



Universidad Autónoma Metropolitana

Unidad Xochimilco

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

Protocolo de Servicio Social

Búsqueda y evaluación de inhibidores de la enzima DPP-4 mediante cribado virtual para el tratamiento de la diabetes tipo 2

Presenta:

Bruno Uriel Ortega Castrejón

Matricula:

2223059007

Periodo del servicio social:

28 de enero – 4 de septiembre del 2026

Asesor interno

Dr. Juan Francisco Cortés Benítez
42603

Departamento de sistemas biológicos
Universidad Autónoma Metropolitana –
Unidad Xochimilco

Asesor externo

Dr. Martín González Andrade
6313477

Laboratorio de Biosensores y Modelaje
Molecular
Universidad Nacional Autónoma de
México

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco por brindarme la oportunidad de aprender con docentes expertos en la química orgánica, computacional y molecular; usar sus instalaciones de enseñanza, como los salones y los laboratorios; por todos sus materiales y software como YASARA, GOLD, ChemDraw. Asimismo, las bases de datos para la búsqueda de artículos. También por enfrentarme reiteradamente a la adaptación personal.

Agradezco al Laboratorio de Supercómputo y Visualización en Paralelo de la Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa (UAM-I), donde se realizaron los estudios de dinámica molecular.

Agradezco al Dr. Juan Francisco Cortés Benítez por instruirme en una rama de la química que poco conocía, por su guía, paciencia y asertividad a lo largo de este trabajo. Toda esta investigación no habría llegado a ser tan completa si no fuera por su curiosidad y sus años de experiencia. Debo confesar que me beneficié de todo su conocimiento, docencia y entusiasmo, los cuales empleare en el presente y en el futuro.

Al Dr. Martín González Andrade, por aceptarme en su laboratorio en la UNAM para las pruebas biológicas y por compartir conmigo su perspectiva sobre el aprendizaje continuo.

A la Dra. Nathaly Vasquez Martínez, por su gran paciencia y calidez al enseñar términos químicos y técnicas para realizar las pruebas biológicas. Su capacidad de análisis y organización es algo que debo de admirar, y espero poder igualar algún día.

A mis compañeros del laboratorio N015, por ayudarme a resolver dudas y por brindarme nuevas perspectivas sobre cualquier tema de la vida. Agradezco mucho su amabilidad y compañerismo para integrarme, aun con poca concurrencia en el laboratorio.

A mi familia y a mis amigos por motivarme a seguir aprendiendo, sin importar las circunstancias de la vida.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	4
2. ANTECEDENTES	4
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN	11
4. OBJETIVO GENERAL	11
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
5. MATERIALES Y MÉTODOS	11
5.1 <i>Acoplamiento molecular.....</i>	12
5.2 <i>Dinámica molecular.....</i>	12
5.3 <i>Ensayo de actividad enzimática.....</i>	12
5.4 <i>Definición de la concentración de enzima y de sustrato</i>	13
5.5 <i>Determinación de Cl_{50}.....</i>	13
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	13
6.1 <i>Acoplamiento molecular.....</i>	13
6.2 <i>Dinámica molecular.....</i>	16
6.3 <i>Actividad Inhibitoria sobre la enzima DPP-4.....</i>	24
7. CONCLUSIÓN	26
8. REFERENCIAS	27
9. ANEXO	32

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es un trastorno metabólico crónico que afecta a millones de personas en el mundo. En 2024 se contabilizaron 589 millones de adultos entre 20 y 79 años con diabetes, y se estiman 852.5 millones afectados para el 2050 (International Diabetes Federation, 2025). Existen dos tipos primarios de diabetes: la diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) o dependiente de insulina, y la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) o no insulino-dependiente. La DMT2 es el tipo más común, abarcando al 90% de la población mundial afectada (International Diabetes Federation, 2025). Se caracteriza por un estado de hiperglucemia debido a una deficiencia o resistencia a la insulina y a una desregulación del glucagón. A causa de un diagnóstico tardío o un mal tratamiento se pueden desarrollar una serie de complicaciones en los sistemas cardíaco, ocular, metabólico, renal y/o neuronal (Bayanati et al., 2024; Tuersun et al., 2024).

Dentro de las terapias para el control glucémico, los inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4), o mejor conocidos como “gliptinas”, mostraron un control efectivo de la hiperglucemia, seguros y con buena tolerancia, volviéndose un foco de atención (Yin et al., 2022). Esta clase de antidiabéticos mejora la acción de las incretinas al inhibir la degradación del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y del péptido insulínotropo dependiente de glucosa (GIP), prolongando su vida media, lo que aumenta la secreción de insulina, disminuye la liberación de glucagón y mejora el control glucémico. De igual manera, ayudan a preservar la función de las células β y disminuir la progresión de la DMT2 (Bayanati et al., 2024).

En este trabajo se pretende identificar inhibidores de la enzima DPP-4 mediante un cribado virtual que emplea acoplamiento y dinámica molecular, con el propósito de obtener una nueva molécula para el tratamiento de esta enfermedad crónica.

2. ANTECEDENTES

La diabetes mellitus es una condición metabólica crónica degenerativa caracterizada por hiperglucemia causada por la ausencia en la secreción de insulina, resistencia en acción o ambas, debido a esto se presentan dos tipos principales: tipo 1 y tipo 2, siendo el último tipo la más común abarcando a un 90% de la población mundial afectada (Antar et al., 2023). La DMT2 tiene una patogenicidad multifactorial donde la genética, estilo de vida, y estado de salud son los principales factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad (Strati et al., 2024; Su et al., 2023). Es una condición que afecta al tejido adiposo, a los huesos, a los músculos y al hígado debido a la resistencia a la insulina y a la progresiva disfunción de las células β pancreáticas (Jerez Fernández et al., 2022). Su diagnóstico tardío o mal tratamiento conlleva al desarrollo de complicaciones severas como enfermedad renal, retinopatía, neuropatía, enfermedad cardiovascular, obesidad y desórdenes neurodegenerativos (Bayanati et al., 2024; Cervantes & Baptista, 2024; International Diabetes Federation, 2025). Esta condición afectó a 589 millones de adultos entre 20 y 79 años en el 2024 y se estima que en 2050 afectará a un total de 852.5 millones de personas. México es el octavo país con mayor número de afectados por esta condición con un total de 13.6 millones en 2024 y se proyectan 19.9 millones para el 2050 (Cervantes & Baptista, 2024; International Diabetes Federation, 2025).

Diversos fármacos hipoglucemiantes se han empleado para el tratamiento de la DMT2 como las sulfonilureas, inhibidores de la α -glucosidasa, tiazolidinedionas, inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 y biguanidas (Bayanati et al., 2024; International Diabetes Federation, 2025; Yin et al., 2022). Sin embargo, estos tratamientos presentan efectos adversos como ganancia de peso, problemas gastrointestinales e hipoglucemia. Debido a estos efectos, se han buscado nuevas terapias para mejorar el control a largo plazo; así, los inhibidores de la DPP-4 se volvieron foco de atención por su demostrada eficacia, seguridad y tolerancia, aunados a su esquema terapéutico de 1 vez al día y su acción en la regeneración y diferenciación de las células β pancreáticas (Bayanati et al., 2024; Kalra et al., 2024). Su mecanismo de acción permite que el GLP-1 y GIP no sean degradados y mantengan así sus efectos en el organismo, el GLP-1 incrementa la secreción de insulina y disminuye la liberación de glucagón, al igual que el GIP que estimula la secreción de insulina dependiente de glucosa (Jerez Fernández et al., 2022). Algunos de los fármacos actualmente comercializados de este grupo son la sitagliptina, alogliptina, linagliptina y vildagliptina. Sin embargo, estos inhibidores también interactúan con otras enzimas, lo que puede provocar reacciones adversas como dolor de cabeza, infecciones de las vías respiratorias altas, nasofaringitis, pancreatitis e hipersensibilidad (Zare et al., 2024).

La Dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) es una serina exopeptidasa presente en la superficie de células de diversos tejidos como el riñón, hígado, aparato gastrointestinal, linfocitos, placenta y útero. Consta de 766 aminoácidos y su función es hidrolizar el enlace amida del extremo N-terminal de los péptidos cuando, en la penúltima posición, se encuentra una prolina o una alanina. La estructura cristalina forma homodímeros (cadena A y cadena B), las cuales consisten en tres dominios principales: citoplasmático, transmembranal y extracelular (Bayanati et al., 2024; Mathur et al., 2023).

El dominio extracelular se clasifica en dos tipos: catalítico y β -hélice de 8 aspás. En el dominio catalítico α/β hidrolasa (C-terminal) se albergan sitios de unión a la matriz extracelular, y en la β -hélice se encuentran los sitios de unión a la adenosina desaminasa (ADA), sitio de dimerización, epítomos de anticuerpos y aberturas de acceso al sitio activo interno (Figura 1). La DPP-4 tiene cinco sitios de enlace: S1, S2, S1', S2' y S2 extenso. La actividad inhibitoria se obtiene de la interacción con las subunidades S1 y S2, en cambio la interacción adicional con las demás subunidades aumenta la potencia inhibitoria de 4-5 veces más (Engel et al., 2003; Gorrell, 2005; Mathur et al., 2023).

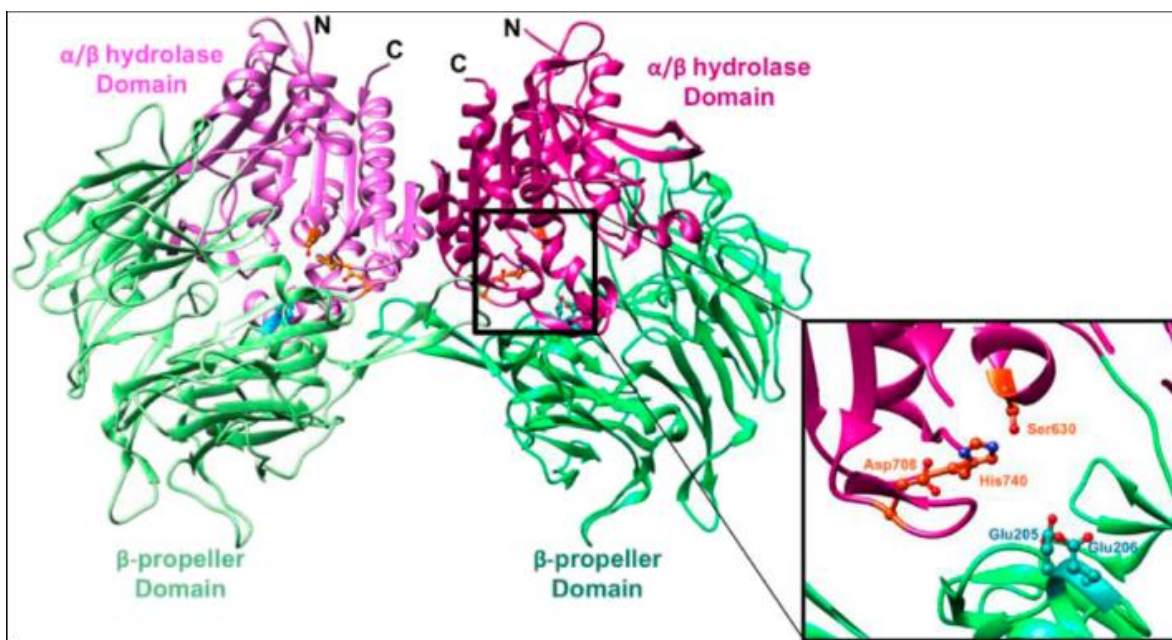
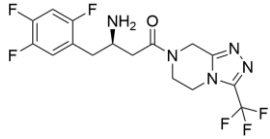
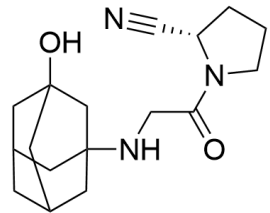
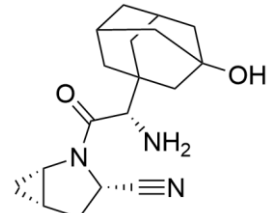
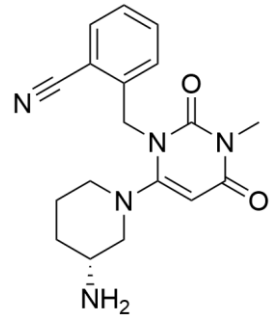
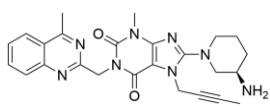
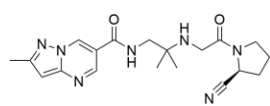
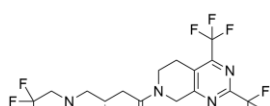
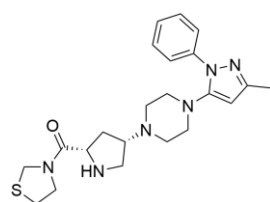


Fig 1. (Metzler et al., 2008): Representación en cinta de la estructura del homodímero simétrico DPP-4. “ α/β dominio hidrolasa y el dominio de β -hélice de cada unidad monómera están coloreados en dos tonos de rosa y verde respectivamente (PDB ID 1r9m). El recuadro muestra un primer plano del sitio activo de DPP-4 (correspondiente a la mitad derecha) del homodímero de DPP-4. La tríada catalítica (Ser⁶³⁰, His⁷⁴⁰ y Asp⁷⁰⁸) se muestra en naranja y el motivo de anclaje Glu (Glu²⁰⁵/Glu²⁰⁶) en cian”..

La DPP-4 participa en la secreción hormonal, la hematopoyesis, la inflamación, la quimiotaxis, la respuesta inmune y la resistencia a la insulina, modulando la actividad biológica de las hormonas implicadas. Posee funciones no catalíticas dependiendo del ligando con el que interactúa como la ADA, caveolin-1, matriz extracelular (colágeno y fibronectina) y la C-X-C quimiocina receptor 4 (CXCR4). En el sistema inmune funciona como co-estimulador de la activación de células T y supresor de la proliferación. Sin embargo, su función más conocida es la inactivación de las incretinas GLP-1 y GIP, las cuales estimulan la secreción de insulina (Gupta et al., 2009; Mathur et al., 2023; Trzaskalski et al., 2020).

