siendo esta la principal causa de muerte en este rango de edad (INEGI, 2020).

La forma en que se distribuye la incidencia de diabetes en México no es homogénea, en los estados de Puebla, Chihuahua, Chiapas y Oaxaca, con una incidencia menor al 10% distribuidos en sus diversos municipios; mientras que el estado con mayor incidencia es Sonora con más del 35% en el que se encuentra el el municipio con mayor índice de diabetes del país llamado Bacerac, en el cual la incidencia de diabetes es mayor del 50% de la población (INEGI, 2018).

2.1.2.4 Tratamientos actuales

El manejo y control de la diabetes actualmente se realiza con el monitoreo de los niveles de glucosa, cambios dietéticos, siendo esto pilar fundamental el control del paciente (Bustamante, 2014). Farmacológicamente existen ocho clases de medicamentos para el tratamiento de DMII: inhibidores de la α -glucosidasa, secretagogos de insulina, biguanidos, tiazolidinedionas, agonistas de glucagón tipo péptido 1, inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 y los inhibidores análogos de amilina (Wang, 2015). El objetivo central de los tratamientos es el control de la hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambas. Sin embargo, resulta de importancia el tratamiento de otras características sintomatológicas que acompañan a la DMII tal como la dislipidemia, hipertensión, hipercoagulabilidad y obesidad, por lo que un foco de investigación son los tratamientos que puedan cubrir distintas características de la enfermedad de forma simultánea (Nathan, 2009).

Actualmente en México los tratamientos farmacológicos utilizados se realizan con insulina e hipoglucemiantes como: Acarbosa, glibenclamida y metformina, principalmente (Instituto Nacional del Seguro Social, 2018).

2.1.3 Obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica, multifactorial de rápido progreso con amplio número de repercusiones a la salud en general (DeAngelo, 2020), la OMS la define como una acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo. Para el diagnóstico de la obesidad se utiliza el índice de masa corporal (IMC). Se considera obesidad cuando el IMC es igual o superior a 30. La prevalencia del sobrepeso y la obesidad a nivel mundial en niños y adolescentes (de 5 a 19 años) ha aumentado exponencialmente del 4% en 1975 a más del 18% en 2016 (Ortega, 2019). En el mundo, cerca de 1 400 millones de adultos tienen sobrepeso y 500 millones obesidad. De acuerdo con el Global Health Observatory, México es uno de los cinco países de Latinoamérica con la prevalencia más alta de sobrepeso (9.0%) en niños menores de cinco años, junto con Argentina (9.9%), Paraguay (11.7%), Barbados (12.2%) y Belice (13.7%). En el caso de los niños mayores de cinco años, México es el país con la prevalencia más alta de sobrepeso (43.9%) en Latinoamérica (Rivera, 2018).

Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSATU) del 2016, las personas con sobrepeso y obesidad fueron en mayor medida diagnosticadas con diabetes (50 y 80%, respectivamente) (Rojas-Martínez, 2018).

2.1.3.1 Relación entre obesidad y diabetes

La obesidad es la alteración nutricional más común en el mundo, el exceso de grasa corporal es una condición preocupante debido a que representa un factor de riesgo que incrementa la morbilidad de otras enfermedades (Alonso, 2019), siendo DMII una de las patologías que se encuentran altamente relacionadas con la obesidad (Gaborit, 2020).

La hiperlipidemia se refiere a un nivel excesivo de lípidos en sangre que puede causar diversas enfermedades con consecuencias severas en la salud (Liu, 2020). El tejido adiposo modula el metabolismo mediante la liberación de ácidos grasos no esterificados, glicerol, hormonas, incluidas la leptina y la adiponectina, así como citocinas proinflamatorias (Kahn, 2006). El incremento de este tejido en forma exacerbada puede dar origen a distintas respuestas como hipoxia del tejido adiposo

al presentar un crecimiento acelerado, esto en conjunto con un incremento e imposibilidad de abastecimiento de nutrientes que lleva a la muerte celular, liberando distintos factores inflamatorios como proteínas de fase aguda, interleucinas proinflamatorias y atracción de macrófagos (Donath, 2011).

El sobrealmacenamiento de nutrientes de los adipocitos, en particular los triglicéridos, cambian la arquitectura celular del tejido adiposo, esto lleva a un estrés oxidativo en el retículo endoplásmico, lo cual activa un proceso de lipogénesis excesiva en donde el aumento de ceramidas y la constante estimulación del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) secretada por el tejido adiposo adyacente provoca la activación de la quinasa Jun N-terminal (JNK), que también inhibe la captación de glucosa y fosforila al factor de transcripción activador de proteína 1, aumentando la síntesis de moléculas proinflamatorias que provoca daño al endotelio y a otros tejidos relacionados durante la obesidad (Hernández, 2015).

2.2 Leptina

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos, alargada de un tamaño aproximado de $20 \times 25 \times 45 \text{ \AA}$, se compone de cuatro hélices α antiparalelas (A, B, C y D), conectadas por dos enlaces cruzados largos (AB y CD) y un bucle corto (BC), dispuestos en un paquete helicoidal retorcido a la izquierda. (Zhang, 2005).

2.2.1 Leptina en diabetes y obesidad

La leptina tiene un papel central en la comunicación del estado de reposición de energía corporal al sistema nervioso central para suprimir la ingesta de alimentos y permitir el gasto de energía (Myers, 2008). De esta forma, la leptina desempeña un papel importante en la homeostasis energética, así como funciones del sistema inmune, involucradas en anomalías neuroendocrinas del estado nutricional (Matarese, 2005). La expresión de leptina puede ser inducida por la obesidad, la insulina, el TNF- α , los glucocorticoides y está regulada negativamente por los agonistas β -adrenérgicos en ayunas y las tiazolidinedionas (Sweeney, 2002). Después de su liberación al torrente sanguíneo, circula unida a proteínas atravesando la barrera hematoencefálica, estimulando ahí la liberación de varios

neurotransmisores, como neuropéptidos anorexígenos; también afecta directamente el metabolismo y la función de los tejidos periféricos como los adipocitos, el músculo esquelético, el ovario, la corteza suprarrenal y las células beta pancreáticas (Paracchini, 2005).

En la obesidad, los niveles de leptina se encuentran aumentados, mientras que los receptores se encuentran disminuidos por lo cual la falla en la acción de la leptina induce hipertrigliceridemia, esteatosis hepática y muscular, resistencia a la insulina, falla en las células beta y diabetes mellitus, dichas alteraciones están presentes en el síndrome metabólico, la lipodistrofia. Las mutaciones en el gen de la leptina como en sus receptores causan hiperfagia, obesidad severa y resistencia a la insulina (García, 2007); la leptina inhibe la producción de insulina, mientras la insulina estimula la producción de leptina en los adipocitos. Cuando se tiene un estado de resistencia a la leptina (hiperleptinemia), esta retroalimentación se rompe, perdiéndose la acción de la leptina en la producción de la insulina desencadenando una heperinsulinemia y la consiguiente resistencia a la insulina. El papel proinflamatorio de la leptina también induce un estado inflamatorio crónico, mismo que se suele apreciar en casos de DMII y obesidad (Almanza, 2008).

2.2.2 Receptor de leptina (ObR)

El receptor de leptina es miembro de la superfamilia de receptores de citocinas de clase I, el cual tiene 6 isoformas, su forma contiene 3 dominios intracelulares necesarios para activar la vía JAK / StAt. Además, en el dominio intracelular, ObR contiene cuatro residuos de tirosina: TYR974, TYR985, TYR1077 y TYR1138 (Gorska, 2010), todas las isoformas tienen un dominio extracelular idéntico y se encuentra expresado tanto en el hipotálamo (regulando la homeostasis energética y función neuroendocrina) como en células del sistema inmunológico. Existen distintas vías de activación del ObR: la vía MAPK parece media efectos anti-apoptóticos, la vía PI3 K tiene importancia en la absorción de la glucosa, la vía JAK-2-STAT-3 tiene importancia en el control homeostático donde la unión de leptina recluta quinasas Janus, lo que activa al receptor como sitio de acoplamiento para

adaptadores plasmáticos como STAT, los cuales se translocan al núcleo induciendo la expresión de genes, incluidos reguladores negativos como la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) y el supresor de citocinas 3 (Matarese, 2005). El mecanismo se puede apreciar en la Figura 1.

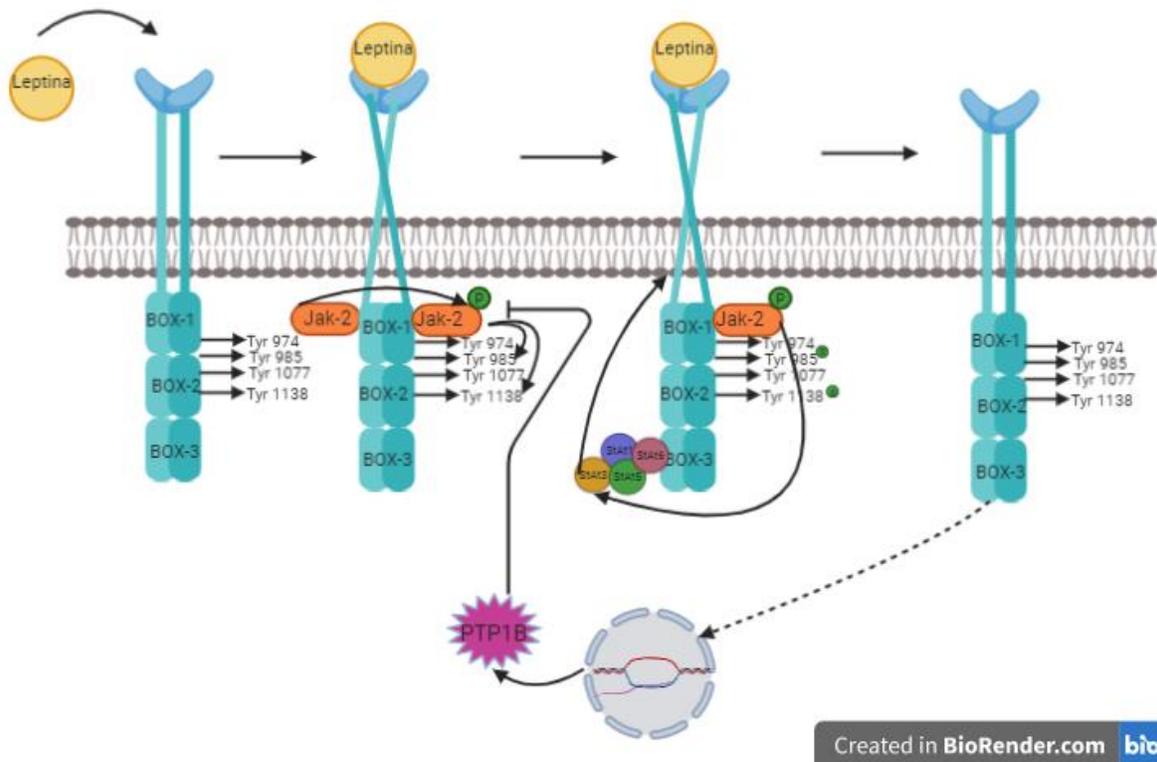


Figura 1. Vía JAK/Stat: Al unirse la leptina con el receptor funcional existe un cambio conformacional del dímero causando una nueva conformación cuaternaria (Moharana, 2014), JAK 2 se en las secciones Box-1 y box-2, siendo activada, lo que provoca su autofosforilación, JAK 2 fosforilada procede a fosforilar tyr 985 y tyr1138, después de la fosforilación de tyr1138, las proteínas StAt (StAt1, StAt3, StAt5, StAt6), se unen a la sección BOX-3, JAK2 fosforila a StAt 3, que produce la disociación de las proteínas del receptor, a su vez, promueve la transcripción de supresores como la tirosina fosfatasa 1B (PTP11B) (Gorska, 2010).

2.3 Enzima PTP1B

2.3.1 Tipo de enzima

Las proteínas tirosina fosfatasa (PTP) son una familia de enzimas que regulan procesos de desfosforilación. En humanos existen más de 100 que modulan diversas

vías de señalización de importancia biológica y su mal funcionamiento se puede asociar a diversas enfermedades. En el caso de PTP1B, su papel es fundamental en el metabolismo de la glucosa siendo un regulador negativo de insulina y leptina (Li, 2006).

2.3.2 Estructura

La PTP1B tiene un dominio de fosfatasa catalítica N-terminal (residuos 1-300) seguido por una región reguladora de aproximadamente 80-100 residuos y un dominio C-terminal localizado en membrana (residuos 400-435) que se encarga de unir la enzima al retículo endoplasmático (Yip, 2010). La función de la estructura entre el C-terminal y el N-terminal se cree que es crítica para la unión del sustrato (Lessard, 2010). A ~ 20 Å del sitio catalítico tiene un sitio de unión alostérico. Se sabe que la unión de compuestos como benzofuranos se unen a esta cavidad, inhibiendo efectivamente la actividad de PTP1B (Choy, 2017).

La PTP1B tiene una cavidad catalítica en los aminoácidos 18, 22, 31-34, mientras que aminoácidos aledaños: TYR 46, ARG 47, ASP 48, VAL 49 y SER 50 ayudan a la estabilización de su sustrato, haciendo uso de la quinasa de serina/Triptofano Akt. Se sabe que al fosforilar el residuo Ser50, la actividad enzimática de PTP1B se reduce, mostrando que este residuo juega un papel de importancia en la actividad enzimática de PTP1B (Ravichandran, 2001).

2.3.3 Función en diabetes y obesidad

La interacción el receptor de insulina es dependiente de la autofosforilación de los residuos 1146, 1150 y 1151 del receptor de insulina los cuales forman un complejo con los residuos de tirosina 66, 152 y/o 153 de la PTP1B fosforilándolos, activando así a esta enzima (Dadke, 2001). Una vez en su forma activa, PTP1B cataliza la defosforilación de los residuos de tirosina de la subunidad b en pY1162/pY1163 y el receptor de sustrato-1 de insulina (IRS-1) (Hussain, 2019). Otro sustrato de importancia para PTP1B es JAK2, interfiriendo con la cascada de activación de leptina, impidiendo la transducción de señales del receptor de leptina (Cho, 2013). Es

de esta forma por la cual se incrementan los niveles de glucosa y de insulina en sangre ya que la activación a PTP1B interfiere con la señalización tanto de la insulina al fosforilar el receptor como de la leptina al impedir la transducción de señales, promoviendo así la resistencia a la insulina y la acumulación de leptina que no cumple su función adecuadamente teniendo un impacto en el aumento de grasa corporal.