Los inhibidores de la DPP-4 pertenecen a una clase de fármacos comúnmente usados para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. El primer inhibidor aprobado por la FDA fue la Sitagliptina, seguido de muchos otros como la vildagliptina, saxagliptina, alogliptina, linagliptina, anagliptina, gemigliptina y teneligliptina (Tabla 1) (Sahu et al., 2025). Los inhibidores se dividen por categorías basados en su sitio de unión, la clase 1 donde se encuentra la vildagliptina y saxagliptina las cuales se unen al S1 y S2; la clase 2 con la alogliptina y la linagliptina se unen al S1', S2', S1 y S2; en cambio la clase 3 con la sitagliptina y teneligliptina se unen a sitio S1, S2 y S2 extenso (Mathur et al., 2023; Saini et al., 2023).

Tabla 1. Estructuras químicas de los inhibidores de la DPP-4 aprobados por la FDA.

Sitagliptina	Vildagliptina	Saxagliptina	Alogliptina
			
Linagliptina	Anagliptina	Gemigliptina	Teneligliptina
			

Existen inhibidores de la DPP-4 basados en sustrato y no basados en sustrato, ambos utilizados para tratar la diabetes. Los inhibidores basados en sustrato se unen al sitio activo de la enzima, inhibiendo su actividad y elevando los niveles de GLP-1. Los inhibidores no basados en sustrato se unen al sitio alostérico de la enzima, inhibiendo su actividad y elevando los niveles de GLP-1 (Mathur et al., 2023).

Los inhibidores basados en sustrato son miméticos de la prolina; así el fragmento P2 del fármaco se une al bolsillo S2 y el fragmento P1 ocupa el S1, uniéndose a la enzima de forma covalente o no covalente. En el caso de las cianopirrolidinas (vildagliptina, saxagliptina) el grupo nitrilo forma un enlace covalente reversible con el grupo hidroxilo de Ser630, y el grupo amino protonado forma puentes de hidrógeno con Glu205, Glu206, y Tyr662. Los inhibidores no basados en sustrato tienen un anillo aromático que ocupa el bolsillo S1 y son no covalentes. En algunos casos se describe una tercera categoría de inhibidores basados en xantinas, donde se encuentra la linagliptina, la cual tiene mayor potencia y una inhibición más duradera (Arulmozhiraja et al., 2016; Bayanati et al., 2024; Kumar et al., 2021; Mathur et al., 2023).

La saxagliptina es cinco veces más activa que la vildagliptina, y la teneligliptina tiene cinco veces mayor actividad que la sitagliptina debido a su estructura en forma de J con mecanismo “anchor-lock”, tiene el CI_{50} más bajo de la clase (0.37 nmol/L). La linagliptina es el inhibidor más potente de la clase (Saini et al., 2023).

Todos los inhibidores son orales, de rápida absorción, con un esquema terapéutico de 1 a 2 tomas diarias y una inhibición de la DPP-4 del 70-90% durante 24 horas. La eliminación es comúnmente por vía renal, con escaso metabolismo, a excepción de la linagliptina, que

se elimina por vía biliar, y la saxagliptina, que genera un metabolito activo (Gallwitz, 2019; Saini et al., 2023).

El diseño de fármacos asistido por computadora (DIFAC) es una técnica empleada de forma preliminar en estudios de investigación para descubrir o desarrollar fármacos, con el fin de minimizar costos y errores en las fases finales. Existen diferentes métodos para la identificación de fármacos a partir de bases de datos químicas, como el modelado de farmacóforos, la relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR), el acoplamiento y la dinámica molecular. El DIFAC puede dividirse según el diseño de la estructura del ligando y la del receptor (Lin, 2022; Padole et al., 2022).

El acoplamiento molecular es una técnica computacional que estudia la interacción entre un blanco terapéutico y un ligando a nivel molecular, clasificando los ligandos y evaluando su afinidad de unión al blanco mediante una puntuación. Generalmente, estas simulaciones identifican los posibles sitios de unión de una molécula con otra, comúnmente, es una macromolécula (enzima, receptor, ADN o ARN) y una molécula pequeña orgánica o inorgánica. Existen diferentes tipos de acoplamiento molecular, como el ligando-proteína, proteína-proteína, ADN-proteína, ARN-proteína y ARN-ARN. Las conformaciones de unión dependen de dos factores: un amplio espacio conformacional, tomando en cuenta las diferentes conformaciones de unión y la predicción explícita de la afinidad de unión de los ligandos a cada conformación. Las predicciones se realizan con base en interacciones electrostáticas, geométricas, de Van der Waals, interacciones de Coulomb, formación de puentes de hidrógeno, y enlaces con metales, también influye la capacidad de desplazamiento de moléculas de agua en el sitio de unión (Cortés et al., 2026; Gurung et al., 2021).

Su objetivo principal era investigar las interacciones entre una molécula pequeña y el sitio de unión de una macromolécula diana, sin embargo, en la actualidad se emplea para la identificación y optimización de compuestos bioactivos (hits) y cabezas de serie (leads), reposicionamiento de fármacos existentes y polifarmacología, etcétera (Cortés et al., 2026).

Las funciones de puntuación o scoring son metodologías de aproximación matemática o fisicoquímica. Estiman y asignan un valor que corresponde a la afinidad de unión entre una diana y un conformero del ligando. De igual forma, se pueden utilizar para localizar sitios de unión no identificados de las proteínas (Cortés et al., 2026).

Las funciones de scoring se clasifican en tres familias: basadas en los campos de fuerza (force-field), empíricas, basadas en conocimiento (knowledge-based) y de consenso. En la primera se suman términos físicos individuales como las fuerzas de Van der Waals, electrostática, enlace de hidrógeno y torsión; en la segunda familia se entrenan por regresión con datos de afinidad de unión experimental de complejos proteína-ligando conocidos y se asignan coeficientes a cada término; la tercera familia se construye a partir de bases de datos de complejos proteína-ligando, empleando la frecuencia de observación de cada interacción atómica, mientras más favorable sea una interacción, esto ocurrirá con mayor frecuencia; y la cuarta familia incrementa la probabilidad de encontrar un conformero para el complejo al combinar diferentes tipos de funciones de puntuación, balanceando deficiencias de un tipo de función respecto a otra (Cortés et al., 2026; Quiroga & Villarreal, 2016).

GOLD (Genetic Optimisation for Ligand Docking) emplea un algoritmo genético para explorar las conformaciones del ligando y ofrece cuatro funciones de fitness: una basada en el campo de fuerzas (GoldScore), una basada en el conocimiento (ASP) y dos empíricas (ChemScore y CHEMPLP).

GoldScore considera la energía de los enlaces de hidrógeno, energía de Van Der Waals, interacciones con metales y tensión torsional del ligando. Está optimizada para predecir los sitios de unión de un ligando con base en la energía generada por los puentes, interacciones y deformaciones torsionales del ligando (Bittencourt et al., 2019; Cortés et al., 2026).

CHEMPLP (Piecewise Linear Potential) combina el potencial lineal por tramos (PLP), que modela la complementariedad estérica entre proteína y ligando, con términos de ChemScore: enlaces de hidrógeno dependientes de la distancia y el ángulo, interacciones con metales, penalización por choques entre átomos pesados y un potencial torsional. En la parte práctica es la de mejor rendimiento general, siendo la más rápida, con mayor tasa de reproducción de poses conocidas (87%) y mejor AUC (0.70) en el benchmark DUD (Cortés et al., 2026; Sousa et al., 2013; Tatum, 2015).

ASP (Atomic Surface Potential) utiliza un potencial átomo-átomo construido a partir de una base de datos de complejos proteína-ligando, que puntúa según la frecuencia de contactos entre tipos de átomos. Tiene una alta velocidad de cálculo, ideal para cribado virtual de alto rendimiento. Su precisión en benchmark DUD en AUC es de 0.66 (Bittencourt et al., 2019; Cortés et al., 2026).

AutoDock 4 usa un campo de fuerza de energía libre semiempírico: incluye términos como dispersión/repulsión, enlaces de hidrógeno, electrostática y desolvatación. Incorpora el campo de fuerza AMBER junto con funciones de scoring basadas en constantes de inhibición conocidas de una muestra grande de complejos. Es adecuada para estudios detallados de energía de unión, aunque computacionalmente más demandante (Chu & He, 2019; Cortés et al., 2026).

AutoDock Vina usa una función de scoring empírica e inspirada en la función X-score, combina ventajas de los potenciales basados en conocimiento y de las funciones empíricas, extrayendo preferencias conformacionales de los complejos como mediciones experimentales de afinidad. Cuenta simultáneamente las contribuciones intermoleculares e intramoleculares, evitando choques internos severos. Es útil en cribado virtual y comparación rápida de afinidades relativas entre ligandos (Cortés et al., 2026; Neville & Jia, 2019; Quiroga & Villarreal, 2016).

Por otro lado, la dinámica molecular es una técnica empleada para predecir las posiciones de los átomos en un sistema molecular con respecto al tiempo, basada en las leyes del movimiento de Newton. Se estiman las posiciones mediante un campo de fuerza adecuado para determinar la energía total del sistema. Las condiciones de la simulación pueden modularse y, de esta manera, obtener datos sobre la dinámica de interacciones blanco terapéutico-ligando (asociación y disociación), la termodinámica, la cinética y la energía libre (Kadupitiya et al., 2020; Sabe et al., 2021).

El método discretiza el tiempo en pequeños fragmentos (1-2 femtosegundos) y propaga las posiciones de las partículas paso a paso (X. Fu et al., 2023). Las fuerzas se obtienen

derivando la energía potencial del sistema respecto a las posiciones atómicas con la siguiente ecuación:

$$F(r) = -\partial E/\partial r$$

Para la integración se emplean métodos de diferencias finitas, siendo el integrador Verlet (velocity-Verlet) el estándar, el cual actualiza la posición usando la posición anterior y la fuerza actual, resultando en una trayectoria que representa el movimiento del sistema en el tiempo (Campos & Sanz-Serna, 2017; Kadupitiya et al., 2020; Schneider et al., 2017).

La dinámica molecular se basa en cuatro fundamentos: la mecánica clásica, el campo de fuerzas (función de energía potencial), la integración numérica y la mecánica estadística. La mecánica clásica se basa en la segunda ley de Newton, que se encarga de la trayectoria de cada núcleo; el campo de fuerza describe la energía del sistema como la suma de términos enlazados (longitudes de enlace, ángulos y diedros) y no enlazados (interacciones de Lennard-Jones tipo Van der Waals y electrostáticas); en la integración numérica, los algoritmos tipo Verlet conservan la energía a largo plazo; y la mecánica estadística emplea promedios de ensamble de una propiedad física y se calculan como promedios temporales sobre la trayectoria. Se emplean termostatos y barostatos para simular la temperatura y presión constantes (NVT, NPT) (Bou-Rabee, 2014; Campos & Sanz-Serna, 2017; Schneider et al., 2017).

Una parte fundamental para la dinámica molecular es el campo de fuerza, el cual se define como un conjunto de forma funcional y parámetros que describen la energía potencial de un sistema molecular con base en las coordenadas de sus átomos, o la física que permite calcular las fuerzas sobre cada átomo basadas en la energía respecto a sus posiciones (González, 2011; Masetti & Rocchia, 2014; Monticelli & Tieleman, 2013).

La energía total se divide en dos bloques: términos enlazados y no enlazados. Los enlazados dependen de las conexiones covalentes como el estiramiento de enlaces, flexión de ángulo y torsión de diedros. Los no enlazados dependen solamente de la distancia entre los átomos, como la electrostática (ley de Coulomb) y Van der Waals (potencial de Lennard-Jones) (González, 2011; Shaikh et al., 2013; Zhang, 2022).

De forma general en el campo de fuerza empírico aditivo los términos enlazados y ángulos son funciones que no permiten romper enlaces. Los no enlazados son los más costosos computacionalmente debido a que dominan las interacciones entre moléculas o grupos funcionales (Shaikh et al., 2013; Unke et al., 2019).

Hay diferentes familias de campos de fuerza, como AMBER, CHARMM, GROMOS, OPLS y genéricos. Todos estos se distinguen por su función, sus parámetros y los sistemas para los que fueron optimizados. AMBER está optimizada para proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, e incluye GAFF para moléculas pequeñas. CHARMM tiene amplia cobertura de biomoléculas y membranas, emplea corrección con CMAP. GROMOS está enfocado en la parametrización de las entalpías libres de hidratación y solvatación. OPLS se emplea en líquidos y proteínas. En cambio, los genéricos son usados para sistemas no biológicos (materiales, inorgánicos) (González, 2011; He et al., 2020; Tuszynski et al., 2014).

Dentro del software AMBER se ejecutan simulaciones con el campo de fuerza ff12SB, el cual es una evolución del ff99SB; uno de los campos de fuerzas AMBER más usados para proteínas. Se caracteriza por presentar mejores parámetros torsionales, corregir las

dependencias entre cadenas laterales y el esqueleto, corregir los diedros de DNA y ARN, y mejorar la concordancia entre experimentos y simulaciones en solvente explícito (Miao et al., 2015; Prasetyo et al., 2025; Spassov et al., 2023; Tuszynski et al., 2014).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus tiene 2 tipos principales: tipo 1 y tipo 2, siendo la última la más común y afecta al 90% de la población a nivel mundial (International Diabetes Federation, 2025). Diversas terapias eficaces en el control de la enfermedad a largo plazo se encuentran en el mercado; sin embargo, muchas de estas presentan reacciones adversas como el aumento de peso, problemas gastrointestinales e hipoglucemia, por mencionar algunos (Bayanati et al., 2024). Debido a esto, se buscan medicamentos más seguros, mejor tolerados y igual de eficaces.

Los inhibidores de la DPP-4 se han vuelto atractivos por su demostrada eficacia y seguridad, su sencillo esquema terapéutico y su acción regenerativa en las células β pancreáticas, lo que favorece un retraso en el desarrollo de la enfermedad y sus complicaciones (Kalra et al., 2024). Varios de los fármacos de esta categoría disponibles en el mercado interactúan con otras enzimas, generando reacciones adversas como dolor de cabeza, infecciones respiratorias, pancreatitis e hipersensibilidad (Zare et al., 2024). Debido a esto, identificar un nuevo fármaco más específico que nos asegure un control glucémico adecuado a largo plazo y sin reacciones adversas significativas es el objetivo de este estudio.

4. OBJETIVO GENERAL

Identificar mediante acoplamiento y dinámica molecular, compuestos de la quimioteca del laboratorio N015 con actividad inhibitoria sobre la enzima DPP-4 y comprobar su actividad *in vitro*.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar un acoplamiento molecular entre la quimioteca del laboratorio N015 y la proteína DPP-4 de *Homo sapiens* utilizando los programas Autodock, Vina y GOLD.
1. Realizar la dinámica molecular de las mejores moléculas resultantes del acoplamiento anterior.
2. Evaluar, *in vitro*, la actividad inhibitoria de las moléculas con el mejor perfil obtenido de la dinámica molecular sobre la enzima DPP-4.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Acoplamiento molecular

Se realizó un estudio *in silico* de la quimioteca “N-015”. La quimioteca consta de 408 compuestos con estructuras diversas, los cuales están disponibles físicamente y se han obtenido mediante su compra, mediante síntesis química o mediante su aislamiento de productos naturales. Los estudios de acoplamiento molecular se realizaron en los programas Autodock, Vina (integrados en la paquetería YASARA structure) y GOLD. La optimización de la estructura tridimensional de los ligandos se realizó mediante el campo de fuerza MMFF94 en el programa DataWarrior. En relación con la estructura tridimensional de la proteína DPP-4 de *Homo Sapiens* se obtuvo de la base de datos Protein Data Bank (PDB ID: 4A5S). Se realizó un docking dirigido al sitio alostérico en uno de los dos sitios disponibles. Después de realizar el acoplamiento molecular de los 408 ligandos a la proteína, se identificaron los 20 mejores candidatos con las energías de unión más bajas en los tres programas y se seleccionaron para los estudios de dinámica molecular.

5.2 Dinámica molecular

A partir de los complejos proteína-ligando en formato *.pdb resultantes del acoplamiento molecular, se realizaron simulaciones de dinámica molecular con el software YASARA Structure. Estas simulaciones se enviaron y ejecutaron en la supercomputadora YOLTLA de la UAM-I con el fin de optimizar los tiempos de obtención de resultados. Las simulaciones comenzaron ejecutando el macro “md_run” que incluye una red de enlaces de hidrógeno para aumentar la estabilidad del soluto y una predicción de pKa para ajustar los estados de protonación de los residuos de la proteína a un pH de 7.4. Se incluyeron iones de NaCl al 0.9%, con un exceso de iones Na⁺ o Cl⁻, para neutralizar la caja de simulación. Posteriormente, se realizaron las minimizaciones correspondientes, el tiempo de simulación fue de 200 ns utilizando un campo de fuerza AMBER14 para el soluto, GAFF2 y AM1BCC para los ligandos y TIP3P para el agua. No se aplicó un límite para las fuerzas electrostáticas (algoritmo Mesh Ewald), mientras que para las fuerzas de Van der Waals fue de 8 Å. Las ecuaciones de movimiento se integraron con un intervalo de tiempo de 1.25 fs para interacciones enlazadas y de 2.5 fs para interacciones no enlazadas, a una temperatura de 298 K y 1 atm (algoritmos descritos anteriormente). Los compuestos con menor valor de RMSD a través del tiempo, RMSF y mejor energía de unión fueron considerados para su evaluación biológica.

5.3 Ensayo de actividad enzimática

Se caracterizó cinéticamente a la enzima recombinante hDPP-4 y se llevaron a cabo los ensayos de inhibición para estimar la concentración inhibitoria (CI₅₀). Todos los ensayos enzimáticos se llevaron a cabo mediante un ensayo espectrofotométrico en microplaca de 96 pozos, utilizando como sustrato clorhidrato de Gly-Pro clorhidrato de p-nitroanilida (Gly-Pro-pNa-HCl, Sigma-Aldrich), como se ha descrito previamente en la literatura (Gao et al. 2023). La reacción se llevó a cabo en un volumen total de 100 µL con amortiguador HEPES 50 mM, pH 8.0 a una temperatura y tiempo de incubación de 37°C y 30 minutos, respectivamente. La actividad inhibidora de DPP-4 se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ inhibición de DPP-4} = \frac{(Ap - ActI)}{(Arn - Acn)} \times 100$$

donde, la absorbancia de la prueba (Ap) es la absorbancia a 405 nm en presencia de DPP-4, Gly-Pro-pNA HCl y la muestra; la absorbancia control (Actl) es la absorbancia a 405 nm cuando la muestra se reemplaza por buffer HEPES (50 mM, pH 8.0); la absorbancia de reacción negativa (Arn) es la absorbancia a 405 nm en presencia de DPP-4 y Gly-Pro-pNA HCl sin la muestra y la absorbancia del control negativo (Acn) es la absorbancia a 405 nm de Gly-Pro-pNA HCl, sin DPP-4 ni muestra.

5.4 Definición de la concentración de enzima y de sustrato

Para establecer las concentraciones óptimas de la proteína recombinante hDPP-4 y del sustrato Gly-Pro-clorhidrato de p-nitroanilida (Sigma-Aldrich), se realizaron ensayos con distintas concentraciones de enzima y sustrato, midiendo la absorbancia a 405 nm en los tiempos 0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos.

5.5 Determinación de CI_{50}

Los ensayos para determinar la CI_{50} se realizaron con los mejores candidatos identificados en los estudios *in silico*. Cada compuesto se añadió en concentraciones crecientes, bajo las condiciones óptimas previamente establecidas de volumen, pH, concentración de enzima y sustrato, temperatura y tiempo de incubación. Las concentraciones de los inhibidores fueron establecidas con base en los valores de CI_{50} reportados en la literatura para los fármacos prototipo (Saini et al., 2023). En el caso de los compuestos bioactivos novedosos, se evaluaron rangos de concentración amplios para determinar la CI_{50} . La CI_{50} se calculó mediante la representación gráfica de una curva de regresión no lineal correspondiente al proceso de reacción.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Acoplamiento molecular

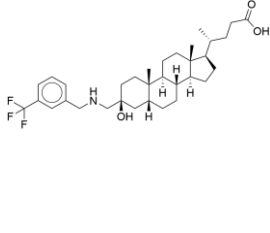
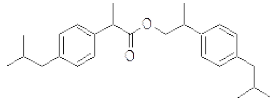
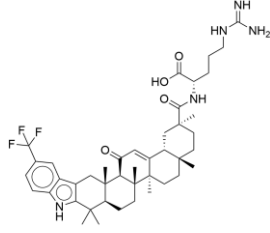
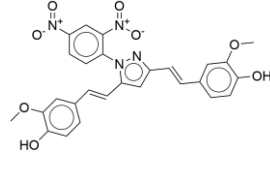
Se realizó la validación mediante RMSD (Root Mean Square Deviation, en inglés) para los 5 scores de acoplamiento molecular de AutoDock, VINA y GOLD (ChemPLP, GOLDScore y ASP), en los que se evaluó el ligando cocrystalizado (N7F) presente en la molécula original del PDB, acoplándose al sitio activo “A” de la proteína DPP-4 (4A5S), emulando así la posición del ligando cocrystalizado en el sitio activo. Los resultados obtenidos fueron 0.39 Å para ChemPLP, 0.50 Å para GOLDScore, 3.07 Å para ASP, 42.15 Å para Autodock y 43.80 Å para VINA. Con base en estos resultados, delimitamos las 20 mejores moléculas y obtuvimos los valores de acoplamiento molecular para todos los scores (Tablas 2 y 3). Debido a que los valores de RMSD de las funciones de puntuación GOLDScore, ChemPLP y ASP fueron menores a 1.5 Å, se puede decir que estos son capaces de reproducir de mejor manera la pose de unión del ligando cocrystalizado y, por ende, la predicción de la pose de unión de los compuestos de la base de datos N015 sería, en teoría, la más cercana

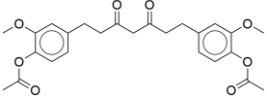
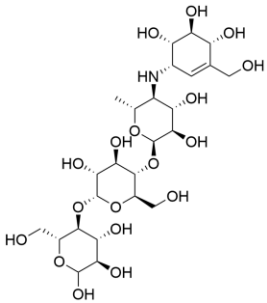
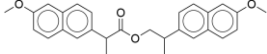
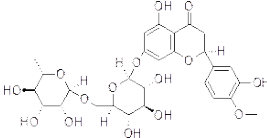
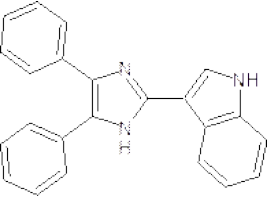
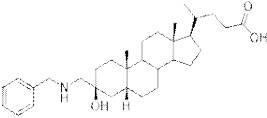
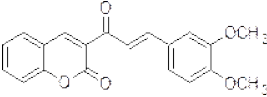
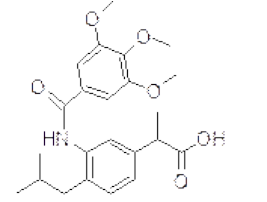
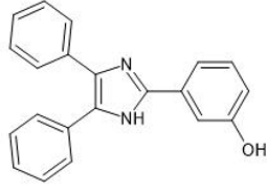
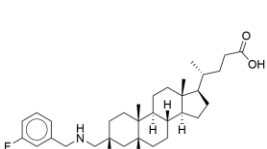
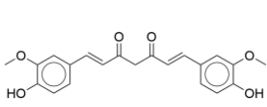
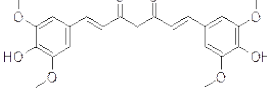
a la realidad. Es por ello que se eligieron los 20 mejores compuestos, priorizando aquellos con valores más altos de GOLDScore, ChemPLP y ASP.

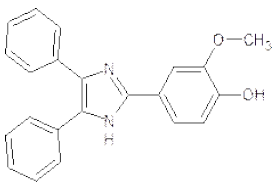
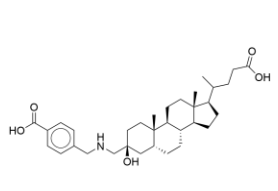
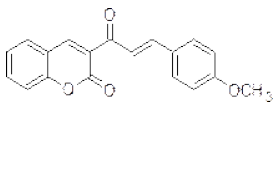
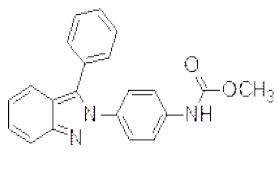
Tabla 2. Acoplamiento molecular en GOLD, Autodock y VINA

Molécula	CHEMPLP	GOLDScore	ASP	Autodock (kcal/mol)	VINA (kcal/mol)
C29	86.72	69.9901	50.9943	-11.77	-8.572
J94	83.7003	64.3644	41.1262	-10.31	-7.556
C107	83.3546	81.4736	54.098	-12.67	-9.64
J76	83.1264	82.8953	57.5846	-12.07	-9.291
J200	82.9458	71.9847	53.9022	-10.79	-7.699
C37	80.6613	81.288	50.593	-9.28	-8.257
J97	79.8726	71.1774	49.1631	-11.59	-8.676
J202	79.5152	68.6226	61.2382	-11.56	-9.883
J243	79.1995	66.6918	48.9938	-9.55	-11.363
C25	78.6991	71.1076	41.2418	-11.37	-9.378
P6	78.4103	72.2444	44.4486	-10.41	-9.314
J93	77.6358	64.3551	46.0691	-9.15	-7.639
J289	77.5283	64.6337	48.6559	-9.62	-10.395
C27	76.9538	67.6646	49.2555	-11.91	-9.536
J71	76.7921	67.142	48.0345	-10.14	-8.829
J225	76.6613	63.5968	52.069	-10.53	-8.781
J256	76.6364	68.6523	49.5172	-9.56	-10.339
C68	76.5679	73.1728	45.6488	-11.53	-8.365
P5	75.9302	65.3536	41.1986	-9.73	-9.19
J165	75.7304	59.6054	43.6862	-9.9	-10.226

Tabla 3. Estructuras de los 20 compuestos seleccionados para dinámica molecular.