La PTP1B se encuentra localizada en la cara del retículo endoplasmático y es expresada en los tejidos diana de la insulina que incluyen el hígado, músculo y adipocitos. Esta enzima es un regulador negativo en el señalamiento en los receptores tanto de insulina como de glucosa, por lo tanto, la sobreexpresión de PTP1B disminuye la fosforilación mediada por insulina de su mismo receptor, mientras que la reducción en el nivel de PTP1B aumenta la transmisión de señales del receptor de insulina. Se sabe que mutaciones en el gen que codifica para PTP1B (PTPN1) contribuyen al desarrollo de enfermedades como diabetes y obesidad (Zhang, 2007). A nivel neuronal, la PTP1B regula la producción de leptina adipocitaria y la sensibilidad a la insulina independientemente de los cambios en el peso corporal (Bence, 2006).

2.3.4 Mecanismo de desfosforilación de PTP1B

El residuo CYS 215 remueve el grupo fosfato del sustrato con ayuda del residuo ARG 221, formando un enlace S-P intermedio, catalizado por el residuo Asp181, quien hidroliza al intermediario junto con GLN 262 restaurando a CYS como se observa en el mecanismo ilustrado en la Figura 2 (Pei, 2012).

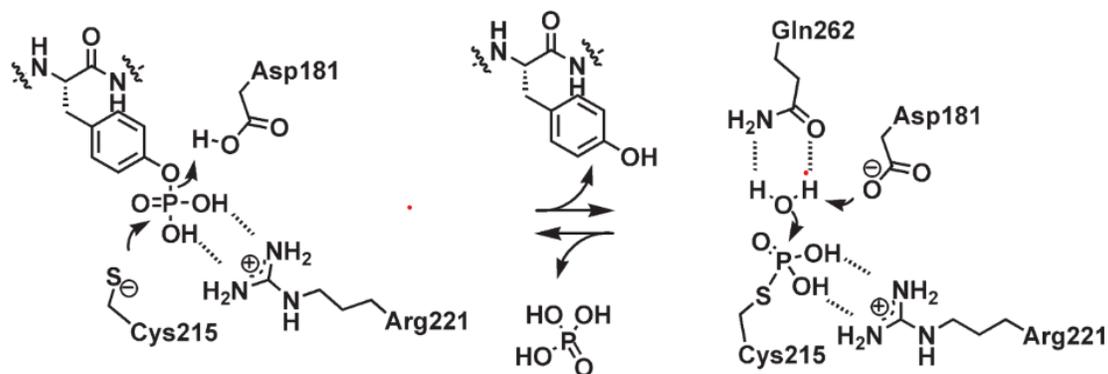


Figura 2. Mecanismo de desfosforilación de PTP1B

2.3.5 PTP1B como diana terapéutica para el tratamiento de diabetes

Por medio de la supresión del gen *PTPN1* que codifica para la síntesis de PTP1B, distintos estudios encontraron que al no sintetizar adecuadamente PTP1B se aumenta la sensibilidad a la leptina e insulina, dificultando el desarrollo de diabetes y obesidad en ratas con dieta hipercalórica. Esto proporciona una prueba suficiente para validar que la inhibición de PTP1B es una diana terapéutica para el desarrollo de fármacos en el tratamiento de diabetes y obesidad (Zang, 2005). Por lo tanto, el desarrollo de moléculas necesarias para el tratamiento de la resistencia a la insulina y leptina, es un enfoque terapéutico potencialmente poderoso para combatir la epidemia de la obesidad y la DMII; sabiendo que la inhibición de PTP1B tendrá una acción terapéutica como agente antiobesidad ya que se permitiría una mejor transducción de señales tales como la de saciedad y la formación de reservas grasas, por lo cual se pretende que los inhibidores de PTP1B se diseñen con el fin de atravesar la barrera hematoencefálica para obtener una mejor actividad terapéutica (Bence, 2006).

2.3.5.1 Inhibidores de PTP1B

Desde 1990 se han sintetizado diversos inhibidores de PTP1B para el tratamiento de DMII, entre estos se puede encontrar compuestos derivados de fosfonodifluorometilfenilalanina, los ácidos carboxílicos, imidas, ácidos sulfónicos y los compuestos de vanadio. Sin embargo, se ha observado que han tenido baja

permeabilidad y poca selectividad hacia otras PTP (Wang, 2015). Actualmente se conocen 873 moléculas en estudio como inhibidores de PTP1B, de estos, 8 pertenecen a los triterpenos en la base de datos de ChEMBL (Papadatos, 2014).

Sabiendo que la sobreexpresión de PTP1B no sólo es causante de diabetes y obesidad si no, que tiene una influencia la progresión de distintos cánceres, existe un fármaco antineoplásico inhibidor de PTP1B, la Trodusquemina, fármaco que actualmente se encuentra en fases clínicas de investigación (NCBI, 2020).

Un grupo que ha resultado de especial importancia son los triterpenos, muchos de los que actualmente se estudian contra PTP1B son de origen natural. Por ejemplo, el ácido morónico es uno de los triterpenos que se encuentran en estudios clínicos (Figura 3) (Ceron-Roméros, 2016). También se ha reportado en estudios tanto clínicos como *in-silico* la actividad inhibitoria de otros triterpenos como el ácido ursólico, ácido oleanólico, ácido morólico y ácido litocólico (Mao, 2015). El Ácido ursólico se encuentra actualmente en pruebas clínicas de fase dos, para el tratamiento de la hiperglicemia y obesidad en el síndrome metabólico (ID de prueba clínica en ClinicalTrials.gov: NCT02337933).

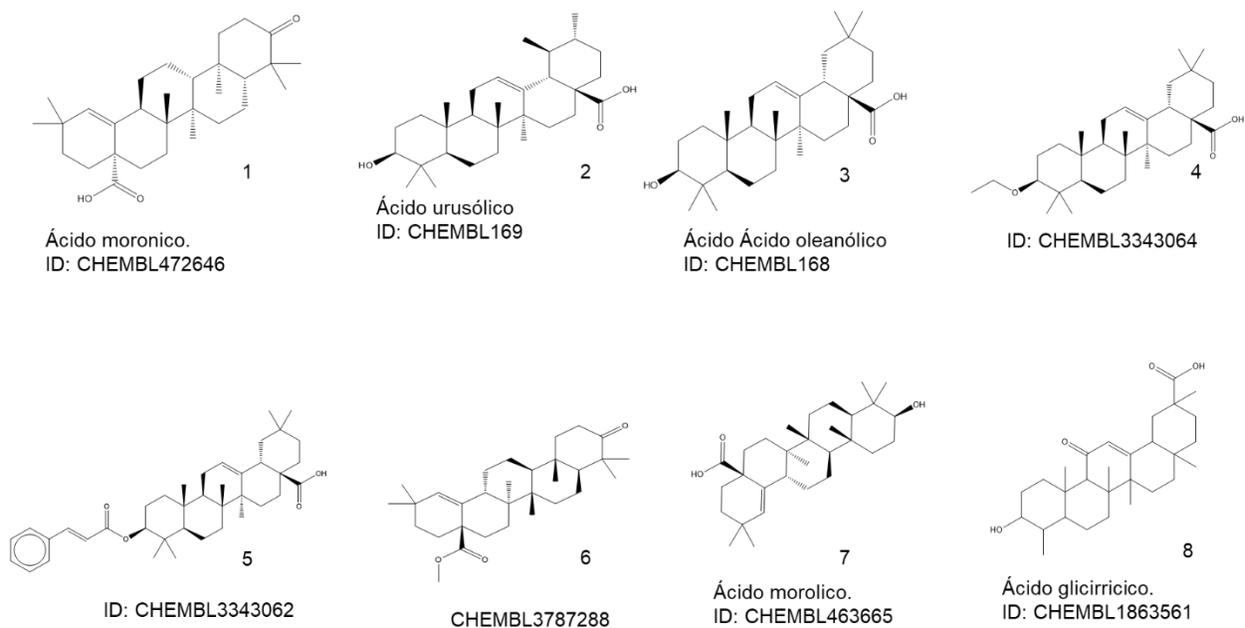


Figura 3: Triterpenos que han demostrado actividad inhibitoria de PTP1B

Otras moléculas de importancia como inhibidores son aquellas con un anillo de tiazol. Se ha demostrado que el anillo de tiazol tiene una interacción directa con el sitio catalítico de PTP1B, siendo capaz entrar en esta cavidad (Meng, 2016).

2.3.5.1.1 Derivados semisintéticos contra PTP1B

En el área del diseño de fármacos, los productos naturales han sido una fuente importante para el desarrollo de agentes terapéuticos para una gran variedad de enfermedades entre las que están incluidas las de desórdenes metabólicos. Es bien sabido que los productos naturales han sido históricamente utilizados para el tratamiento de enfermedades debido a muchas de estas moléculas poseen estructuras biológicamente validadas a través de la coevolución con el resto de los seres vivos, los cuales se pueden considerar como productos para la adaptación de un organismo a su ecosistema particular, debido a que estas estructuras son capaces de interactuar con proteínas desencadenando diversas acciones útiles para la salud en procesos patológicos (Ravelo, 2009); (Patwardhan, 2004). Existen dos tipos de productos metabólicos producidos por los seres vivos, los metabolitos primarios que son comunes en todos los organismos y mantienen funciones vitales y estructurales, como es el caso de azúcares y algunos aceites (García, 2011); y los metabolitos secundarios que son compuestos de bajo peso molecular que participan en procesos de adaptación al ambiente como el establecimiento de simbiosis, dispersión de semillas y frutos, así como mecanismo de defensa cuando los organismos son expuestos a situaciones adversas (Jiménez, 2003).

Existen diversos fármacos semisintéticos los cuales provienen de reacciones que parten de un producto natural, para su desarrollo (Bulter,2008), tomando como base para la síntesis los metabolitos secundarios producidos por plantas o animales. En este sentido, algunos metabolitos secundarios han demostrado ser capaces de inhibir

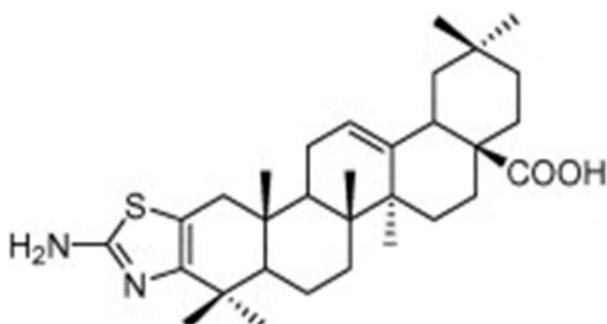


Figura 4: Compuesto 22, derivado del ácido malínico (Qiu, 2009).

a la PTP1B tales como los triterpenos presentados anteriormente, en los cuales se pueden realizar diferentes modificaciones estructurales con el fin de mejorar su actividad inhibitoria. Un ejemplo de importancia son algunos derivados del ácido maslínico, cuando se fusionó al

anillo "A" del triterpeno con un tiazol (figura 4), mostró un Concentración Inhibitoria media (CI₅₀) de $1.92 \pm 0.12 \mu\text{M}$, (Qiu, 2009). También mostró una gran afinidad con otra enzima de la misma familia que se cree que puede estar involucrada de la misma forma que PTP1B en el desarrollo de diabetes y obesidad (Tiganis, 2013).

2.3.5.1.2 Ácido glicirretínico (AG)

Entre los productos naturales que han presentado una actividad inhibitoria contra PTP1B es el ácido glicirretínico (AG), el cual, es un metabolito secundario de *Glycyrrhiza glabra* (también conocida como raíz de Regaliz) que es una planta originaria de India, Pakistán y el sureste de Europa; también se cultiva en Inglaterra, Francia, Alemania, España, Italia, Grecia, Turquía, Egipto y Siria. Actualmente también se cultiva en Estados Unidos con fines de investigación (Akbar, 2020) en donde se ha demostrado que en ratas tiene efectos positivos en el tratamiento de diabetes, así como en la pérdida de peso corporal (Lysiuk 2019). El metabolito secundario de importancia farmacológica de la *Glycyrrhiza glabra*, es la glicircina, que al hidrolizarse se divide en una molécula de AG y dos de ácido glucorónico (Ruiz,2006). Su uso terapéutico se encuentra mencionado en tratados de medicina tradicional china, como calmante (Zígolo, 2017). A pesar de que su uso terapéutico se conoce desde hace más de 2000 años, tiene aproximadamente 70 años que se

busca el mecanismo por el cual ejerce su acción terapéutica, apuntando por un efecto antiinflamatorio relacionado al metabolismo de los glucocorticoides (Bansode, 2020).

El mecanismo por el cual el AG actúa como antiinflamatorio por esta vía, es mediante la inhibición de la 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2, evitando de esta forma la conversión del cortisol a su forma activa. Esta actividad inhibitoria, puede afectar la regulación osmótica del organismo llevando a un desequilibrio de sales y un consiguiente aumento de la presión arterial, siendo recomendable mantener un consumo máximo de 100 mg/día. También, se evaluó el potencial terapéutico del AG para el tratamiento del cáncer, así como la citotoxicidad en células sanas, demostrando que su uso es seguro en estas concentraciones (Yamaguchi, 2010).

El AG puede ser extraído de fuentes naturales como los estereoisómeros 18 α y 18 β (18 α -AG y 18 β -AG, respectivamente). Por ejemplo, en un estudio se aislaron ambos metabolitos de *Hizikia fusiformis*, en donde, se demostró que ambos compuestos son inhibidores competitivos en la enzima PTP1B. La concentración mínima inhibitoria 50 (CI₅₀) para el 18 α -AG en este estudio fue de 3.17 μ M mientras que para el 18 β -AG 16.23 μ M.

3. HIPÓTESIS

Teniendo en cuenta que los compuestos con anillos de tiazol y triterpenos como el AG tienen una capacidad inhibitoria sobre la PTP1B, se propone que compuestos derivados del AG fusionados con un anillo tiazol podrán tener un potencial inhibitorio contra PTP1B, representando una posibilidad de tratamiento a futuro para la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad.