C29	J94	C107	J76
			
[H][C@]35CC[C@@]2([H])[C@]1([H])CC[C@H]([C@H](C)CCC(=O)O)[C@@]1(C)CC[C@]2([H])[C@@]3(C)CC[C@@](O)(CNCc4cccc(C(F)(F)F)c4)C5	CC(C)Cc1ccc(cc1)C(C)C(=O)OCC(C)c2ccc(cc2)CC(C)C	CC1([C@@H]([C@](Cc2c(cc(C(F)(F)F)cc3)c3[nH]c12)([C@H]45)C)CC[C@]4([C@@]6(CC[C@]7(CC[C@](C)(C(N[C@@H](CCCNC(N)=N)C(O)=O	[O-][N+](=O)c1cc(c(cc1)n3nc(cc3/C=C/c2ccc(O)c(O)C)c2)/C=C/c4ccc(O)c(O)C)c4)[N+](O-)=O

		<chem>=O)C[C@H]7C6=CC5=O)C)C)C</chem>	
J200	C37	J97	J202
			
<chem>COc1cc(ccc1OC(C)=O)CCC(=O)CC(=O)CCc2cc(OC(C)=O)c(OC)c2</chem>	<chem>C[C@H]1O[C@H](O[C@@H]2[C@H](CO)O[C@H](O[C@@H]3[C@H](CO)OC(O)[C@H](O)[C@H]3O)[C@H](O)[C@H]2O)[C@H](O)[C@@H](O)[C@@H]1N[C@H]1C=C(CO)[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]1O</chem>	<chem>COc1ccc2cc(ccc2c1)C(C)(=O)OCC(C)c3ccc4cc(ccc4c3)OC</chem>	<chem>O=C4c5c(O)cc(O[C@@H]2O[C@H](CO[C@@H]1O[C@H](O)[C@H]1O)[C@H](O)[C@H]2O)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]2O)cc5O[C@H](c3cc(OC)c(O)c3)C4</chem>
J243	C25	P6	J93
			
<chem>C1(C2=CC=CC=C2)=C(C3=CC=CC=C3)NC(C4=CNC5=C4C=CC=C5)=N1</chem>	<chem>C[C@@]12C(CC[C@@H]2[C@@H](CCC(O)=O)C)C3CC[C@]4([H])C[C@](O)(CNCC5=CC=CC=C5)CC[C@]4(C)C3CC1</chem>	<chem>O=C1C(C(/C=C/C2=CC=C(OC)C(OC)=C2)=O)=CC3=CC=CC=C3O1</chem>	<chem>COc1c(cc(cc1OC)C(=O)Nc2cc(ccc2CC(C)C(C)C(=O)O)OC</chem>
J289	C27	J71	J225
			
<chem>OC1=CC=CC(C2=NC(C3=CC=CC=C3)=C(C4=CC=CC=C4)N2)=C1</chem>	<chem>[H][C@]35CC[C@@]2([H])[C@]1([H])CCC@H(C)CCC(=O)O)[C@@]1(C)CC[C@]2([H])[C@@]3(C)CC[C@@](O)(CNCC4CCCC(F)C4)C5</chem>	<chem>Oc1ccc(cc1OC)/C=C/C(=O)CC(=O)/C=C/c2ccc(O)c(OC)c2</chem>	<chem>COc1cc(cc(OC)c1O)/C=C/C(=O)CC(=O)/C=C/c2cc(OC)c(O)c(OC)c2</chem>

J256	C68	P5	J165
			
<chem>COC1=CC(C2=NC(C3=CC=CC=C3)=C(C4=CC=CC=C4)N2)=CC=C1O</chem>	<chem>CC(CCC(=O)O)[C@H]4CC[C@H]5[C@@H]3CC[C@@H]2C[C@](O)(CN[C@@H]2C(=O)O)CC[C@]2(C)[C@H]3CC[C@]45C</chem>	<chem>O=C1C(C/C=C/C2=CC=C(OC)C=C2=O)=CC3=CC=CC=C3O1</chem>	<chem>O=C(OC)Nc1ccc(cc1)n3nc4ccccc4c3c2ccccc2</chem>

6.2 Dinámica molecular

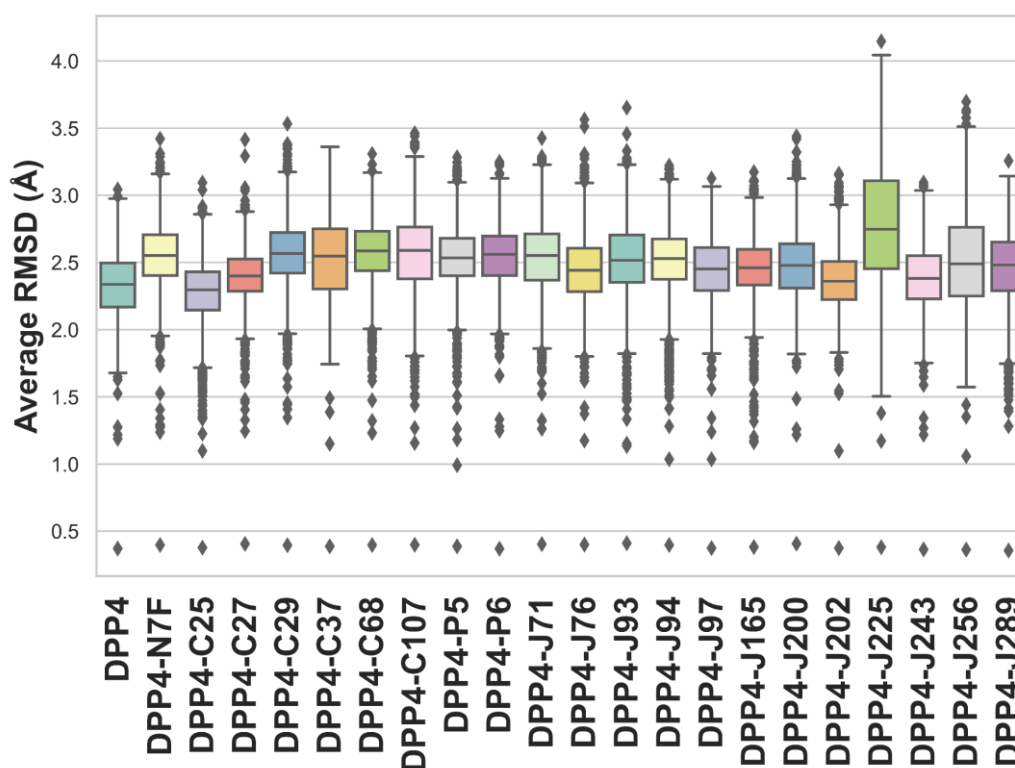


Fig 2. Gráfica del RMSD de Cα de la enzima DPP-4 y de los complejos DPP-4-compuesto.

En la Figura 2 se muestra la estabilidad de los 20 complejos de la DPP-4 con los compuestos seleccionados por acoplamiento molecular comparados con la forma APO y el complejo DPP-4 y el ligando cocristalizado (DPP-4-N7F) original de la PDB expresado en valores de RMSD. El RMSD es la media estándar que cuantifica la similitud entre dos estructuras moleculares tridimensionales, esto medido en Ångstroms (Å). A mayor RMSD, la similitud de las estructuras en superposición 3D es peor o son más distantes, en caso contrario, un valor menor refleja una superposición más similar, lo que predice un comportamiento farmacodinámico favorable, indicando que el compuesto mantiene la

conformación bioactiva bajo condiciones fisiológicas (*EBI SSM HELP - Result List - RMSD*, n.d.; Miah et al., 2026). Es así como, al unirse un ligando a la proteína y disminuir el valor o hacerlo similar al de N7F, este es capaz de estabilizar la conformación inicial de la proteína. Los valores promedio obtenidos para la forma APO de la DPP-4 fueron de 2.33 Å, y el valor promedio del N7F de 2.54 Å. La molécula **C25** obtuvo el valor promedio de 2.27 Å, el cual es más bajo que la forma APO; en cambio la mayoría de las moléculas (**C27, C37, P5, J71, J76, J93, J94, J97, J165, J200, J202, J243 y J289**) presentaron valores promedio menores al de N7F. Lo que nos indica que la mayoría de las moléculas son capaces de estabilizar la conformación estructural de la DPP-4 de mejor manera que el ligando cocrystalizado. La molécula C25 destaca en la estabilización de la conformación de la proteína.

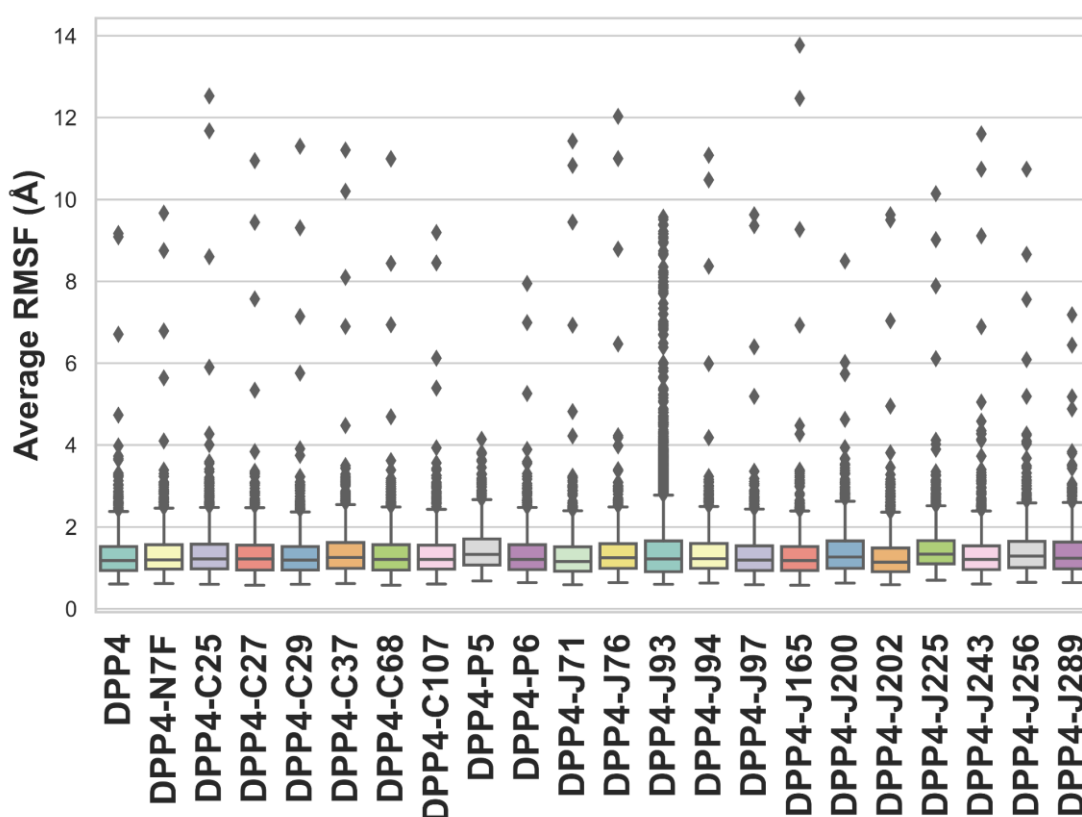


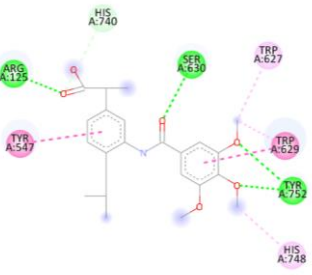
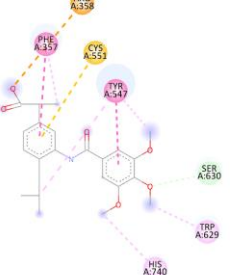
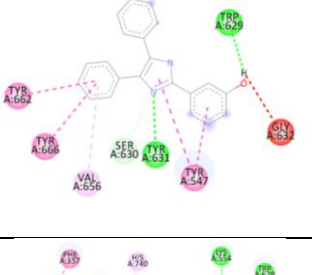
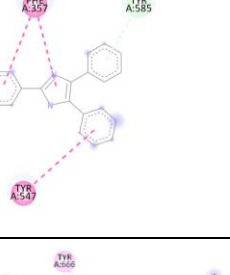
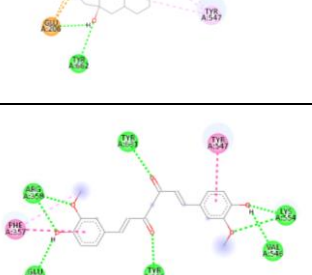
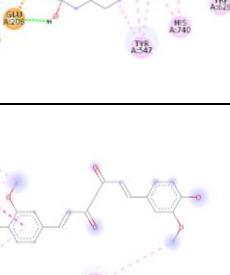
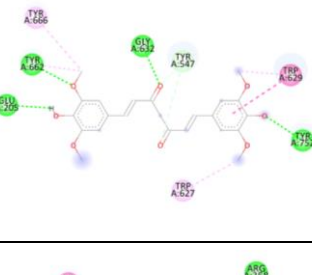
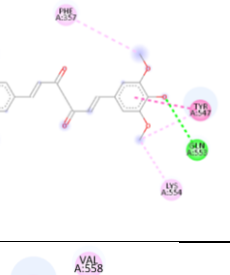
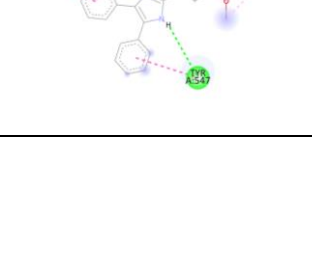
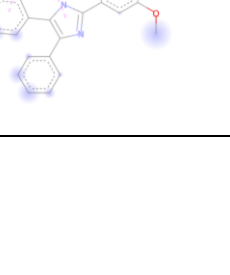
Fig 3. Gráfica de RMSF de la enzima DPP-4 y de los complejos de la enzima DPP-4-compuesto.

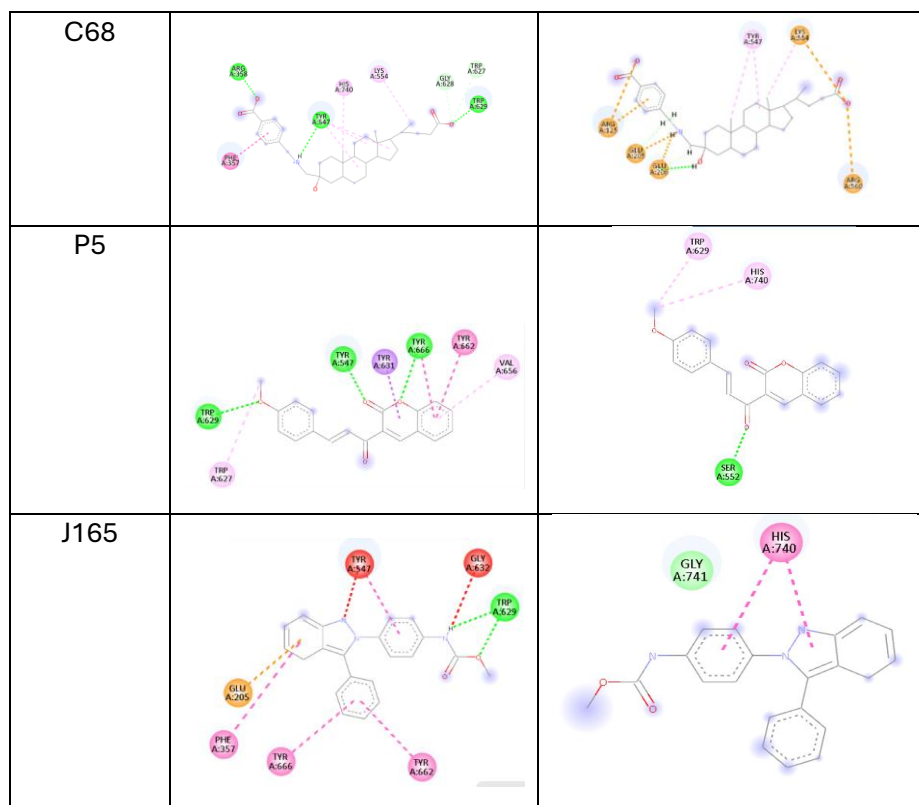
La RMSF (Fluctuación Cuadrática Media) mide la desviación promedio de las posiciones atómicas respecto a sus posiciones medias a lo largo del tiempo en simulaciones de dinámica molecular. Brinda información sobre la flexibilidad y la dinámica de la proteína. Los valores altos de RMSF suelen interpretarse como regiones más flexibles o inestables, mientras que los valores bajos se interpretan como regiones más rígidas o estables (Miah et al., 2026). En la Figura 3 se muestran los valores promedio del RMSF iniciando por la

proteína APO 1.30 Å, N7F con 1.34 Å, y los complejos que más destacan son **C27**, **C29**, **C68**, **C107**, **P6**, **J71**, **J97**, **J165** y **J202** con 1.33 Å, 1.30 Å, 1.33 Å, 1.33 Å, 1.33 Å, 1.29 Å, 1.31 Å, 1.31 Å, 1.27 Å, respectivamente. Los 9 mejores complejos presentaron mejores valores que el ligando cocrystalizado, siendo iguales o más estables a la hora de unirse con la DPP-4.

Tabla 4. Residuos ancla presentes antes y después de la dinámica molecular de las 20 moléculas seleccionadas.

Molécula	Antes de la dinámica molecular	Después de la dinámica molecular
C29		
J94		
C107		
J76		
J200		

J93		
J289		
C27		
J71		
J225		
J256		



Interacciones: Verde fuerte = Puente de hidrógeno, Verde claro = Puente carbono-hidrógeno, Naranja = interacciones iónicas, Rosa fuerte = π - π , Rosa claro = π -alquiló, Amarillo = π -sulfuro y Azul = Halógeno.

En la literatura se reportaron que algunos de los residuos que participan en la formación de enlaces covalentes o interacciones π - π que bloquean la actividad de la DPP-4 son: Tyr⁶⁶², Tyr⁵⁴⁷, Glu²⁰⁵, Phe³⁵⁷, Arg³⁵⁸, Ser⁶³⁰, Ser⁶³¹, Asn⁷¹⁰, Val²⁰⁷. Sin embargo, de los ocho compuestos dockeados se encontraron que los residuos Glu²⁰⁵, Glu²⁰⁶ y Tyr⁵⁴⁷ eran los más frecuentes en formar puentes de hidrógeno con la DPP-4 (Mathur et al., 2023).

En el sitio activo de la DPP-4, definido por los bolsillos S1 y S2, se describen los residuos que interactúan con cada uno de ellos. El bolsillo S1 interactúa con Ser⁶³⁰, Asp⁷⁰⁸, His⁷⁴⁰, Tyr⁶³¹, Val⁶⁵⁶, Trp⁶⁵⁹, Tyr⁶⁶², Tyr⁶⁶⁶ y Val⁷¹¹. En el bolsillo S2 la interacción es con Glu²⁰⁵, Glu²⁰⁶, Arg¹²⁵, y se rodea por Val²⁰⁷, Ser²⁰⁹, Phe³⁵⁷ y Arg³⁵⁸ (Ranjbar et al., 2019; Shoombuatong et al., 2015).

Los residuos más cruciales para la potencia, descritos en la literatura, son Glu²⁰⁵/Glu²⁰⁶, con base en la energía libre de unión, la cual es significativamente alta cuando el inhibidor interactúa con estos residuos, los cuales están cargados negativamente (Bayanati et al., 2024). El bolsillo S1 hidrofóbico brinda la selectividad al acomodar restos bencénicos y pirrolidínicos (Shoombuatong et al., 2015). Los residuos Arg¹²⁵, Phe³⁵⁷, Arg³⁵⁸, Tyr⁵⁴⁷, Pro⁵⁵⁰ y Asn⁷¹⁰ interactúan con el bolsillo S2 aumentando la potencia y la selectividad (Mahgoub et al., 2022). Y la interacción con los subsitios S1', S2' y S2 extenso no es imprescindible, pero distingue a los inhibidores más potentes, mostrando un aumento en la inhibición y selectividad (Arulmozhiraja et al., 2016; Maladkar et al., 2016).

Si bien la interacción con el subsitio S2' aumenta la actividad inhibitoria, existe una relación proporcional con la energía de interacción, siendo Trp⁶²⁹ y Tyr⁵⁴⁷ un claro ejemplo; gracias a su interacción con el subsitio S2', linagliptina tiene mayor acción inhibitoria que alogliptina (Arulmozhiraja et al., 2016; Wankhade et al., 2024).

La Tabla 4 muestra los tipos de interacción que los complejos presentan con la DPP-4 antes y después de la simulación con los diversos residuos. Las moléculas **C107**, **C37**, **J97**, **J202**, **C25**, **J93**, **C27** y **C68**, destacaron por formar o mantener más interacciones con residuos de importancia asociados con mayor actividad inhibitoria. **C107** mantuvo las interacciones iónicas con Glu²⁰⁵, Glu²⁰⁶ y las interacciones π -alquiló con Tyr⁷⁵² y His⁷⁴⁸; **C37** antes de la dinámica molecular la unión con la DPP-4 estaba influenciada por interacciones tipo puentes de hidrógeno de Tyr⁶⁶² y Asn⁷¹⁰, y donador-donador con Glu²⁰⁵, el cual cambia a puente de hidrógeno; así mismo Ser⁶³⁰ pasa de puente de hidrógeno a puente carbono-hidrógeno, sin embargo, se presenta un cambio de conformación lo que añade una nuevas interacción π -sigma con Tyr⁵⁴⁷; **J97** mantiene las interacciones π -alquiló con Tyr⁶⁶⁶ y Tyr⁶⁶², aunado a la formación de un puente de hidrógeno con Tyr⁶⁶², y puentes de carbono-hidrógeno con Ser⁶³⁰ e His⁷⁴⁰; **J202** existe un cambio de conformación, el cual genera un cambio de interacción con Tyr⁶⁶⁶, pasando de puente de hidrógeno a interacción π -alquiló, y se origina un puente de hidrógeno con Glu²⁰⁶, también destaca la presencia de interacciones π -alquiló de Phe³⁵⁷ y puentes de hidrógeno con Tyr⁶²⁹ y Tyr⁵⁴⁷ a lo largo de la simulación; **C25** mantiene la interacción π -alquiló con Tyr⁶⁶⁶ y forma puentes de hidrógeno con Ser⁶³⁰ e His⁷⁴⁰, también forma un puente de carbono-hidrógeno con Asn⁷¹⁰; **J93** presentó un cambio de interacción con Ser⁶³⁰ pasando de puente de hidrógeno a puente de carbono-hidrógeno, y con His⁷⁴⁰ cambio de puente de carbono-hidrógeno a interacción π -alquiló; sumando interacciones π -alquiló con Phe³⁵⁷ e interacción iónica con Arg³⁵⁸ responsables de la unión con la DPP-4; **C27** mantiene las interacciones iónicas con Glu²⁰⁵, Glu²⁰⁶ y la interacción π -alquiló con Tyr⁵⁴⁷ y His⁷⁴⁰; y **C68** no mantiene ninguna interacción, pero sí forma interacciones iónicas con Glu²⁰⁵, Glu²⁰⁶, Arg⁵⁶⁰ y una interacción π -alquiló con Tyr⁵⁴⁷.

En cuanto a las demás moléculas, **J200** mantuvo la interacción π -alquiló con His⁷⁴⁸ a lo largo del tiempo y forma un puente de hidrógeno con el grupo éster debido a un cambio en la configuración; **J243** solo mantiene la interacción π -alquiló con Tyr⁵⁴⁷, pero cambia su conformación al final de la dinámica molecular; **J289** preservó la interacción π -alquiló con Tyr⁵⁴⁷, pero formó una interacción de la misma familia con el residuo Phe³⁵⁷; **P5** pasa de puente de hidrógeno a interacción π -alquiló de Trp⁶²⁹ y forma una interacción π -alquiló con His⁷⁴⁰; **J71** mantiene solamente la interacción π -alquiló con Tyr⁵⁴⁷ y Phe³⁵⁷, pero este último pierde la interacción π - π ; **J76** mantiene los puentes de hidrógeno con Val⁵⁴⁶ y Lys⁵⁵⁴; Tyr⁵⁴⁷ mantiene la interacción π -alquiló, pero pierde el puente de carbono-hidrógeno; **P6** mantiene la interacción con Tyr⁶⁶⁶; **J225** solamente mantuvo la interacción π -alquiló de Trp⁶²⁹; **C29** interacciona todo el tiempo con Glu²⁰⁵, His⁷⁴⁰ y Tyr⁵⁴⁷, pero esta última solo queda como interacción π -alquiló; **J256** no mantuvo ninguna de las interacciones después de la simulación, pero originó interacciones π -alquiló con Arg⁵⁶⁰ y Val⁵⁵⁸; **J94** no mantiene ninguna interacción, pero se origina una π -alquiló con Tyr⁶⁶² y His⁷⁴⁰; **J165** no mantiene ninguna interacción, pero si forma una interacción π -alquiló con His⁷⁴⁰.

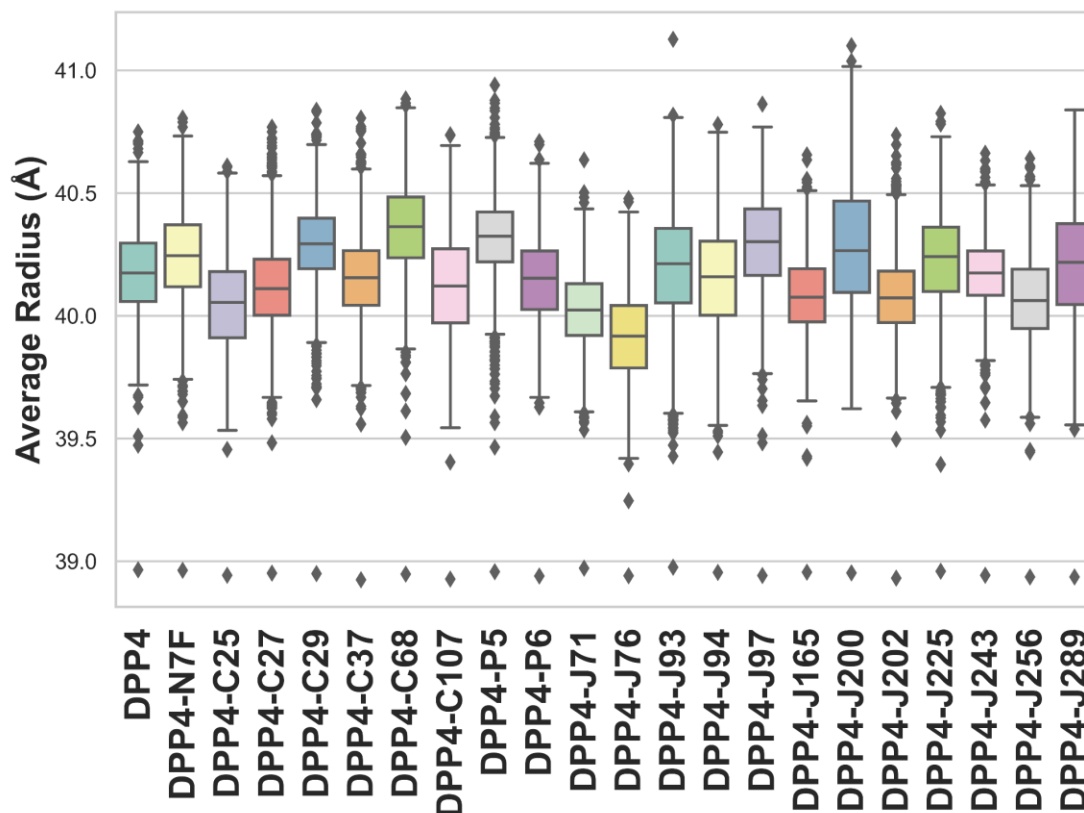


Fig 4. Gráfica de radio de giro promedio de la enzima DPP-4 y de los complejos de la enzima DPP-4-compuesto.

El radio de giro (R_g) es una métrica que evalúa la compactación general de la proteína durante las simulaciones, reflejando cambios en la estabilidad conformacional y plegamiento molecular. Un valor igual o menor de R_g se traduce en una estructura más compacta de la proteína, asociado a una interacción favorable en la unión (Miah et al., 2026; Prasetyo et al., 2025). En la Figura 4 el valor promedio de la forma APO fue de 40.17 Å, y la forma N7F 40.24 Å. Las moléculas que más destacaron fueron **C25, C27, C37, C107, P6, J71, J76, J94, J165, J202 y J256** con 40.04 Å, 40.11 Å, 40.15 Å, 40.12 Å, 40.14 Å, 40.02 Å, 39.91 Å, 40.14 Å, 40.08 Å, 40.08 Å, 40.07 Å. La diferencia respecto a la forma APO es mínima, lo que indica que el ligando no altera en gran medida la compactación y sugiere que la estabilidad estructural se mantiene durante la simulación.