4. JUSTIFICACIÓN

La diabetes y obesidad representan una comorbilidad importante que afecta la salud de millones de personas a nivel mundial. México no es la excepción, actualmente esto representa un problema de salud, por lo cual, resulta indispensable la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas que puedan ayudar

a evitar la propagación de estas enfermedades y permitir una mejor calidad de vida. Uno de los blancos terapéuticos que permitirán la generación de estas opciones es la enzima PTP1B, por sus implicaciones en la regulación tanto del receptor de la insulina como el de leptina, utilizando como base un producto natural, tal como AG con demostrada actividad sobre este blanco al cual se le pueden realizar modificaciones estructurales fusionando al esqueleto triterpénico un anillo de tiazol que mejore la afinidad para poder producir una inhibición apropiada de este blanco terapéutico, sin dejar de tener en consideración que la actividad terapéutica más óptima se encuentra cuando se inhibe la PTP1B que se expresa en neuronas, es relevante buscar entonces inhibidores que sean capaces de atravesar la barrera hematoencefálica. En este sentido, se sabe que el AG es capaz de cruzar esta barrera.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Llevar a cabo el modelado molecular y la simulación por dinámica molecular de inhibidores de la enzima PTP1B derivados del ácido glicirretínico con un anillo de tiazol fusionado, para evaluar su actividad sobre la enzima PTP1B.

5.2 Objetivos específicos

1. Realizar los estudios de acoplamiento molecular (docking) de derivados del ácido glicirretínico sobre la enzima PTP1B.
2. Utilizar los mejores acoplamientos por docking para realizar una dinámica molecular.
3. Analizar los resultados determinando si los derivados propuestos tienen mayor afinidad a la enzima PTP1B y que esta afinidad sea estable a través del tiempo.

6. METODOLOGÍA

6.1 Estudios de acoplamiento molecular

6.1.1 Preparación de la proteína PTP1B

Se descargó la estructura de la enzima PTP1B de Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), con el código ID:2beg, de esta se eliminó tanto el ligando incorporado así como las moléculas de agua utilizando el software Chimera (UCSF Chimera), el archivo se guardó en formato *.pdb y se envió al servidor para minimización de YASARA (Krieger, 2009), para hacer minimización de la proteína, el archivo resultante se guardó eliminando las moléculas de agua en pdb haciendo uso del software de visualización de YASARA (Krieger, 2014), se revisó que la estructura se encontrara en condiciones óptimas haciendo un Ramachandra Plot, con el servidor de PROCHECK (Saves 2020). Con el programa AutoDockTools (Huey, 2007), se añadieron las cargas pertinentes y se generó el archivo *.pdbqt.

6.1.2 Preparación de los ligandos

Se construyeron las estructuras de los ligandos (Figura 5), utilizando el software Chem3D, utilizando como base estructural la molécula de AG obtenida de la base de datos de ZINC database a la cual se añadieron los grupos funcionales correspondientes, la optimización de los derivados se realizó en un proceso de dos pasos, inicialmente con un método de mecánica molecular, haciendo uso del campo de fuerza MMFF94 y posteriormente con un método semiempírico PM3, con la extensión de GAMESS versión 2019 R1, dentro de la interfaz de Chem3D, en la misma interfaz con la extensión de AutoDockTools se generó el archivo pdbqt de cada ligando para realizar el docking.

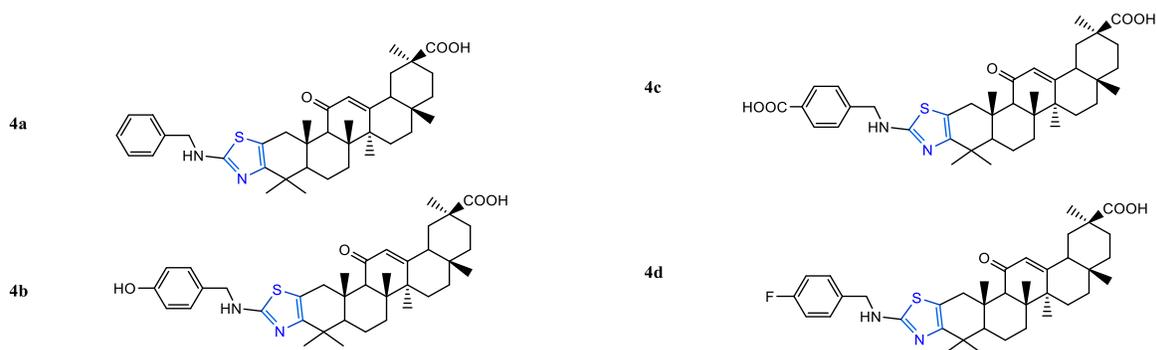


Figura 5. Ligandos derivados de AG, fusionados con anillos de tiazol.

6.1.3 Acoplamiento molecular

Los estudios de acoplamiento molecular se realizaron tomando en cuenta tres softwares distintos: AutoDock4, AutoDock Vina y GOLD.

6.1.3.1 Autodock 4

Se realizó un docking dirigido, generando un grid, con coordenadas X= 54.126, Y= 33.483 Z=39.263 y un tamaño de 60X 60X40 Å. Este grid cubre tanto el sitio catalítico como el sitio alostérico en donde se sabe que se unen diferentes triterpenos como el AG. El archivo *.dpf, se generó con las siguientes especificaciones: 100 corridas, 25000000 de evaluaciones con un número máximo de generaciones de 27000, con un individuo de supervivencia y una proporción de mutación genética de 0.02, un crossover de 0.8 y se utilizó el algoritmo Lamarckiano. Durante el análisis del docking, se seleccionó el clúster con más conformaciones y se analizaron las interacciones con el software de Discovery Studio Versión 2019 (Biovia, 2019).

6.1.3.2 Autodock Vina

El docking realizado con autodock vina fue ejecutado en el interfaz de PyRx (Dallakyan, 2015), utilizando la extensión de Open Babel se minimizaron los ligandos, y se convirtieron a formato *.pbdqt. Con la extensión de Vina Wizard se realizó el docking, estableciendo un grid equivalente al realizado con Autodock Tools, de X=54.7950 Y=33.4063 Z 39.1382 y un tamaño de 22.9134 X 22.0407 X 14.8050.

7.1.4.3 Gold

Se realizó utilizando un grid, que contuviera las mismas direcciones que en autodock4 y autodock vina, con unas coordenadas de x = 53.72, y = 34.34, z= 41.74 y un tamaño de 13 Å, realizando 100 repeticiones.

6.2 Dinámica molecular

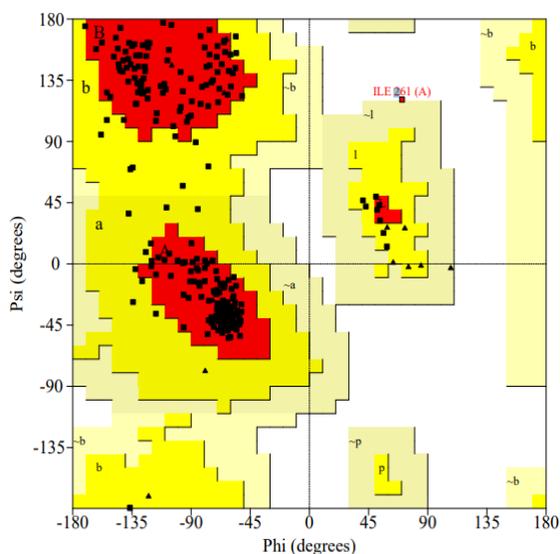
Se realizó la dinámica molecular en un equipo HP station con tarjeta gráfica Nvidia Geforce Gv-N1070g1 Gtx 1070, utilizando el software de Schrödinger Release 2020-4: Maestro. para el procesamiento y elaboración de la película. La dinámica fue ejecutada de forma isotérmica-isobárica a una temperatura de 300°K a una atmosfera de presión. Se generaron 10 ns de trayectoria utilizando el complejo receptor-ligando obtenido de docking por Autodock4, el acoplamiento durante la dinámica se realizó cada 20 ps, con una caja ortodrómica con un tamaño considerando el buffer de un volumen de 354631 Å³. Se utilizó un campo de fuerza AMBER99SB con un modelo de agua TIP3P, y una concentración de sales de 0.15M, se usaron iones de sodio y cloro para alcanzar este equilibrio en un pH de 7.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 Acoplamiento molecular

7.1.1 Enzima PTP1B

Los resultados del análisis de la estructura proteica (Figura 7) son favorables al tener el 90% de los residuos en regiones favorables, y 9.7% en regiones permitidas, mientras que únicamente el 0.4% se encuentra en una región no permitida, esto equivale a 1 residuo, esto corresponde a las cualidades de la proteína PTP1B tras la minimización con YASARA, demostrando que la proteína minimizada es apta para el desarrollo de esta investigación ya que es computacionalmente favorable con una



apropiada relación de los giros de los residuos que la componen son capaces de realizar.

7.1.2 Acoplamiento molecular

A continuación, se muestra una tabla comparativa los resultados obtenidos del acoplamiento molecular utilizando los tres softwares. El análisis de las interacciones se realizó utilizando los resultados obtenidos de Autodock4 (Tabla 1).

Es importante mencionar que los resultados obtenidos en el software de GOLD a diferencia de los que se pueden obtener con AutoDock4 y AutoDock Vina, son adimensionales, correspondiendo a la energía interna del sistema cuando se encuentra el complejo en una posición específica. Estas relaciones se califican de forma en que entre mayor sea el resultado es mayor la afinidad que tiene la proteína al ligando. A pesar de los distintos criterios de ranqueo que utilizan los distintos softwares se puede apreciar que en cuanto a la afinidad de PTP1B a los distintos ligandos el ligando que presenta menor afinidad es el AG, lo que indica que las modificaciones estructurales que se realizaron a los derivados fueron capaces de incrementar la afinidad a PTP1B de forma efectiva. En el caso específico del compuesto **4c**, se observa que tanto en AutoDock4 como en AutoDock Vina, es el compuesto que presenta la mayor energía de afinidad de todos los compuestos. En GOLD, representa el Gold score más alto y el segundo CHEMPLP score.

Tabla 1. Resultados de acoplamiento molecular					
Ligando	AutoDock 4		Autodock vina: Energía de afinidad Kcal/Mol	GOLD	
	Energía de afinidad Kcal/Mol	Tamaño de cluster		CHEMPLP score	GOLD score

AG	-7.05	100	-6.1	33.96	18.23
4a	-8.47	78	-7.7	58.8	43.1
4b	-8.8	53	-7.7	53.3	26.9
4c	-9.3	67	-7.9	59.2	44.04
4d	-8.2	100	-7.8	60.9	42.04

Los cuatro compuestos se comportaron de forma similar frente PTP1B, tomando una conformación espacial similar, tal como se puede apreciar en la figura 5.

For Educational Use Only

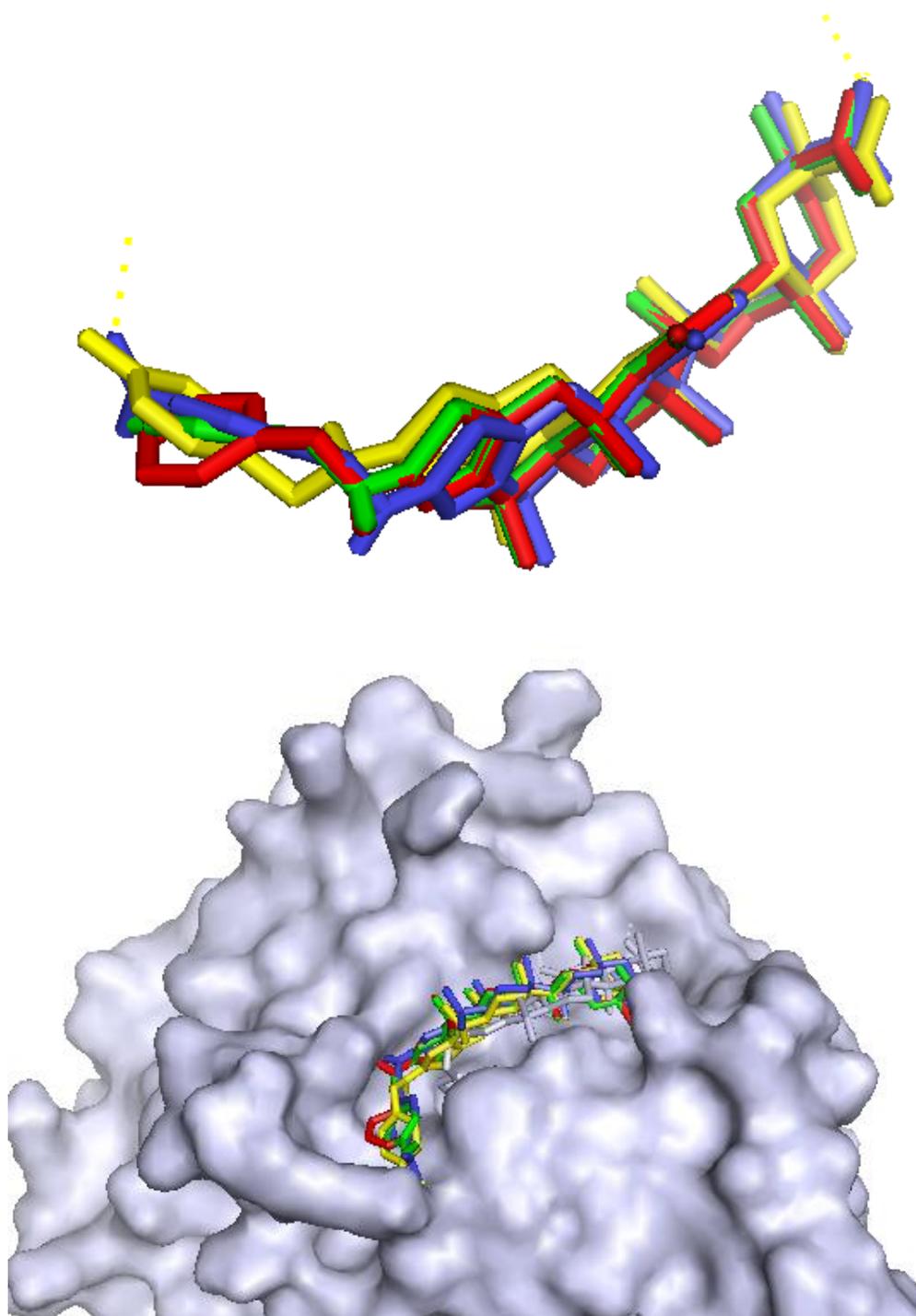


Figura 8. Pose de unión de los cuatro compuestos en la cavidad de PTP1B. **4a:** Rojo, **4b:** Verde, **4c:** Azul, **4d:** Amarillo.

7.1.2.1 Interacciones proteína-ligando

Ácido glicirretínico

El ácido glicirretínico, en la figura 9, se puede observar como entra en una cavidad de la PTP1B, en donde tiene interacciones especialmente con los residuos ALA 217 y GLN 262 con los que se forman puentes de hidrógeno, el segundo es con el carboxilato de la posición C20. Otras interacciones de interés son de tipo alquil con los residuos TYR 46, PHE 182.

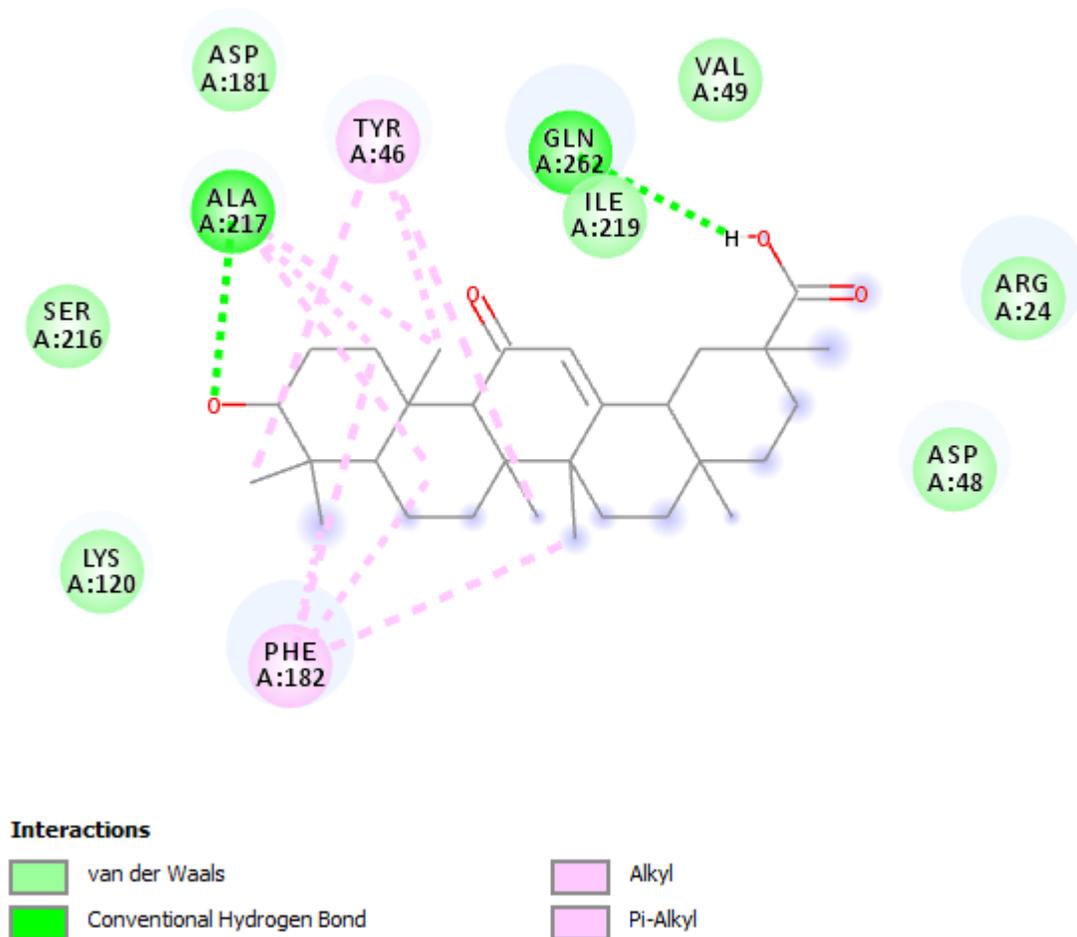


Figura 9. Acoplamiento molecular del AG, interacciones 2D.

Compuesto 4a

En la figura 10 se muestra el compuesto **4a**, el cual ingresa de forma similar al AG en una cavidad de la PTP1B. Sin embargo, gracias a las modificaciones estructurales se posiciona de mejor manera formando más interacciones; se mantiene el puente de hidrógeno del carboxilato de C20 en este caso con el residuo GLY 259 formando un puente de hidrógeno y con el residuo ARG 254 se forma un puente salino; se forman múltiples interacciones de tipo alquil el metilo en C20 con ARG 24, y el metilo en C13 con los residuos VAL 49, ALA 217, TYR 46, los últimos dos también interactúan con el ciclohexano al que se une el anillo de tiazol, en el cual se forma una interacción tipo pi-sulfur con el residuo PHE 182. Sin embargo, también se forma una interacción desfavorable entre el hidrógeno de la bencilamina y el residuo LYS 120.

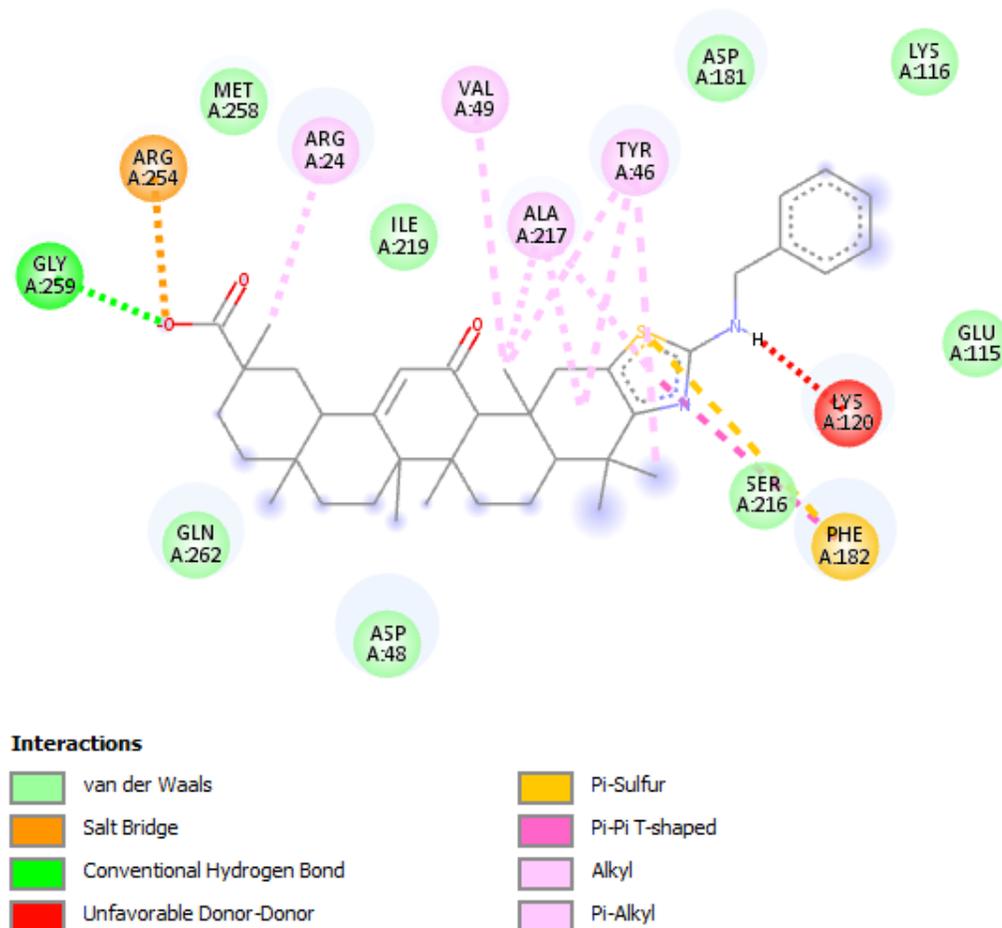


Figura 10. Acoplamiento molecular del compuesto **4a**: Izquierda, interacciones 2D

Compuesto 4b

En el compuesto **4b**, presenta interacciones con los mismos residuos en la misma forma que con el compuesto 4a, con excepción de las nuevas interacciones que se forman con las modificaciones estructurales, formándose una carga atractiva con el residuo ASP 181, con el benceno de la bencilamina sustituida, mientras que se forma un puente de hidrógeno entre el oxígeno sustituyente de la bencilamina y el residuo LYS 116.

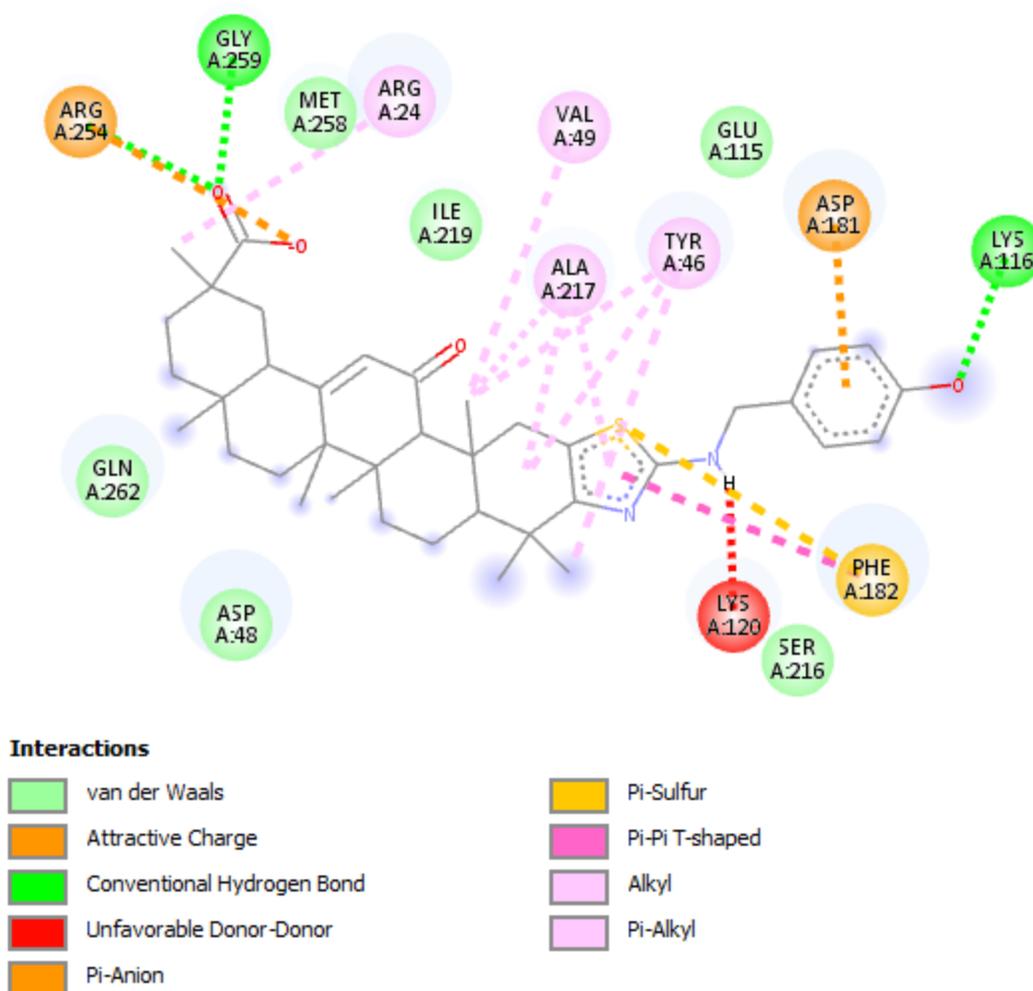


Figura 11. Acoplamiento molecular del compuesto 4b: interacciones 2D.

Compuesto 4c

El compuesto **4c** es el que tiene mejor energía de afinidad en autodock 4 y autodock vina, se inserta en la misma cavidad que los compuestos **4a** y **4b**, de forma tal que conserva en su mayoría las interacciones que forman, en el caso del compuesto **4c**, gracias a la formación de un puente salino con el carboxilato sustituyente de la bencilamina se permite una torción en la molécula evitando así la formación de la unión desfavorable donador-donador, que se forma con el nitrógeno de la bencilamina en los compuestos **4a** y **4b**.

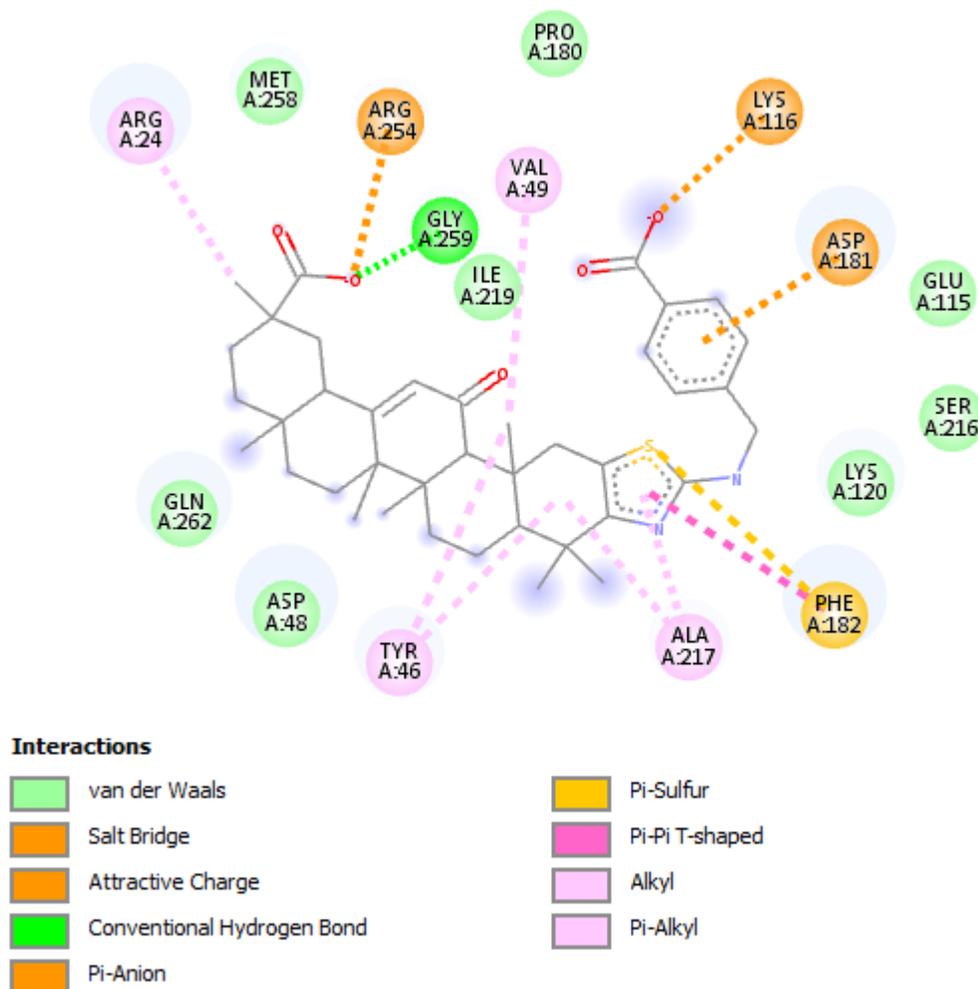


Figura 12. Acoplamiento molecular del compuesto 4c: derecha, interacciones 3D; izquierda, interacciones 2D.