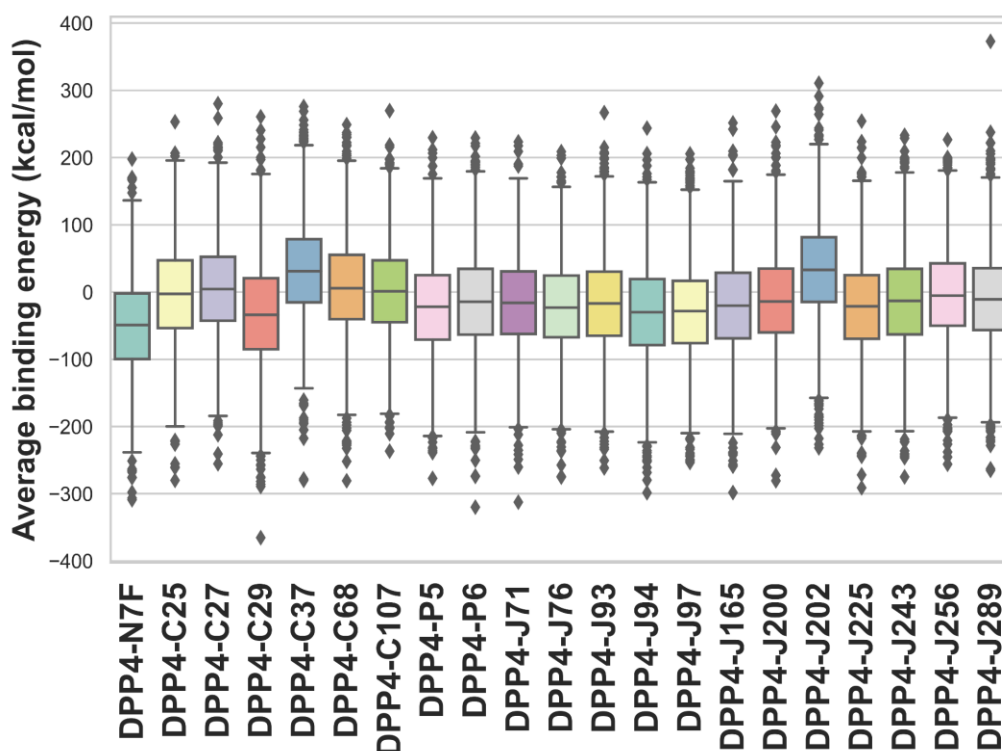


Fig 5. Gráfica de la energía de unión de los complejos de la enzima DPP-4-compuesto.

La energía de unión representa la interacción entre el ligando y la proteína a través del tiempo de simulación (H. Fu et al., 2022). La Figura 5 muestra los valores promedio de la energía de unión, tomando N7F (-49.71 kcal/mol) como referencia para comparar con las demás moléculas. Las moléculas más destacadas y cercanas al valor de N7F fueron **C29**, **J94** y **J97**, con -33.19 (kcal/mol), -30.18 (kcal/mol) y -29.16 (kcal/mol), respectivamente. La unión de estas moléculas a la proteína fueron favorables y termodinámicamente más estables con respecto a las demás, sin embargo, no lograron igualar la afinidad del ligando cristalizado.

6.3 Actividad Inhibitoria sobre la enzima DPP-4

Para la determinación de la actividad inhibitoria de los compuestos sobre la enzima DPP-4 se seleccionaron los compuestos **J289**, **J256**, **J243**, **J202**, **J200**, **J165**, **J97**, **J93**, **C107**, **C37**, **C29**, **C27**, **C25** y **P5** debido que mostraron los mejores valores de RMSD, RMSF, Radio de giro, interacciones de interés y energía de unión en los estudios de dinámica molecular.

Los compuestos **C68**, **P6**, **J71**, **J76** y **J94**, a pesar de destacar en diversos valores en los estudios de la dinámica molecular, no pudieron evaluarse por sus características físicas como la presentación líquida del compuesto o la presencia de algún colorante propio, las cuales impidieron la obtención puntual de la absorbancia.

El ensayo se basó en la cuantificación de la p-nitroanilina (pNA) liberada por hidrólisis del sustrato Gly-Pro-p-nitroanilida (Gly-Pro-pNA) a una concentración final de 100 μ M,

mediante un método colorimétrico a 405 nm. Este método asocia una menor absorbancia con una mayor actividad inhibitoria del compuesto sobre la enzima DPP-4. Los compuestos **J202**, **J200**, **J93** y **C37** presentaron los mejores valores de absorbancia de 0.341, 0.347, 0.328 y 0.349 respectivamente, por lo tanto, la mayor inhibición relativa. Sin embargo, todos los valores se ubicaron aproximadamente tres veces por encima de la Vidagliptina, con absorbancia de 0.106, el cual fue empleado como control positivo. A partir de las concentraciones ensayadas se estimó una $Cl_{50} > 500 \mu M$, lo que evidencia una baja afinidad de las moléculas por la DPP-4 en comparación con el control positivo. (Figura 6)

Los resultados del desempeño experimentan no coincidieron con los compuestos con mayor puntuación en el acoplamiento molecular, ni con los de mayor estabilidad energética en la simulación. Esta discrepancia es consistente con la limitación documentada de las funciones de puntuación del acoplamiento, los cuales son predictores débiles de la afinidad de unión y de la actividad biológica, y recalca el papel insustituible de la validación experimental en trabajos de diseño asistido por computadora.

En el plano estructural, la inhibición relativa de J93 fue mayor, relacionado a su interacción con varios de los residuos ancla de los subsitios de la DPP-4. La interacción con los subsitios S1 y S2 mediante Ser⁶³⁰, His⁷⁴⁰, Phe³⁵⁷ y Arg³⁵⁸ es compatible con el patrón descrito para compuestos con un perfil de unión favorable a estos bolsillos; sin embargo, la ausencia de interacciones con Glu²⁰⁵/Glu²⁰⁶, así como la carencia de puentes de hidrógeno adicionales o de contactos con los demás subsitios, limitaría la persistencia de su unión al sitio activo, lo cual se reflejaría en una actividad inhibitoria estimada menor (Mathur et al., 2023; Schnapp et al., 2020). En el caso de C37 (acarbosa), que inicialmente presenta interacciones con Glu²⁰⁵, Asn⁷¹⁰ y Ser⁶³⁰, y posteriormente suma contactos con Tyr⁵⁴⁷ y Tyr⁶⁶² (dos interacciones en S1 y tres en S2), su energía de unión resultó desfavorable, con un valor elevado que sugiere una baja afinidad por el sitio activo; esta inconsistencia entre el patrón de interacciones y el perfil energético es congruente con su escasa inhibición experimental. Con respecto a J202, sus contactos se concentran en el subsitio S2, interactuando con Glu²⁰⁶, Tyr⁶⁶⁶, Phe³⁵⁷, Tyr⁶²⁹ y Tyr⁵⁴⁷, mientras que su interacción con S1 es limitada, y su afinidad de unión resultó igualmente pobre, lo que sugeriría una menor permanencia del fármaco en contacto con la enzima. J200, si bien mostró una inhibición relativa similar, conserva únicamente la interacción π -alkil con His⁷⁴⁸ a lo largo de la simulación, lo que no le proporciona un anclaje sostenido en los subsitios clave.

En conjunto, ningún compuesto evaluado alcanzó una inhibición comparable a la de la vildagliptina a 100 μM . La comparación entre los parámetros estructurales (RMSD, RMSF, radio de giro, energía de unión) y el resultado experimental indica que la estabilidad conformacional del complejo por sí sola no predice la actividad inhibitoria, y que la ausencia de interacciones sostenidas con Glu²⁰⁵/Glu²⁰⁶ y con los subsitios asociados a mayor inhibición constituye la explicación más adecuada de la baja actividad observada. Estos resultados orientan a optimizar la estrategia de selección (cribado dirigido a los subsitios S1 y S2, o criterios de persistencia de interacciones) en futuras investigaciones.

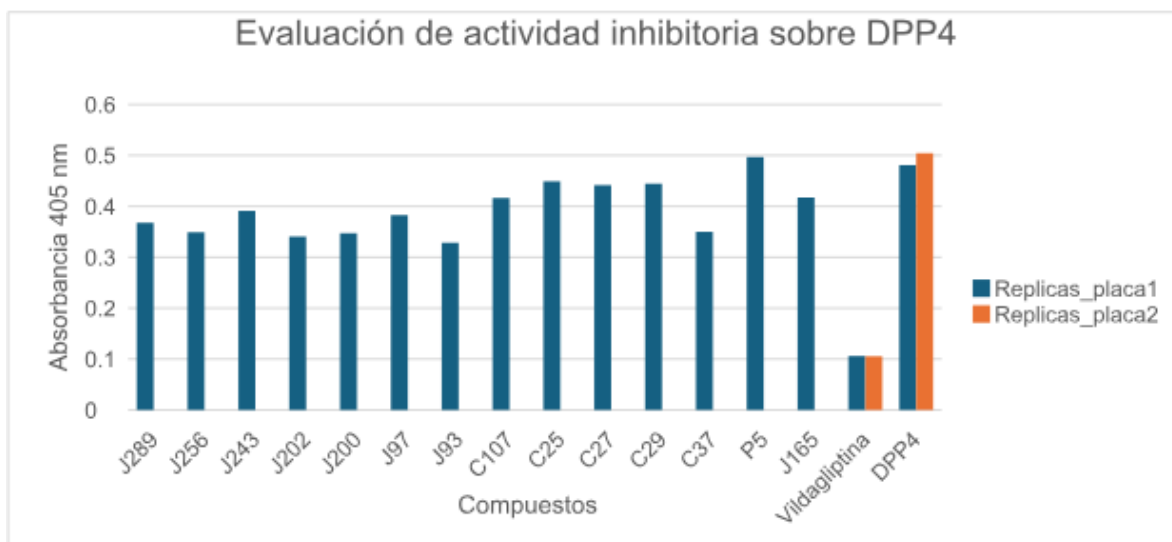


Fig 6. Gráfica de evaluación de actividad inhibitoria de las mejores 14 moléculas sobre la DPP-4.

7. CONCLUSIÓN

Se evaluaron las 408 moléculas de la quimioteca N015 mediante acoplamiento molecular sobre la enzima DPP-4 de *homo sapiens*, empleando Vina, Autodock y GOLD. Con base en la validación de los tres programas, a partir del RMSD obtenido para el ligando cocrystalizado en la estructura cristalográfica de la pdb, se seleccionaron los 20 mejores ligandos según el puntaje de ChemPLP de GOLD.

Los complejos DPP-4-compuesto se sometieron a simulaciones de dinámica molecular de 200 ns, evaluando RMSD, RMSF, energía de unión, radio de giro y conservación de interacciones con residuos de interés. A partir de la evaluación conjunta de estos parámetros, se priorizaron catorce moléculas para su evaluación in vitro frente a la DPP-4 humana recombinante.

En el ensayo enzimático a 100 μ M, los compuestos J202, J200, J93 y C37 mostraron la mayor inhibición relativa del grupo, con absorbancias de 0.349 a 0.328, si bien todos se ubicaron aproximadamente tres veces por encima del control positivo (vildagliptina, 0.106), con una CI50 estimada superior a 500 μ M. Ningún compuesto alcanzó, por tanto, una inhibición comparable a la de las gliptinas comercializadas.

La ausencia de múltiples interacciones de gran importancia en los subsitios S1 y S2 por parte de las moléculas puede ser la razón de la baja actividad inhibitoria. Por esta razón, es necesario optimizar la metodología y/o utilizar otras bases de datos para recuperar moléculas que sean capaces de interactuar en dichos subsitios y así obtener moléculas capaces de inhibir de forma más eficiente a la DPP-4.

8. REFERENCIAS

- Antar, S. A., Ashour, N. A., Sharaky, M., Khattab, M., Ashour, N. A., Zaid, R. T., Roh, E. J., Elkamhawy, A., & Al-Karmalawy, A. A. (2023). Diabetes mellitus: Classification, mediators, and complications; A gate to identify potential targets for the development of new effective treatments. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 168, 115734. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2023.115734>
- Arulmozhiraja, S., Matsuo, N., Ishitsubo, E., Okazaki, S., Shimano, H., & Tokiwa, H. (2016). Comparative Binding Analysis of Dipeptidyl Peptidase IV (DPP-4) with Antidiabetic Drugs – An Ab Initio Fragment Molecular Orbital Study. *PLOS ONE*, 11(11), e0166275. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0166275>
- Bayanati, M., Ismail Mahboubi Rabbani, M., Siros Kabiri, S., Mir, B., Rezaee, E., Tabatabai, S. A., Bayanati, M., Rabbani, M. I. M., Kabiri, S. S., Mir, B., Rezaee, E., & Tabatabai, S. A. (2024). Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors: A Systematic Review of Structure-Activity Relationship Studies. *IJ Pharmaceutical Research* 2024 23:1, 23(1), e151581. <https://doi.org/10.5812/IJPR-151581>
- Bittencourt, J. A. H. M., Neto, M. F. A., Lacerda, P. S., Bittencourt, R. C. V. S., Silva, R. C., Lobato, C. C., Silva, L. B., Leite, F. H. A., Zuliani, J. P., Rosa, J. M. C., Borges, R. S., & Santos, C. B. R. (2019). In Silico Evaluation of Ibuprofen and Two Benzoylpropionic Acid Derivatives with Potential Anti-Inflammatory Activity. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 1476, 24(8), 1476. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24081476>
- Bou-Rabee, N. (2014). Time integrators for molecular dynamics. *Entropy*, 16(1), 138–162. <https://doi.org/10.3390/E16010138>
- Campos, C. M., & Sanz-Serna, J. M. (2017). Palindromic 3-stage splitting integrators, a roadmap. *Journal of Computational Physics*, 346, 340–355. <https://doi.org/10.1016/j.jcp.2017.06.006>
- Cervantes, C. A. D., & Baptista, E. A. (2024). Mortality from type 2 diabetes mellitus across municipalities in Mexico. *Archives of Public Health* 2024 82:1, 82(1), 196-. <https://doi.org/10.1186/S13690-024-01432-Z>
- Chu, Y., & He, X. (2019). MoleGear: A Java-Based Platform for Evolutionary De Novo Molecular Design. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 1444, 24(7), 1444. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24071444>
- Cortés, J. F., Duran, C., Palacios Espinosa, J. F., Pérez Villanueva, J., Rodríguez Villar, K., & Cheyenne de la Cruz Martínez, L. (2026). *Guía práctica de Acoplamiento Molecular (molecular docking)-teoría y ejercicios con soluciones*.
- EBI SSM HELP - Result List - RMSD. (n.d.). Retrieved September 17, 2026, from https://www.ebi.ac.uk/msd-srv/ssm/rl_rmsd.html
- Fu, H., Chen, H., Blazhynska, M., Goulard Coderc de Lacam, E., Szczepaniak, F., Pavlova, A., Shao, X., Gumbart, J. C., Dehez, F., Roux, B., Cai, W., & Chipot, C. (2022). Accurate determination of protein:ligand standard binding free energies from molecular dynamics simulations. *Nature Protocols* 2022 17:4, 17(4), 1114–1141. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00676-1>