Compuesto 4d

El compuesto **4d** (Figura 13) tiene como sustituyente un átomo flúor en el anillo bencílico, el cual forma un puente de hidrógeno tanto con el residuo LYS 116, como con ASP 181, que también interactúa con el benceno con una interacción tipo anión-pi; el residuo PHE 182 forma interacciones con cuatro puntos de la molécula: uno pi-sulfur con el azufre del anillo de tiazol, uno pi-pi con el anillo de tiazol, y dos interacciones tipo alquil con un metilo del ciclohexano así con el mismo hexano; En la interacción con los residuos ARG 254 y GLY 259, se forman un puente de hidrógeno con el carboxilo del carboxilato, a diferencia de los compuestos 4a, 4b y 4c en los cuales estos se forman con el oxígeno libre, en el caso del compuesto 4d, la carga negativa del oxígeno forma una interacción desfavorable con el residuo ASP 48.

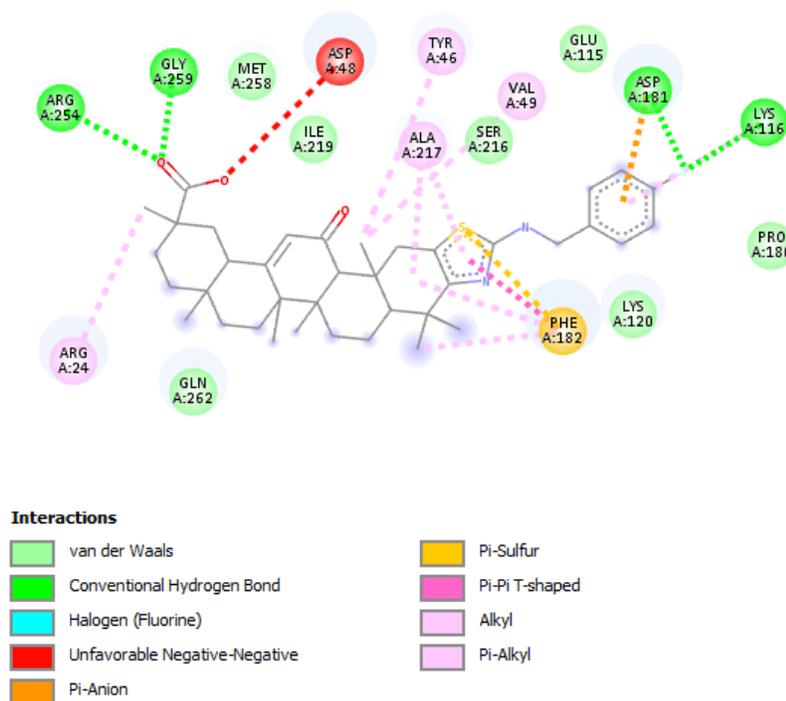


Figura 13. Acoplamiento molecular del compuesto 4d: interacciones 2D.

7.2 Dinámica molecular

Compuesto 4a:

El compuesto **4a** presenta una unión estable y sostenida con la proteína, en el sitio de unión seleccionado, como se demuestra en la gráfica de RMSD (Figura 14), en la cual el ligando no presenta cambios significativamente mayores que la proteína, también se puede observar que no se está generando un cambio conformacional de importancia en la proteína, en el RMSF (La fluctuación cuadrática media) se observa que son pocos los cambios que sufre la proteína, en cuanto al ligando el RMSF demuestra una alta variación en la conformación del ligando especialmente alta en la bencilamina; a pesar de la formación de múltiples interacciones con PTP1B, pocos de ellos son estables en el tiempo bajo las condiciones establecidas, siendo las interacciones que duran por más del 30% de la simulación, las que se forman entre el carbonilo y el residuo ARG 254, mientras que el residuo ARG 24, es capaz de formar un puente de hidrógeno con los dos oxígenos del carboxilato; el residuo PHE 182, forma una interacción de tipo hidrofóbica con la bencilamina, la cual se mantiene estable durante un 32% de la simulación (figura 15).

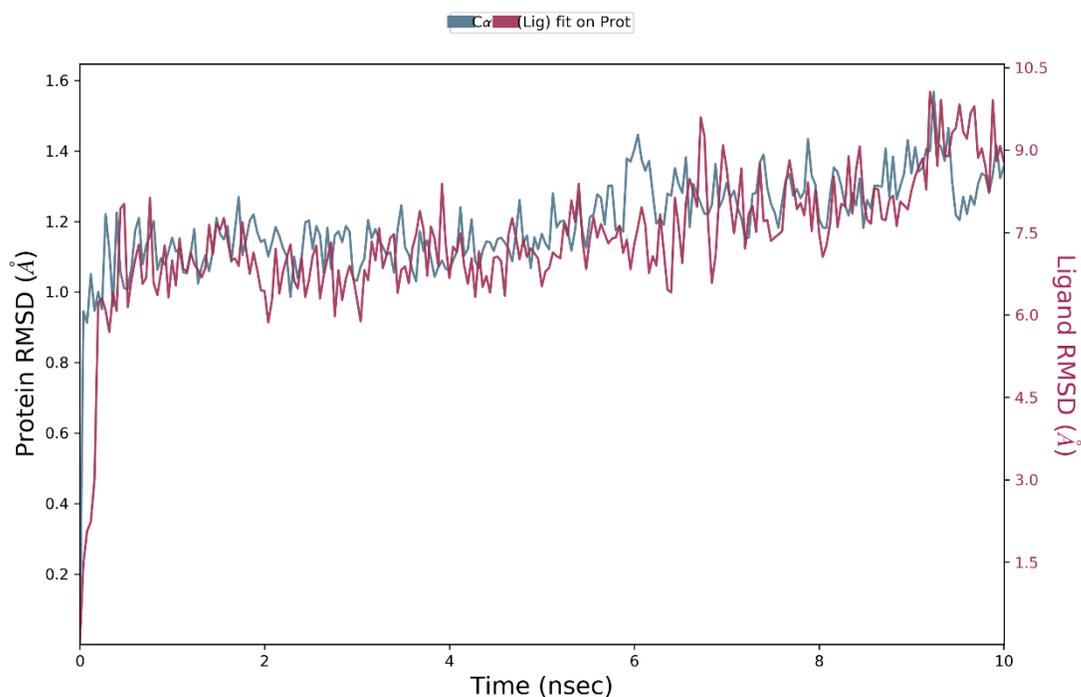


Figura 14. RMSD, azul representa los cambios en la proteína, el morado representa el ligando 4a.

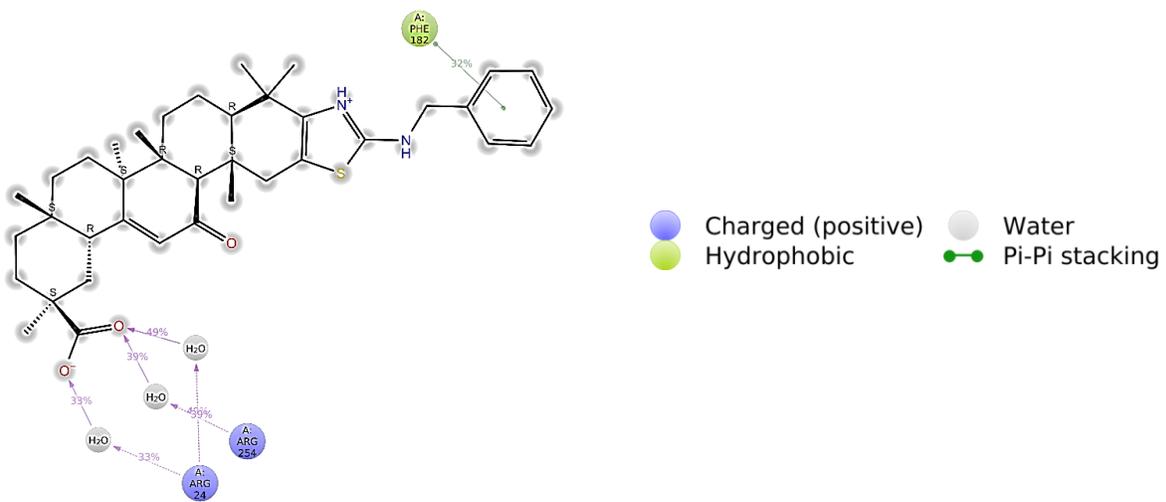
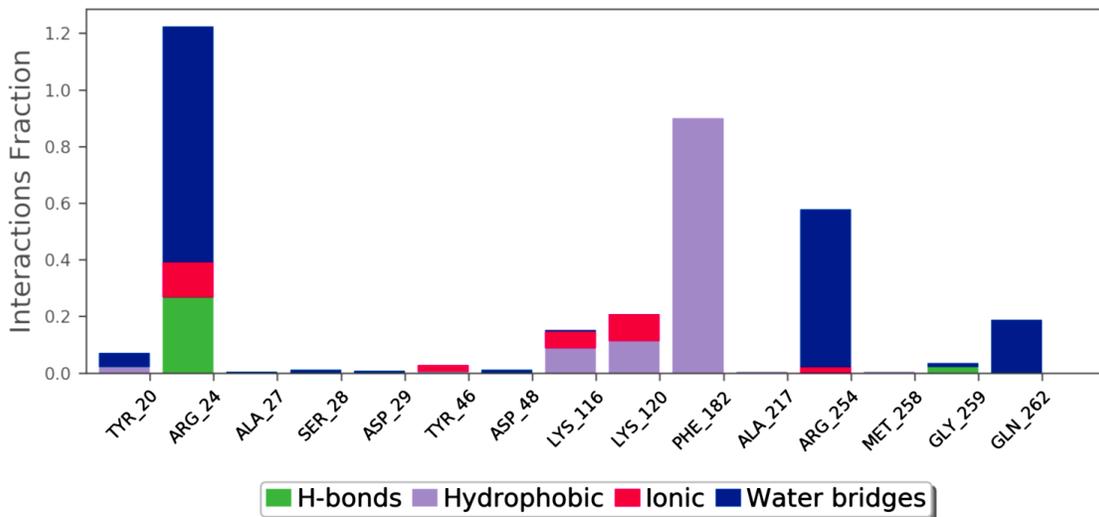
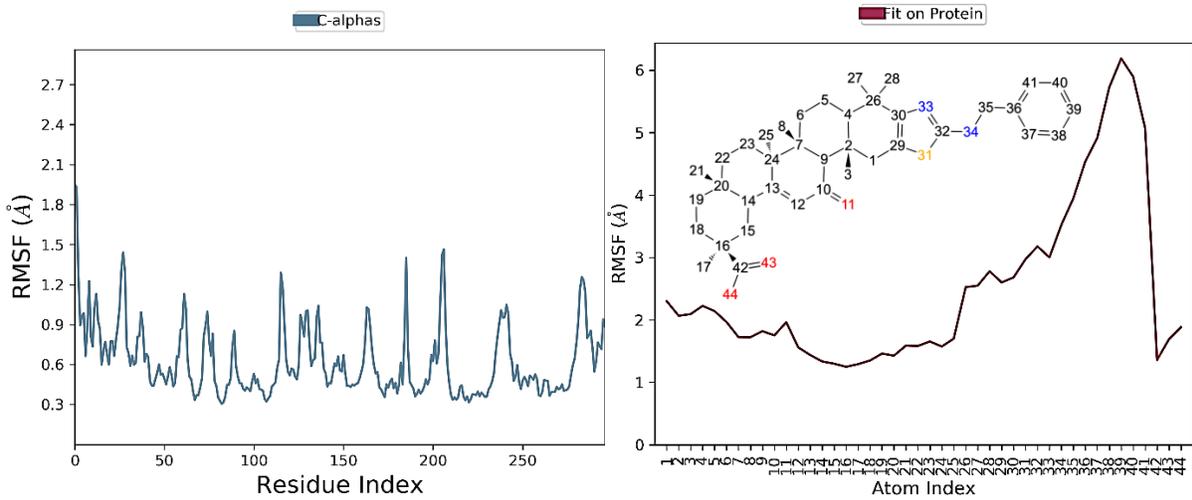


Figura 15. 1) RMSF de PTP1B. 2) RMSF del ligando 4a. 3). Residuos de mayor interacción 4) Interacciones y porcentaje de duración.

Compuesto 4b

El compuesto 4b, mostró una unión estable en la que el fármaco presentando una baja variabilidad conformacional (figura 16), al igual que el compuesto 4a, existe la formación de múltiples interacciones con residuos de la proteína PTP1B, sin embargo, la mayoría de estos no son estables durante la simulación en las condiciones estudiadas, las interacciones que son suficientemente estables para durar más del 30% de la simulación son: con al menos 99% de duración se forma un puente de hidrógeno entre el residuo ARG 254 y los dos oxígenos del carboxilato, junto a este residuo también interaccionan en el carbonilo los residuos GLN 262, con el cual la unión es por el 83% de la simulación, el residuo ARG 24 por un 41% y finalmente el residuo TRY 20 forma una interacción que permanece el 39% de la simulación; En el carbonilo del C14, se forma un puente con el agua que dura un 31% de la simulación (Figura 17).

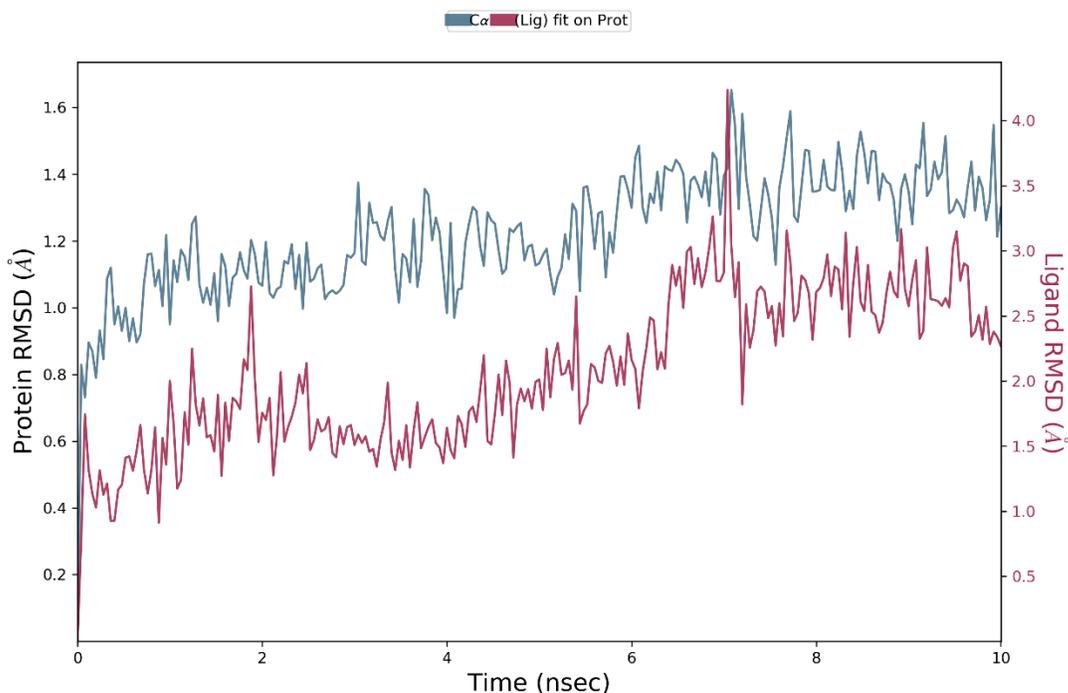


Figura 16. RMSD, azul representa los cambios en la proteína, el morado representa el ligando 4b.

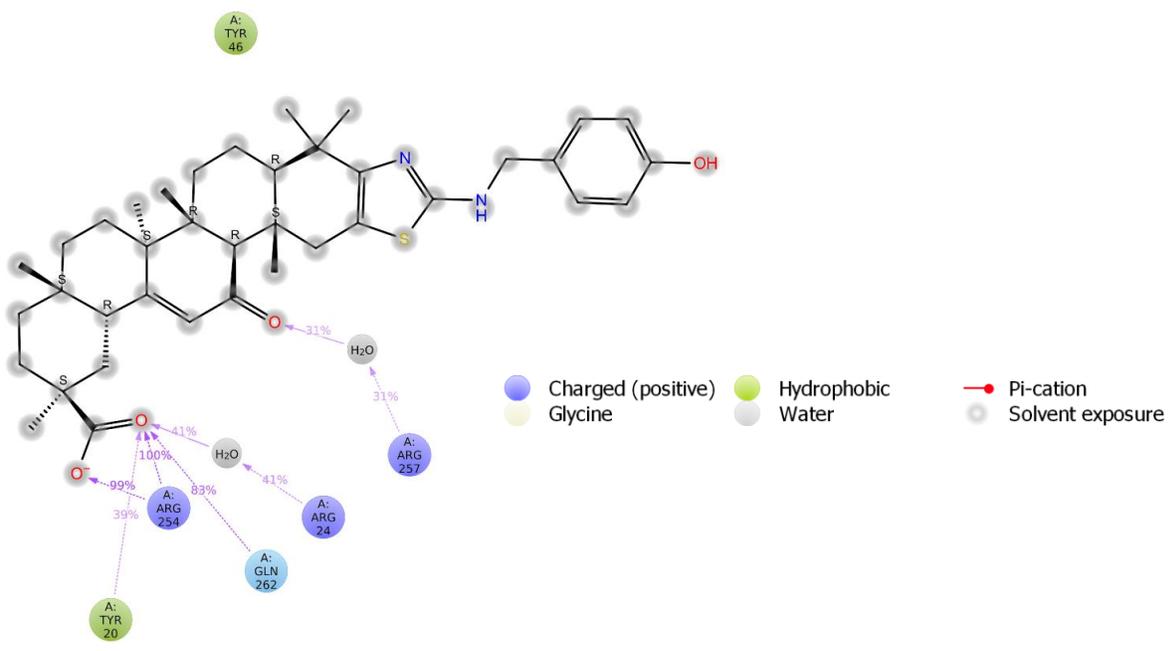
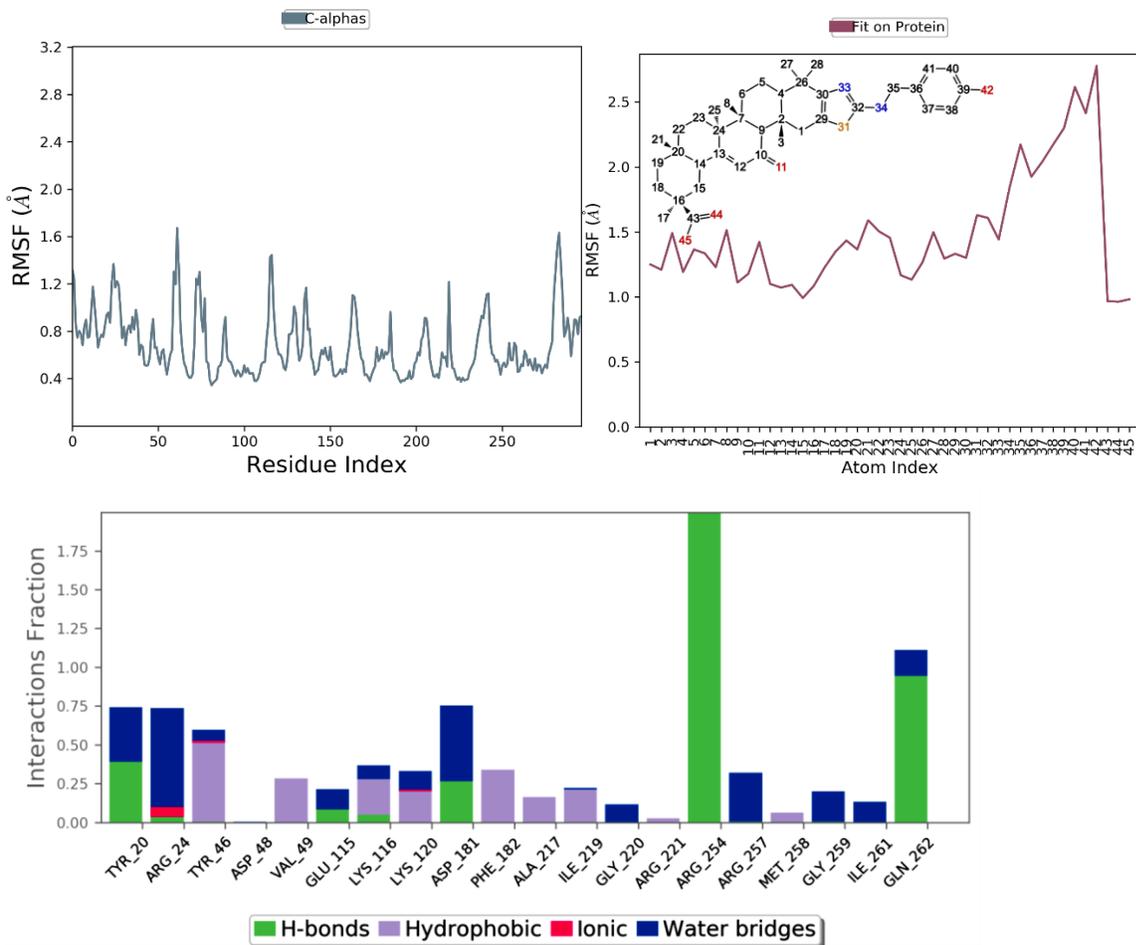


Figura 17. 1) RMSF de PTP1B. 2) RMSF del ligando 4b. 3). Residuos de mayor interacción 4) Interacciones y porcentaje de duración.

Compuesto 4 c

En el compuesto 4c, se puede observar que la unión es con el fármaco es estable (Figura 18); existen pocas fluctuaciones en la conformación de la proteína ya que no sufre un cambio conformacional, en cuanto al ligando los átomos que presentan una mayor actividad son los átomos de la bencilamina y del carboxilato de C2; sin embargo son los únicos que se mantiene por más del 30% del tiempo que dura la simulación, las interacciones formadas con el carboxilato, similar al compuesto 4b el residuo ARG 254 forma un puente de hidrógeno con ambos oxígenos del carboxilato, con una duración de más del 98% del tiempo, con el oxígeno también se forma un puente de hidrógeno que permanece durante el 95% del tiempo con el residuo GLN 262, y se forma un puente con agua con el residuo TYR 20, el cual se mantiene durante el 47% de la simulación, otro puente de agua se forma pero con el carbonilo, de este mismo carboxilato con el residuo GLY 259, este se mantiene estable durante el 47% del tiempo (Figura 19).

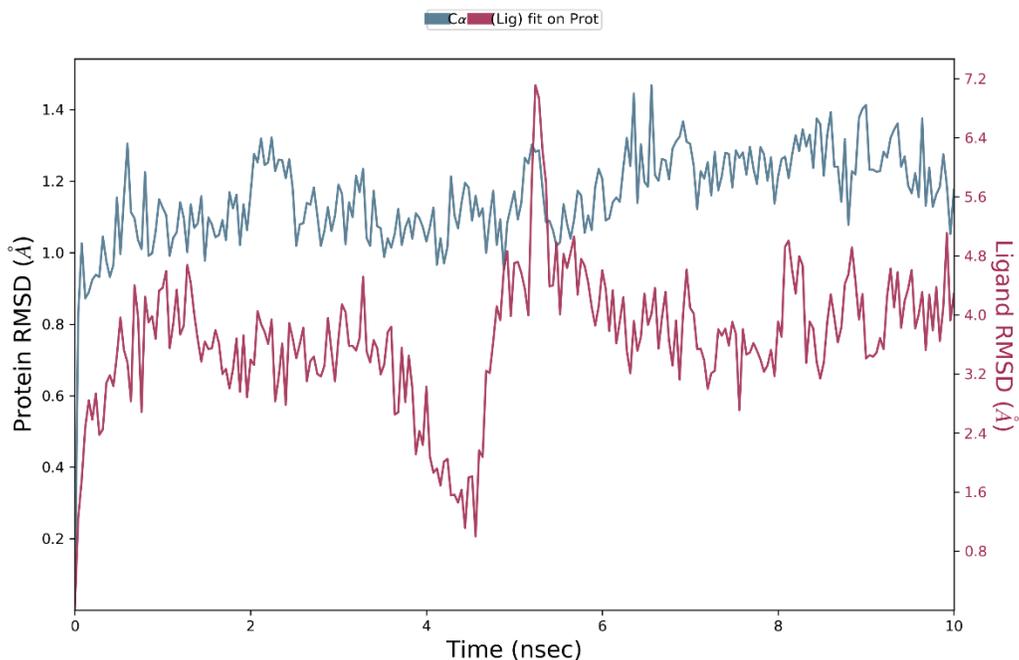


Figura 18. RMSD, azul representa los cambios en la proteína, el morado representa el ligando 4c.