- Fu, X., Musaelian, A., John, H., Paulson, A., Johansson, A., Jaakkola, T., & Kozinsky, B. (2023). *Learning Interatomic Potentials at Multiple Scales*. <https://arxiv.org/pdf/2310.13756>
- Gallwitz, B. (2019). Clinical use of DPP-4 inhibitors. *Frontiers in Endocrinology*, 10(JUN), 464622. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2019.00389/TEXT>
- González, M. A. (2011). Force fields and molecular dynamics simulations. *École Thématique de La Société Française de La Neutronique*, 12, 169–200. <https://doi.org/10.1051/SFN/201112009>
- Gupta, R., Walunj, S. S., Tokala, R. K., Parsa, K. V. L., Singh, S. K., & Pal, M. (2009). Emerging Drug Candidates of Dipeptidyl Peptidase IV (DPP IV) Inhibitor Class for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Current Drug Targets*, 10(1), 71–87. <https://doi.org/10.2174/138945009787122860>
- Gurung, A. B., Ali, M. A., Lee, J., Farah, M. A., & Al-Anazi, K. M. (2021). An Updated Review of Computer-Aided Drug Design and Its Application to COVID-19. *BioMed Research International*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8853056>
- He, X., Man, V. H., Yang, W., Lee, T. S., & Wang, J. (2020). A fast and high-quality charge model for the next generation general AMBER force field. *Journal of Chemical Physics*, 153(11). <https://doi.org/10.1063/5.0019056/199591>
- International Diabetes Federation. (2025). *IDF Diabetes Atlas 11th Edition 2025 - International Diabetes Federation*. <https://idf.org/news-and-resources/resources/idf-diabetes-atlas-11th-edition-2025/>
- Jerez Fernández, C. I., Medina Pereira, Y. A., Ortiz Chang, A. S., González Olmedo, S. I., & Aguirre Gaete, M. C. (2022). Fisiopatología y alteraciones clínicas de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Nova Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*, 20(38), 65–103. <https://doi.org/10.22490/24629448.6184>
- Kadupitiya, J. C. S., Fox, G. C., & Jadhao, V. (2020). Solving Newton's Equations of Motion with Large Timesteps using Recurrent Neural Networks based Operators. *Machine Learning: Science and Technology*, 3(2). <https://doi.org/10.1088/2632-2153/ac5f60>
- Kalra, S., Bhattacharya, S., Dhingra, A., Das, S., Kapoor, N., Shaikh, S., Kolapkar, V., Kumar, R. V. L., Patel, K., Kotwal, R., Kalra, S., Bhattacharya, S., Dhingra, A., Das, S., KAPOOR, N., Shaikh, S., Kolapkar, V., Kumar, R. V. L., Patel, K., & Kotwal, R. (2024). Expert Consensus on Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor-Based Therapies in the Modern Era of Type 2 Diabetes Mellitus Management in India. *Cureus*, 16(6). <https://doi.org/10.7759/CUREUS.61766>
- Kumar, S., Mittal, A., & Mittal, A. (2021). A review upon medicinal perspective and designing rationale of DPP-4 inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 46, 116354. <https://doi.org/10.1016/J.BMC.2021.116354>
- Lin, Y. (2022). Review of Modern Computer-aided Drug Design Methods. *International Journal of Biology and Life Sciences*, 1(1), 47–50. <https://doi.org/10.54097/IJBLS.V1I1.3230>
- Mahgoub, S., Fatahala, S. S., Sayed, A. I., Atya, H. B., El-Shehry, M. F., Afifi, H., Awad, S. M., El-Hameed, R. H. A., & Taha, H. (2022). Novel hit of DPP-4Is as promising antihyperglycemic agents with dual antioxidant/anti-inflammatory effects for type 2 diabetes with/without

- COVID-19. *Bioorganic Chemistry*, 128, 106092.
<https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2022.106092>
- Maladkar, M., Sankar, S., Kamat, K., Maladkar, M., Sankar, S., & Kamat, K. (2016). Teneligliptin: Heraldng Change in Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Mellitus*, 6(2), 113–131.
<https://doi.org/10.4236/JDM.2016.62012>
- Masetti, M., & Rocchia, W. (2014). Molecular mechanics and dynamics: numerical tools to sample the configuration space. *Frontiers in Bioscience (Landmark Edition)*, 19(4), 578–604.
<https://doi.org/10.2741/4229>
- Mathur, V., Alam, O., Siddiqui, N., Jha, M., Manaithiya, A., Bawa, S., Sharma, N., Alshehri, S., Alam, P., & Shakeel, F. (2023). Insight into Structure Activity Relationship of DPP-4 Inhibitors for Development of Antidiabetic Agents. *Molecules*, 28(15), 5860.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES28155860>
- Metzler, W. J., Yanchunas, J., Weigelt, C., Kish, K., Klei, H. E., Xie, D., Zhang, Y., Corbett, M., Tamura, J. K., He, B., Hamann, L. G., Kirby, M. S., & Marcinkeviciene, J. (2008). Involvement of DPP-IV catalytic residues in enzyme–saxagliptin complex formation. *Protein Science*, 17(2), 240–250. <https://doi.org/10.1110/PS.073253208>;CTYPE:STRING:JOURNAL
- Miah, R., Rashid Issahaku, A., Istiaque Hamim, S. M., Wilhelm, A., Fadhilzil Fasihi Mohd Aluwi, M., Pahang, M., Abdullah, A.-S., Persiaran Tun Khalil Yaakob, L., & Pahang Al-Sultan Abdullah, M. (2026). *Mechanistic Insights into Usnic Acid Derivatives for Gut Inflammation in Colon Cancer: An In-Silico and Systems Biology Study*. <https://doi.org/10.33263/BRIAC163.084>
- Miao, Y., Feixas, F., Eun, C., & McCammon, J. A. (2015). Accelerated molecular dynamics simulations of protein folding. *Journal of Computational Chemistry*, 36(20), 1536–1549.
<https://doi.org/10.1002/JCC.23964>
- Monticelli, L., & Tieleman, D. P. (2013). *Force Fields for Classical Molecular Dynamics*. 197–213.
https://doi.org/10.1007/978-1-62703-017-5_8
- Neville, N., & Jia, Z. (2019). Approaches to the Structure-Based Design of Antivirulence Drugs: Therapeutics for the Post-Antibiotic Era. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 378, 24(3), 378.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES24030378>
- Padole, S. S., Asnani, A. J., Chaple, D. R., Katre, S. G., Padole, S. S., Asnani, A. J., Chaple, D. R., & Katre, S. G. (2022). A review of approaches in computer-aided drug design in drug discovery. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 19(2), 75–83.
<https://doi.org/10.30574/GSCBPS.2022.19.2.0161>
- Prasetyo, A., Kumala, S., Mumpuni, E., Tjandrawinata, R. R., & Yuliana, N. D. (2025). DIPEPTIDYL-PEPTIDASE-4 INHIBITORS FROM TINOSPORA CRISPA AS REVEALED BY METABOLOMICS STUDY, MOLECULAR DOCKING AND MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION APPROACHES. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 49(3), 615–630.
<https://doi.org/10.33483/JFPAU.1526137>

- Quiroga, R., & Villarreal, M. A. (2016). Vinardo: A Scoring Function Based on Autodock Vina Improves Scoring, Docking, and Virtual Screening. *PLOS ONE*, 11(5), e0155183. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0155183>
- Ranjbar, S., Kamarei, M. M., Sakhteman, A., & Khoshneviszadeh, M. (2019). TIPS..... Discovery of Potential Natural Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors for Type-2 Diabetes Treatment via Structure-Based Virtual Screening. In *Trends in Pharmaceutical Sciences* (Vol. 2019, Number 3). <http://www.rcsb.org/pdb>
- Sabe, V. T., Ntombela, T., Jhamba, L. A., Maguire, G. E. M., Govender, T., Naicker, T., & Kruger, H. G. (2021). Current trends in computer aided drug design and a highlight of drugs discovered via computational techniques: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 224. <https://doi.org/10.1016/J.EJMECH.2021.113705>
- Sahu, R., Jain, S. K., & Jain, D. (2025). Exploring DPP-IV inhibitors for diabetes treatment: A comprehensive study on molecular docking, molecular dynamics simulation, and in-vitro DPP-IV assay. *Letters in Drug Design & Discovery*, 22(8), 100131. <https://doi.org/10.1016/J.LDDD.2025.100131>
- Saini, K., Sharma, S., & Khan, Y. (2023). DPP-4 inhibitors for treating T2DM - hype or hope? an analysis based on the current literature. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 10, 1130625. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2023.1130625/FULL>
- Schnapp, G., Hoevels, Y., Bakker, R. A., Schreiner, P., Klein, T., & Nar, H. (2020). A Single Second Shell Amino Acid Determines Affinity and Kinetics of Linagliptin Binding to Type 4 Dipeptidyl Peptidase and Fibroblast Activation Protein. *Chemmedchem*, 16(4), 630. <https://doi.org/10.1002/CMDC.202000591>
- Schneider, J., Hamaekers, J., Chill, S. T., Smidstrup, S., Bulin, J., Thesen, R., Blom, A., & Stokbro, K. (2017). ATK-ForceField: A New Generation Molecular Dynamics Software Package. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, 25(8). <https://doi.org/10.1088/1361-651X/aa8ff0>
- Shaikh, S. A., Li, J., Enkavi, G., Wen, P. C., Huang, Z., & Tajkhorshid, E. (2013). Visualizing Functional Motions of Membrane Transporters with Molecular Dynamics Simulations. *Biochemistry*, 52(4), 569–587. <https://doi.org/10.1021/BI301086X>
- Shoombuatong, W., Prachayasittikul, V., Anuwongcharoen, N., Songtawee, N., Monnor, T., Prachayasittikul, S., Prachayasittikul, V., & Nantasenamat, C. (2015). Navigating the chemical space of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 4515–4549. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S86529>
- Sousa, S. F., Ribeiro, A. J. M., Coimbra, J. T. S., Neves, R. P. P., Martins, S. A., Moorthy, N. S. H. N., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2013). Protein-ligand docking in the new millennium--a retrospective of 10 years in the field. *Current Medicinal Chemistry*, 20(18), 2296–2314. <https://doi.org/10.2174/0929867311320180002>

- Spasov, D. S., Atanasova, M., & Doytchinova, I. (2023). A role of salt bridges in mediating drug potency: A lesson from the N-myristoyltransferase inhibitors. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 1066029. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2022.1066029/TEXT>
- Strati, M., Moustaki, M., Psaltopoulou, T., Vryonidou, A., & Paschou, S. A. (2024). Early onset type 2 diabetes mellitus: an update. *Endocrine*, 85(3), 965–978. <https://doi.org/10.1007/S12020-024-03772-W>
- Su, J., Luo, Y., Hu, S., Tang, L., & Ouyang, S. (2023). Advances in Research on Type 2 Diabetes Mellitus Targets and Therapeutic Agents. *International Journal of Molecular Sciences* 2023, Vol. 24, Page 13381, 24(17), 13381. <https://doi.org/10.3390/IJMS241713381>
- Tatum, N. J. (2015). *Durham E-Theses Discovery by Virtual Screening of Ethionamide Boosters for Tuberculosis Treatment*. <https://etheses.durham.ac.uk>
- Trzaskalski, N. A., Fadzeyeva, E., & Mulvihill, E. E. (2020). Dipeptidyl Peptidase-4 at the Interface Between Inflammation and Metabolism. *Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes*, 13. <https://doi.org/10.1177/1179551420912972>;JOURNAL:JOURNAL:ENDA;PAGEGROUP:STRING: PUBLICATION
- Tuersun, A., Mohetaer, M., Hou, G., & Cheng, G. (2024). Safety and Efficiency of Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitors in Patients with Diabetic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Current Therapeutic Research*, 101, 100763. <https://doi.org/10.1016/J.CURTHERES.2024.100763>
- Tuszynski, J. A., Winter, P., White, D., Tseng, C. Y., Sahu, K. K., Gentile, F., Spasevska, I., Omar, S. I., Nayebi, N., Churchill, C. D., Klobukowski, M., & El-Magd, R. M. A. (2014). Mathematical and computational modeling in biology at multiple scales Biophysics. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 11(1), 52-. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-11-52/TABLES/3>
- Unke, O. T., Koner, D., Patra, S., Käser, S., & Meuwly, M. (2019). High-Dimensional Potential Energy Surfaces for Molecular Simulations. *Machine Learning: Science and Technology*, 1(1). <https://doi.org/10.1088/2632-2153/ab5922>
- Wankhade, N., Sharma, A., Wani, M. A., Banerjee, A., & Garg, P. (2024). Predictive Modeling and Drug Repurposing for Type-II Diabetes. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 15(11), 1907–1917. <https://doi.org/10.1021/ACSMEDCHEMLETT.4C00358>
- Yin, R., Xu, Y., Wang, X., Yang, L., & Zhao, D. (2022). Role of Dipeptidyl Peptidase 4 Inhibitors in Antidiabetic Treatment. *Molecules*, 27(10), 3055. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27103055>
- Zare, F., Ataollahi, E., Mardaneh, P., Sakhteman, A., Keshavarz, V., Solhjoo, A., & Emami, L. (2024). A combination of virtual screening, molecular dynamics simulation, MM/PBSA, ADMET, and DFT calculations to identify a potential DPP4 inhibitor. *Scientific Reports* 2024 14:1, 14(1), 7749-. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-58485-x>

Zhang, Q. (2022). *Characterization of the Magnetism and Conformation of Single Porphyrin Molecules Adsorbed on Surfaces, and Artificial Graphene Nanoflakes*.
<https://arxiv.org/pdf/2201.07085>

9. ANEXO

Tabla A1. Acoplamiento molecular en GOLD, Autodock y Vina.