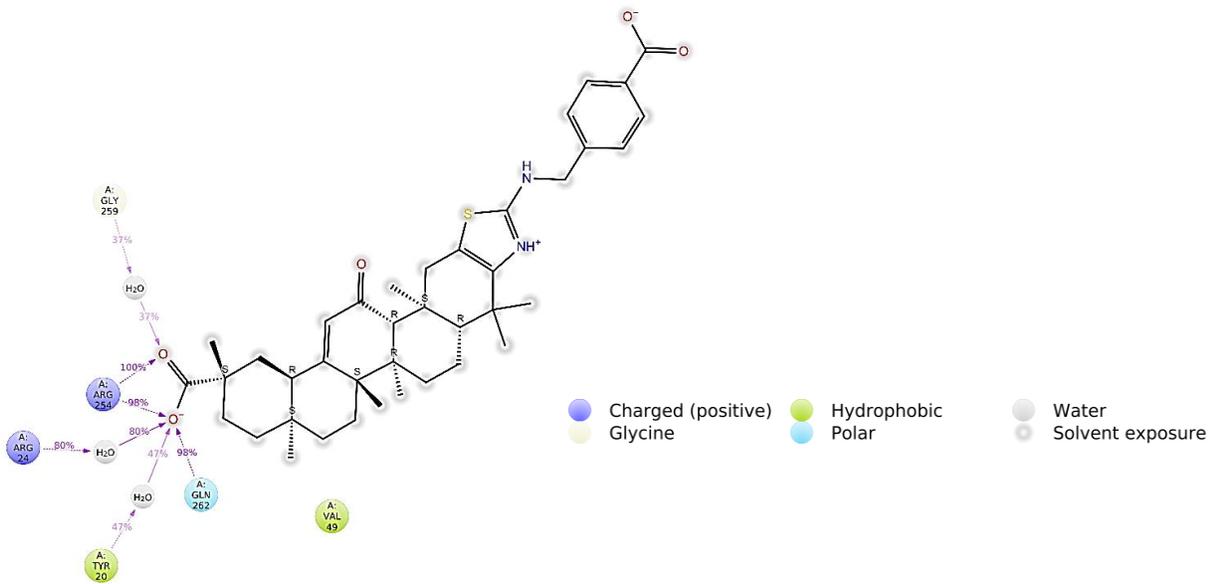
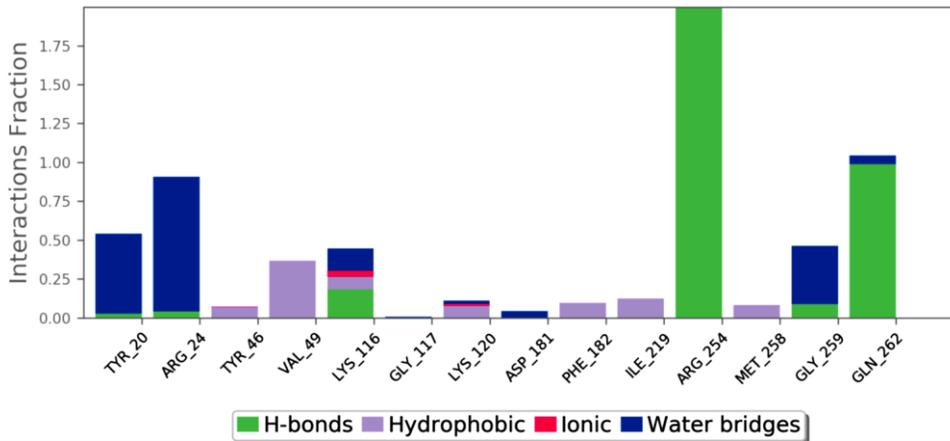
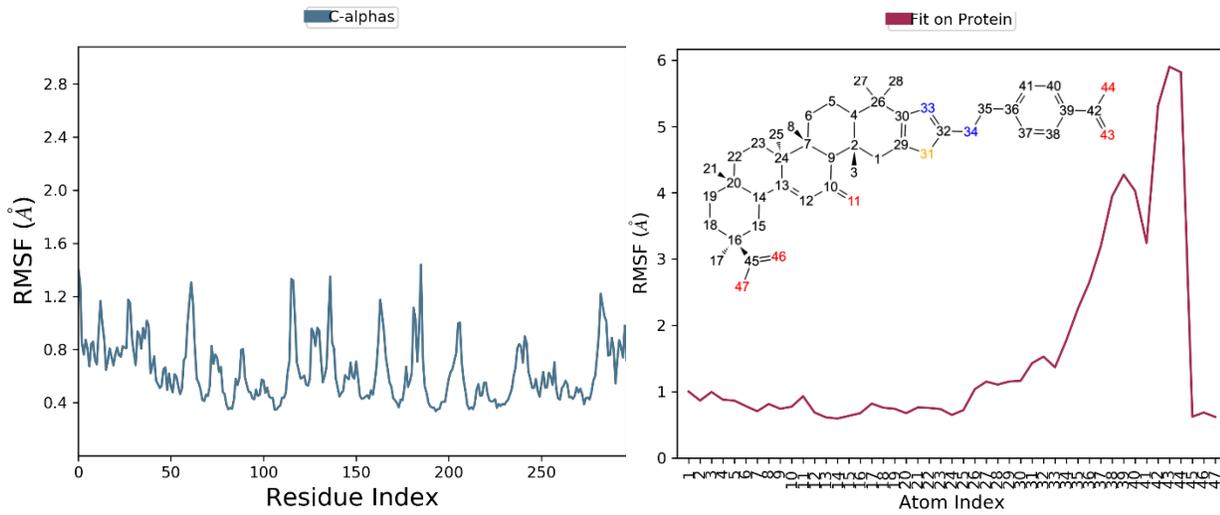


Figura 19. 1) RMSF de PTP1B. 2) RMSF del ligando 4c. 3). Residuos de mayor interacción 4) Interacciones y porcentaje de duración

Compuesto 4d

El compuesto 4d, forma interacciones estables con PTP1B (Figura 20), los cuales no causan un cambio conformacional, ni en la proteína ni en el ligando del cual la parte con mayor fluctuación así como en los compuestos anteriores es en la bencilamina, en el caso de 4d, además se puede observar que los átomos el carboxilato de C2 se mantiene estables, con poca fluctuación, esto es debido a que este es el compuesto que forma una mayor cantidad de interacciones suficientemente estables para perdurar por una proporción alta del tiempo de la simulación, esto se aprecia especialmente en el carboxilato, el residuo ARG 254 que forma puentes de hidrógeno con ambos oxígenos por más del 99% del tiempo, el residuo GLY 259, forma puentes de agua igualmente con ambos oxígenos pero por un tiempo de hasta el 80%, en el carbonilo a demás se forman otros dos puentes de agua con los residuos ARG 24 y TRY20, por 80% y 84% del tiempo respectivamente, el carbonilo en C14, también forma un puente de hidrógeno de gran estabilidad con el residuo GNL 262, que permanece unido por 95% del tiempo, mientras que en este compuesto existe una interacción hidrofóbica con el anillo de tiazol que es capaz de establecerse durante el 52% del tiempo (Figura 21).

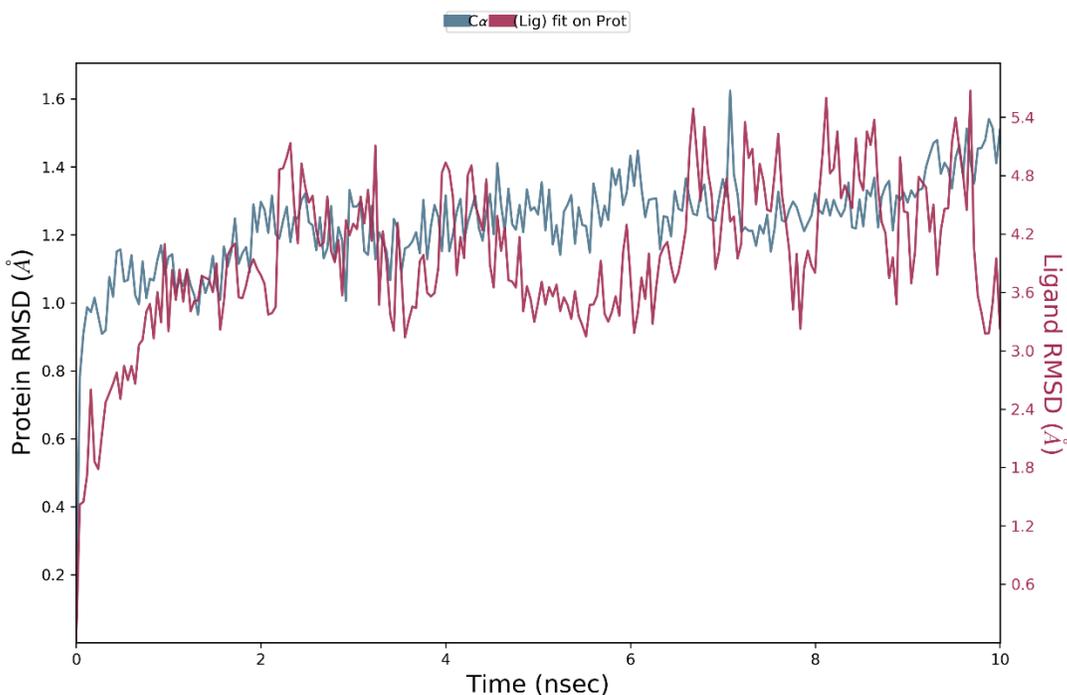


Figura 20. RMSD, azul representa los cambios en la proteína, el morado representa el ligando 4d

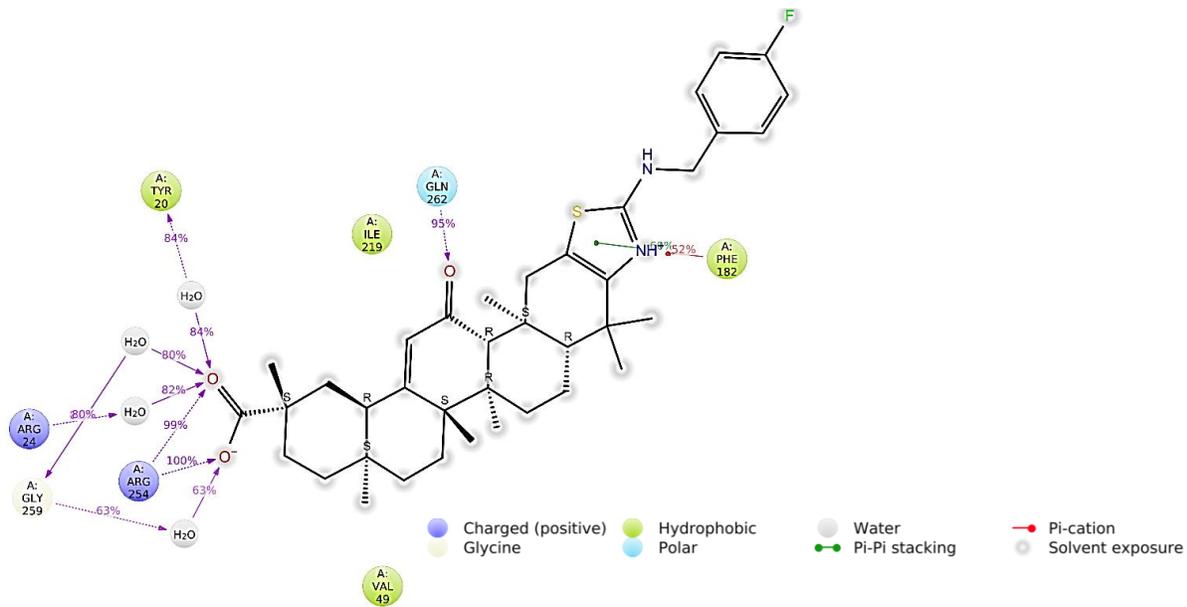
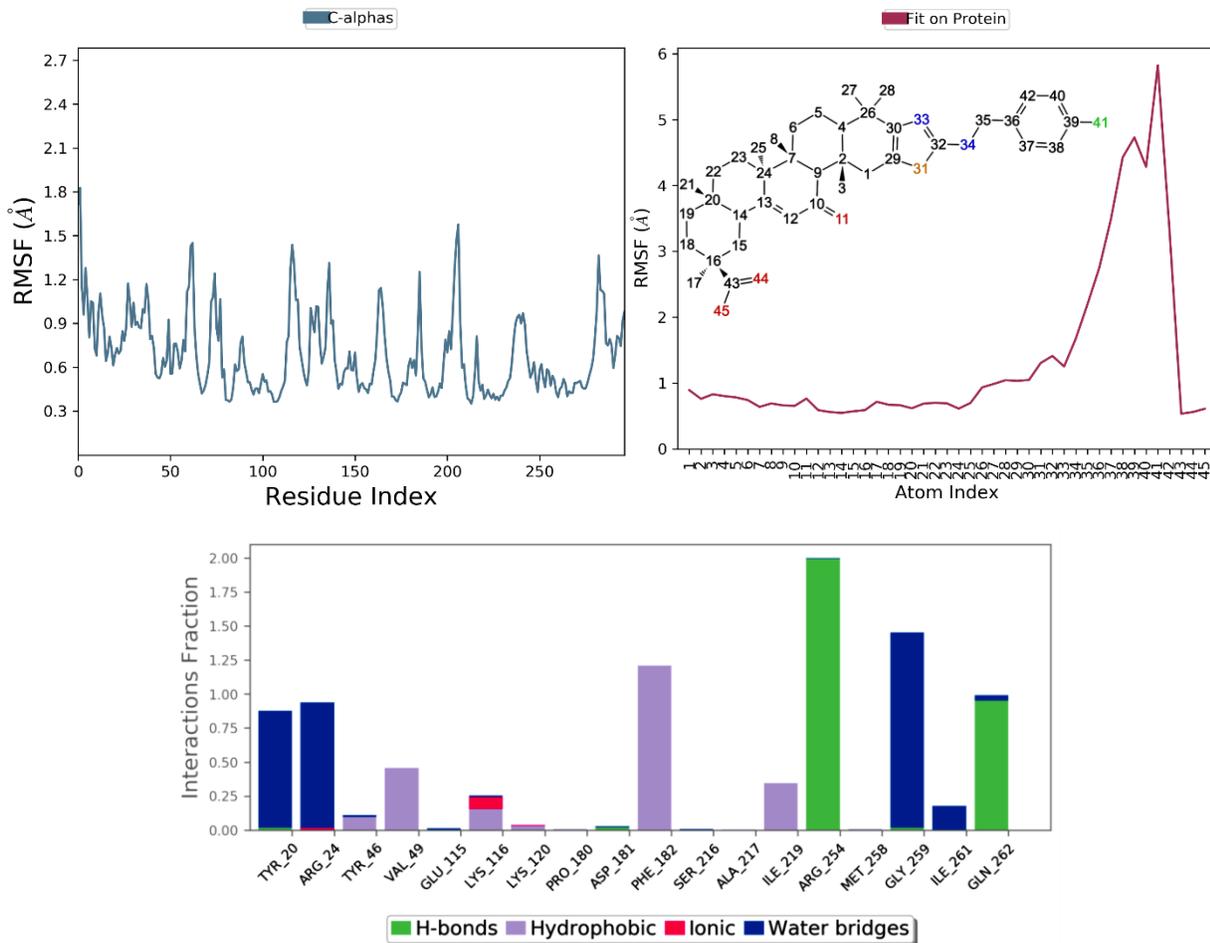


Figura 21. 1) RMSF de PTP1B. 2) RMSF del ligando 4a. 3). Residuos de mayor interacción 4) Interacciones y porcentaje de duración.

8. CONCLUSIÓN

Se realizaron estudios de acoplamiento molecular con tres softwares distintos: Autodock4, Autodock VINA y GOLD, así como la simulación por dinámica molecular, técnicas bioinformáticas con las que se demostró *in silico*, que los cuatro compuestos modelados son tienen una afinidad estable con la enzima PTP1B. De este estudio se observó que el compuesto **4c** es el que tiene el mejor perfil de afinidad en los estudios de acoplamiento molecular, sin embargo, la mayoría estas interacciones, si bien son importantes y con una fuerza de interés no demuestran y de estabilidad interacción a lo largo del tiempo evaluado en la dinámica molecular. Siendo el compuesto **4d** el que presenta las interacciones con mayor estabilidad en el tiempo, en condiciones similares a las fisiológicas.

9. REFERENCIAS.

1. Abedini, M. R., Bijari, B., Miri, Z., Emampour, F. S., & Abbasi, A. (2020). The quality of life of the patients with diabetes type 2 using EQ-5D-5 L in Birjand. *Health and Quality of Life Outcomes*, 18(1), 18.
2. Almanza-Pérez, J. C., Blancas-Flores, G., García-Macedo, R., & y Miguel, F. J. A. A. (2008). Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *J. Gaceta medica de México*, 144(6), 535-542.
3. Akbar, S. (2020). *Glycyrrhiza glabra* L.(Fabaceae/Leguminosae). In *Handbook of 200 Medicinal Plants* (pp. 963-980). Springer, Cham.
4. Bansode, M. S., Tambe, B., & Tiwari, K. J (2020.) *Traditional Medicines – Sources and Clinical Applications* . *International Journal of PharmaO2*.
5. Barca, G. M., Bertoni, C., Carrington, L., Datta, D., De Silva, N., Deustua, J. E., & Harville, T. (2020). Recent developments in the general atomic and molecular electronic structure system. *The Journal of Chemical Physics*, 152(15), 154102.
6. Bence, K. K., Delibegovic, M., Xue, B., Gorgun, C. Z., Hotamisligil, G. S., Neel, B. G., & Kahn, B. B. (2006). Neuronal PTP1B regulates body weight, adiposity and leptin action. *Nature medicine*, 12(8), 917-924.

7. BIOVIA, Dassault Systèmes, [Discovery Studio], [Version 2019], San Diego: Dassault Systèmes, (2019).
8. Butler, M. S. (2008). Natural products to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. *Natural product reports*, 25(3), 475-516.
9. Bustamante, G., & Castellón Alcoreza, D. G. (2014). Nutrición en Diabetes Mellitus. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 42, 2208.
10. Cerón-Romero, L., Paoli, P., Camici, G., Flores-Morales, V., Rios, M. Y., Ramírez-Espinosa, J. J., ... & Estrada-Soto, S. (2016). In vitro and in silico PTP-1B inhibition and in vivo antidiabetic activity of semisynthetic moronic acid derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 26(8), 2018-2022.
11. Cho, H. (2013). Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) and obesity. In *Vitamins & Hormones* (Vol. 91, pp. 405-424). Academic Press.
12. Choy, M. S., Li, Y., Machado, L. E., Kunze, M. B., Connors, C. R., Wei, X., ... & Peti, W. (2017). Conformational rigidity and protein dynamics at distinct timescales regulate PTP1B activity and allostery. *Molecular cell*, 65(4), 644-658.
13. Craig, M. E., Hattersley, A., & Donaghue, K. C. (2009). Definition, epidemiology and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatric diabetes*, 10, 3-12.
14. Dabelea, D., & Klingensmith, G. J. (2008). *Epidemiology of pediatric and adolescent diabetes*. New York: Informa Healthcare.
15. Dadke, S., Kusari, A., & Kusari, J. (2001). Phosphorylation and activation of protein tyrosine phosphatase (PTP) 1B by insulin receptor. *Molecular and cellular biochemistry*, 221(1-2), 147-154.
16. Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-molecule library screening by docking with PyRx. In *Chemical biology* (pp. 243-250). Humana Press, New York, NY.
17. DeAngelo, L., PhD, Kalumuck, K. E., PhD, & Adlin, E. V., MD. (2020). *Obesity*. Magill's Medical Guide (Online Edition)
18. DeFronzo, R. A. (2004). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical Clinics*, 88(4), 787-835.
19. Donath, M. Y., & Shoelson, S. E. (2011). Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(2), 98-107.

20. Fadayevatan, R., Bahrami, M., Mohamadzadeh, M., & Borhaninejad, V. (2020). Relationship of Sleep Quality with Mental Health and Blood Sugar Control in Elderly People with Diabetes Mellitus. *Iranian Journal of Ageing*, 14(4), 380-391.
21. Gaborit, F. S., Kistorp, C., Kümler, T., Hassager, C., Tønder, N., Iversen, K., ... & Schou, M. (2020). Early Stages of Obesity-related Heart Failure Are Associated with Natriuretic Peptide Deficiency and an Overall Lack of Neurohormonal Activation: The Copenhagen Heart Failure Risk Study. *Global Heart*, 15(1).
22. Gallwitz, B. (2005). New therapeutic strategies for the treatment of type 2 diabetes mellitus based on incretins. *The review of diabetic studies*, 2(2), 61.
23. Soto, N. G. (2007). Leptina. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 15(3), 132-137. García, A. Á., & Carril, E. P. U. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (biología)*, 2(3).
24. Gorska, E., Popko, K., Stelmaszczyk-Emmel, A., Ciepiela, O., Kucharska, A., & Wasik, M. (2010). Leptin receptors. *European journal of medical research*, 15(S2), 50.
25. González, N. A., & Mederos, A. G. (2019). La obesidad. Clasificación. Causas que la provocan. Consecuencias para la salud. Medidas para combatirla. *Anatomía Digital*, 2(3), 18-33.
26. Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J. P., & Reynoso-Noverón, N. (2013). Diabetes mellitus en México: El estado de la epidemia. *Salud pública de México*, 55, s129-s136.
27. Hernández-Díaz, A., Arana-Martínez, J. C., Carbó, R., Espinosa-Cervantes, R., & Sánchez-Muñoz, F. (2016). Omentina: papel en la resistencia a la insulina, inflamación y protección cardiovascular. *Archivos de cardiología de México*, 86(3), 233-243.
28. Huey, R., Morris, G. M., Olson, A. J. and Goodsell, D. S. (2007), A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation *J. Computational Chemistry*, 28: 1145-1152.
29. Hussain, H., Green, I. R., Abbas, G., Adekenov, S. M., Hussain, W., & Ali, I. (2019). Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors as potential anti-

- diabetes agents: patent review (2015-2018). *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 29(9), 689-702.
30. International Diabetes Federation (2019) *IDF diabetes atlas*, 9th edn. International Diabetes Federation, Brussels.
 31. INEGI (2020), comunicado de prensa 61/25.
 32. Jiménez, G. S., Ducoing, H. P., & Sosa, M. R. (2003). La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, 21(3), 355-363.
 33. Kahn, S. E., Hull, R. L., & Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840-846.
 34. Krieger, E., Joo, K., Lee, J., Lee, J., Raman, S., Thompson, J., ... & Karplus, K. (2009). Improving physical realism, stereochemistry, and side-chain accuracy in homology modeling: Four approaches that performed well in CASP8. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 77(S9), 114-122.
 35. Krieger, E., & Vriend, G. (2014). YASARA View—molecular graphics for all devices—from smartphones to workstations. *Bioinformatics*, 30(20), 2981-2982.
 36. Lessard, L., Stuiblé, M., & Tremblay, M. L. (2010). The two faces of PTP1B in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1804(3), 613-619.
 37. Li, X., Wang, L., & Shi, D. (2016). The design strategy of selective PTP1B inhibitors over TCPTP. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 24(16), 3343-3352.
 38. Liu, Y., Zhang, Q., Zhao, G., Liu, G., & Liu, Z. (2020). Deep Learning-Based Method of Diagnosing Hyperlipidemia and Providing Diagnostic Markers Automatically. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, 679.
 39. Lysiuk, R. M., & Mboya, J. M. (2019). Search for Promising Plant Extracts and Active Principles to Prevent and Treat Diabetic Nephropathy. *Austin J Plant Biol*, 5(1), 1022.
 40. Mao, S. W., Shuai, L., He, H. B., Pan, N., Gao, L. X., Yu, L. F., ... & Yang, F. (2015). Synthesis and biological evaluation of novel 2, 3-pyrazole ring-substituted-4, 4-dimethyl lithocholic acid derivatives as selective protein tyrosine

- phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors with cellular efficacy. *RSC advances*, 5(129), 106551-106560.
41. Matarese, G., Moschos, S., & Mantzoros, C. S. (2005). Leptin in immunology. *The Journal of Immunology*, 174(6), 3137-3142.
42. Myers, M. G., Cowley, M. A., & Münzberg, H. (2008). Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu. Rev. Physiol.*, 70, 537-556.
43. Na, M., Cui, L., Min, B. S., Bae, K., Yoo, J. K., Kim, B. Y., ... & Ahn, J. S. (2006). Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of triterpenes isolated from *Astilbe koreana*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(12), 3273-3276.
44. Nathan, D. M., Buse, J. B., Davidson, M. B., Ferrannini, E., Holman, R. R., Sherwin, R., & Zinman, B. (2009). Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes care*, 32(1), 193-203.
- McCarthy, M. I. (2010). Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *New England Journal of Medicine*, 363(24), 2339-2350.
45. Meng, G., Zheng, M., Wang, M., Tong, J., Ge, W., Zhang, J., ... & Li, J. (2016). Design and synthesis of new potent PTP1B inhibitors with the skeleton of 2-substituted imino-3-substituted-5-heteroarylidene-1, 3-thiazolidine-4-one: Part I. *European journal of medicinal chemistry*, 122, 756-769.
46. Miyamoto, T., Watanabe, K., Fukuda, K., & Moritani, T. (2020). Near-infrared Spectroscopy of Vastus Lateralis Muscle during Incremental Cycling Exercise in patients with Type 2 Diabetes. *Physical Therapy Research*, E9984.
47. Moharana, K., Zabeau, L., Peelman, F., Ringler, P., Stahlberg, H., Tavernier, J., & Savvides, S. N. (2014). Structural and mechanistic paradigm of leptin receptor activation revealed by complexes with wild-type and antagonist leptins. *Structure*, 22(6), 866-877.
48. National Center for Biotechnology Information (2020). PubChem Compound Summary for CID 9917968, Trodusquemine. Retrieved October 7, 2020 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Trodusquemine>.

49. Ortega Gómez, M. C., & León Marín, J. D. (2019). Factores asociados con obesidad y síndrome metabólico 2000-2019 (Doctoral dissertation, Universidad Santiago de Cali).
50. Papadatos, G., Gaulton, A., Hersey, A., & Overington, J. P. (2015). Activity, assay and target data curation and quality in the ChEMBL database. *Journal of computer-aided molecular design*, 29(9), 885-896.
51. Paracchini, V., Pedotti, P., & Taioli, E. (2005). Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. *American journal of epidemiology*, 162(2), 101-114.
52. Patwardhan, B., Vaidya, A. D., & Chorghade, M. (2004). Ayurveda and natural products drug discovery. *Current science*, 789-799.
53. Qiu, W. W., Shen, Q., Yang, F., Wang, B., Zou, H., Li, J. Y., ... & Tang, J. (2009). Synthesis and biological evaluation of heterocyclic ring-substituted maslinic acid derivatives as novel inhibitors of protein tyrosine phosphatase 1B. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 19(23), 6618-6622.
54. Ravelo, A. G., & Braun, A. E. (2009). Relevancia de los productos naturales en el descubrimiento de nuevos fármacos en el s. XXI. *Rev. Real Acad. Cienc. Exactas Físicas Nat*, 103, 409-420.
55. Ravichandran, L. V., Chen, H., Li, Y., & Quon, M. J. (2001). Phosphorylation of PTP1B at Ser50 by Akt impairs its ability to dephosphorylate the insulin receptor. *Molecular endocrinology*, 15(10), 1768-1780.
56. Rivera, J., Colchero, A., Fuentes, M., González de Cosío, T., Aguilar, S., Hernández, G. & Barquera, S.. (2018). Obesidad en México. Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control. México: Instituto Nacional de Salud Pública
57. Rojas-Martínez, R., Basto-Abreu, A., Aguilar-Salinas, C. A., Zárate-Rojas, E., Villalpando, S., & Barrientos-Gutiérrez, T. (2018). Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo en México. *salud pública de México*, 60, 224-232.
58. Regalíz A. S. (2006). *Metas de enfermería*, 9(1), 56-57.
59. Seong, S. H., Nguyen, D. H., Wagle, A., Woo, M. H., Jung, H. A., & Choi, J. S. (2019). Experimental and Computational Study to Reveal the Potential of Non-

- Polar Constituents from *Hizikia fusiformis* as Dual Protein Tyrosine Phosphatase 1B and α -Glucosidase Inhibitors. *Marine drugs*, 17(5), 302.
60. Schrödinger Release 2020-4: Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2020.
61. Sweeney, G. (2002). Leptin signalling. *Cellular signalling*, 14(8), 655-663.
62. Tiganis, T. (2013). PTP1B and TCPTP—nonredundant phosphatases in insulin signaling and glucose homeostasis. *The FEBS journal*, 280(2), 445-458.
63. UCSF Chimera a visualization system for exploratory research and analysis. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. *J Comput Chem*. 2004 Oct;25(13):1605-12.
64. Uргаonkar, S., La Pierre, H. S., Meir, I., Lund, H., RayChaudhuri, D., & Shaw, J. T. (2005). Synthesis of antimicrobial natural products targeting FtsZ:(\pm)-dichamanetin and (\pm)-2 “-hydroxy-5 “-benzylisouvarinol-B. *Organic letters*, 7(25), 5609-5612.
65. Wang, L. J., Jiang, B., Wu, N., Wang, S. Y., & Shi, D. Y. (2015). Natural and semisynthetic protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitors as anti-diabetic agents. *RSC Advances*, 5(60), 48822-48834.
66. Yamaguchi, H., Noshita, T., Yu, T., Kidachi, Y., Kamiie, K., Umetsu, H., & Ryoуama, K. (2010). Novel effects of glycyrrhetic acid on the central nervous system tumorigenic progenitor cells: Induction of actin disruption and tumor cell-selective toxicity. *European journal of medicinal chemistry*, 45(7), 2943-2948.
67. Yun, J. H., Lee, H. S., Yu, H. Y., Kim, Y. J., Jeon, H. J., Oh, T., ... & Kim, J. M. (2019). Metabolomics profiles associated with HbA1c levels in patients with type 2 diabetes. *Plos one*, 14(11), e0224274.
68. Yip, S. C., Saha, S., & Chernoff, J. (2010). PTP1B: a double agent in metabolism and oncogenesis. *Trends in biochemical sciences*, 35(8), 442-449.
69. Zhang, F., Chen, Y., Heiman, M., & DiMarchi, R. (2005). Leptin: structure, function and biology. *Vitamins & Hormones*, 71, 345-372.
- Zígolo, M. A. (2017). Lipasas como biocatalizadores en la síntesis de derivados de ácidos biliares, fenilacéticos sustituidos y glicirretínico.