Molécula	CHEMPLP	GOLDScore	ASP	Autodock (kcal/mol)	VINA (kcal/mol)
C29	86.72	69.9901	50.9943	-11.77	-8.572
J94	83.7003	64.3644	41.1262	-10.31	-7.556
C107	83.3546	81.4736	54.098	-12.67	-9.64
J76	83.1264	82.8953	57.5846	-12.07	-9.291
J200	82.9458	71.9847	53.9022	-10.79	-7.699
C37	80.6613	81.288	50.593	-9.28	-8.257
J97	79.8726	71.1774	49.1631	-11.59	-8.676
J202	79.5152	68.6226	61.2382	-11.56	-9.883
J243	79.1995	66.6918	48.9938	-9.55	-11.363
C25	78.6991	71.1076	41.2418	-11.37	-9.378
P6	78.4103	72.2444	44.4486	-10.41	-9.314
J93	77.6358	64.3551	46.0691	-9.15	-7.639
J289	77.5283	64.6337	48.6559	-9.62	-10.395
C27	76.9538	67.6646	49.2555	-11.91	-9.536
J71	76.7921	67.142	48.0345	-10.14	-8.829
J225	76.6613	63.5968	52.069	-10.53	-8.781

J256	76.6364	68.6523	49.5172	-9.56	-10.339
C68	76.5679	73.1728	45.6488	-11.53	-8.365
P5	75.9302	65.3536	41.1986	-9.73	-9.19
J165	75.7304	59.6054	43.6862	-9.9	-10.226
J72	75.6405	68.688	50.3728	-10.38	-8.642
J156	75.4468	68.0772	52.2019	-10.2	-8.88
J58	75.348	63.0529	46.931	-9.96	-10.088
C79	75.2696	67.7009	35.9469	-11.01	-9.232
C28	75.1159	66.5109	48.4701	-11.23	-9.575
C34	75.0604	65.4675	41.3397	-10.85	-9.273
C67	74.7934	67.6377	42.3034	-11.54	-8.609
C98	74.7387	69.8787	44.2156	-11.51	-8.309
J265	74.6649	65.4595	46.1193	-9.25	-9.828
J60	74.6376	60.6785	41.5714	-9.61	-10.204
C69	74.6172	67.4457	42.953	-11.39	-8.589
C87	74.5188	71.4561	44.5171	-9.08	-9.083
J80	74.3681	68.1507	51.4357	-8.65	-8.943
J73	73.749	70.5756	52.6159	-10.74	-8.193
J198	73.7057	59.7236	39.9124	-8.86	-7.91
J171	73.5206	59.6665	45.2652	-8.75	-10.277
C102	73.3388	47.7438	48.5622	-7.7	-9.081
J75	73.2393	69.883	46.5047	-10.21	-8.405
J142	73.2379	62.9154	46.5965	-8.99	-8.852

J201	72.6963	62.3554	36.4996	-10.03	-8.581
J59	72.6115	66.4733	49.554	-9.87	-10.177
J63	72.5727	58.4778	41.1491	-9.65	-10.168
J266	72.49	61.1258	44.2181	-9.19	-10.144
J99	72.4721	74.2367	42.2349	-9.17	-7.282
J264	72.2644	64.9577	44.7523	-8.97	-10.284
J172	71.9813	59.3123	46.1793	-8.84	-9.178
J56	71.9294	64.5278	46.6182	-10.35	-9.906
J53	71.7065	60.5101	44.2578	-9	-10
J57	71.6791	63.4091	47.0071	-9.37	-8.939
J74	71.6453	71.113	43.3053	-10.63	-8.196
J166	71.5872	69.966	44.9075	-9.52	-9.786
P4	71.1522	60.6205	39.0649	-8.94	-9.139
P7	70.7362	63.1498	44.2239	-9.93	-8.427
J227	70.6663	63.5768	34.2206	-8.27	-7.797
J62	70.6586	62.175	40.6713	-9.16	-8.719
J206	70.3965	59.009	40.2371	-7.53	-9.032
J269	70.2611	58.0198	43.0873	-9.2	-9.825
J226	70.1574	65.133	43.2944	-9.17	-8.76
J193	70.1123	55.1278	38.9194	-7.25	-8.659
J191	70.0641	59.8125	40.7736	-8.27	-7.865
J170	69.9568	61.3624	43.8868	-8.25	-9.871
J55	69.902	61.1165	42.2075	-8.49	-8.968

C35	69.8702	68.7523	41.7791	-11.66	-8.779
J240	69.777	59.4382	42.2596	-7.32	-8.271
J20	69.7208	52.2729	38.1469	-8.58	-8.408
J48	69.2712	60.5251	40.0883	-8.34	-8.797
C56	69.2156	59.2025	40.9003	-8.41	-8.388
J267	69.2148	62.582	43.636	-8.68	-9.741
J147	69.2122	58.6806	45.6956	-8.67	-8.53
J98	69.1585	58.4248	45.9391	-7.77	-9.782
C85	69.157	66.8426	41.4322	-11.81	-8.674
J47	69.1279	62.2181	39.3092	-8.24	-8.414
P12	68.582	60.9319	43.1216	-9.54	-8.929
J61	68.4743	59.8094	41.5894	-9.78	-10.09
J153	68.2982	56.4967	45.0632	-8.12	-10.307
J52	68.1878	55.7115	42.2974	-7.78	-9.016
P11	68.1853	57.0945	40.7348	-9.49	-8.387
C95	68.1449	49.1304	42.6429	-7.78	-9.327
J212	68.1052	58.2744	41.8657	-8.24	-9.872
J54	67.9416	61.2958	41.5775	-8.3	-8.35
J51	67.8051	56.4544	36.4503	-8.38	-8.737
J213	67.804	53.007	38.5571	-8.59	-8.832
J92	67.7712	59.1611	39.3839	-8.11	-8.136
C103	67.6632	53.5122	48.432	-8.12	-9.323
J169	67.5925	60.9003	40.8219	-8.51	-8.463

J174	67.59	56.1606	40.575	-8.32	-9.114
J268	67.3614	55.0002	44.1044	-8.73	-9.551
J19	67.1651	52.7093	37.751	-8.08	-7.546
J50	67.1611	56.5632	40.0031	-8.21	-9.75
J104	67.019	58.3498	38.8902	-7.64	-7.949
J161	66.9971	57.3386	42.8023	-8.84	-8.77
C97	66.9615	55.0948	44.9499	-7.87	-9.049
J178	66.8731	59.7383	41.8417	-8.57	-9.13
C21	66.4728	62.6227	31.0865	-9.98	-7.903
P8	66.4103	57.482	35.512	-8.2	-8.161
J224	66.4084	59.8135	42.7234	-8.86	-8.098
J49	66.3588	60.4887	43.5865	-8.68	-10.487
J192	66.1651	59.7364	43.4051	-8.2	-8.457
P10	66.1046	61.3588	47.4556	-9.07	-7.112
J42	66.0984	51.6662	36.2734	-8.16	-8.655
J143	65.9991	59.3366	43.73	-9.77	-7.087
J134	65.8958	66.5708	46.6196	-10.01	-8.151
C60	65.7946	60.73	36.446	-8.1	-8.754
J168	65.7043	58.9413	41.253	-8.42	-9.409
J140	65.6706	55.0258	41.1809	-8.74	-8.566
P13	65.6295	62.3854	43.3097	-9.17	-7.149
J163	65.3793	53.2184	33.3735	-9.02	-7.57
J139	65.2868	57.7597	41.0201	-8.49	-7.893

J21	65.2293	54.0086	38.1332	-8.62	-8.245
J37	65.1031	53.5852	39.5753	-7.42	-8.471
J130	65.0871	52.1513	40.0383	-8.25	-8.864
C101	64.9815	48.7763	42.3338	-6.94	-9.069
J46	64.8165	52.6272	40.1041	-7.98	-8.675
J106	64.7538	61.5186	39.9002	-8.56	-8.093
J127	64.7187	63.3289	37.8527	-9.07	-6.735
J283	64.698	58.6905	39.1952	-8.76	-8.793
J160	64.6709	51.6141	39.0595	-9.55	-7.574
J141	64.6065	60.0946	43.7037	-8.6	-7.998
J38	64.5239	56.0768	36.3275	-8.04	-8.616
J245	64.4572	55.7693	34.2748	-8.51	-8.073
J209	64.4293	72.9344	49.8199	-10.01	-9.882
J144	64.2193	60.4912	45.9479	-9.59	-8.745
C106	64.2031	60.4561	45.2649	-11.17	-9.851
J167	63.9891	54.3086	39.0093	-7.95	-9.399
C36	63.9836	69.5731	36.5225	-11.79	-8.578
C59	63.958	57.2152	37.8623	-8.08	-8.069
J41	63.932	53.4992	36.0936	-7.87	-9.127
C105	63.8742	58.2757	44.0789	-11.03	-9.76
J105	63.8544	59.3079	38.1619	-8.1	-7.961
J44	63.8011	58.1982	42.9507	-9.3	-9.355
C104	63.7824	56.2097	49.0878	-7.98	-8.892

J84	63.7242	53.7909	39.5144	-8.84	-8.051
J177	63.6941	49.1753	38.2827	-7.15	-8.656
J151	63.5258	54.8748	36.846	-8.58	-8.634
P14	63.4875	62.8788	42.7456	-9.03	-7.172
J214	63.4843	57.7272	36.5303	-8.2	-7.538
J146	63.4169	56.1211	40.8687	-8.47	-8.41
J211	63.351	55.3294	39.3366	-7.91	-7.686
J173	63.3059	51.6058	36.3678	-7.7	-8.75
C55	63.2247	57.6076	37.533	-7.97	-8.548
J242	63.1448	51.7031	36.784	-8.12	-8.888
J162	62.9846	57.1652	43.9882	-9.18	-8.373
C88	62.9334	68.3054	39.1975	-11.94	-10.459
C119	62.9031	64.8995	45.9866	-12	-10.176
C19	62.8475	65.901	32.3027	-9.65	-8.067
C58	62.7999	60.06	33.884	-7.88	-8.081
C20	62.6824	62.8316	32.8473	-10.21	-7.756
J232	62.5402	52.191	36.5873	-8.01	-7.634
C57	62.5102	68.0517	33.5827	-7.97	-7.838
J39	62.5037	57.891	37.3517	-8.58	-8.439
J148	62.4829	62.8207	42.7709	-9.78	-7.613
J223	62.4752	57.4008	36.9158	-8.2	-7.562
J164	62.3366	55.7868	43.9587	-8.98	-8.399
J210	62.2112	54.1315	41.4315	-8.18	-8.054

J36	62.1149	54.8714	40.1015	-7.99	-8.832
J66	62.0495	51.2402	35.7885	-7.72	-8.75
C99	61.945	53.1549	39.358	-11.26	-10.757
C100A	61.9091	53.62	36.0309	-11.17	-11.091
C22	61.863	64.8647	33.4518	-9.98	-8.391
C54	61.8372	56.7293	37.3003	-8.23	-8.522
J186	61.8281	47.9085	37.8977	-8.8	-9.273
J190	61.7737	57.2322	42.5658	-8.56	-8.054
J228	61.5849	55.7897	38.3236	-8.51	-7.896
J24	61.5383	51.4413	36.4575	-8.23	-7.727
J18	61.4541	55.6094	36.7843	-8.84	-8.853
J43	61.2439	57.2881	38.0572	-8.28	-9.166
J194	61.226	54.3608	36.9437	-7.39	-8.321
J252	61.2232	56.4	37.5979	-7.23	-7.091
J189	61.1732	51.9663	38.9129	-8.37	-8.023
C74	61.0863	57.8404	38.6073	-10.27	-9.716
P9	61.0356	63.0439	44.1599	-9.23	-6.89
C46	60.9643	52.2613	36.2203	-10.09	-9.988
J121	60.7713	48.1447	39.448	-8.01	-7.702
J199	60.7674	49.1202	45.8088	-7.08	-7.113
J40	60.744	59.7138	36.8539	-8.52	-9.277
J257	60.6453	56.7217	38.7914	-8.42	-7.439
C96	60.6437	48.2489	45.4765	-7.88	-8.719

J246	60.5119	47.8538	32.9813	-6.21	-8.686
J154	60.4256	57.6686	41.2844	-8.28	-8.037
J281	60.3398	54.5319	33.5021	-7.59	-6.873
J107	60.3003	56.3714	41.4949	-7.18	-7.737
C62	60.2774	51.5813	39.559	-7.7	-8.855
J231	60.2407	52.6604	38.2537	-8.15	-7.357
J272	60.2316	47.3829	37.6553	-6.97	-9.007
J126	60.2315	64.7899	34.7566	-8.56	-7.55
C76	60.0545	60.0484	34.3064	-10.32	-9.915
J208	59.9707	50.9197	36.2588	-7.54	-7.5
J83	59.9551	53.8777	42.8228	-8.31	-8.012
J101	59.906	53.6182	35.8181	-8.87	-8.041
J233	59.9034	50.5401	41.1218	-8.92	-7.972
C16	59.8795	57.9979	35.9468	-11.75	-10.263
J45	59.8791	54.0958	38.8943	-8.28	-8.488
J79	59.7646	49.9312	33.6038	-7.6	-7.276
J275	59.734	50.6754	38.113	-8.07	-8.259
J184	59.7217	51.1938	34.7662	-8.24	-8.748
C70	59.6479	58.8125	41.0789	-11.91	-10.302
C51	59.6271	54.1722	36.0589	-10.16	-9.988
J9	59.5824	51.8603	32.0348	-8.59	-7.716
C81A	59.5533	52.8406	32.7637	-10.62	-10.395
C61	59.536	52.2461	39.1734	-7.59	-9.24

C108	59.4859	60.9018	39.1758	-11	-9.672
J188	59.4581	51.5546	36.3653	-7.05	-8.176
J95	59.4101	53.6008	29.0543	-6.97	-7.294
J241	59.3299	57.9821	38.1314	-8.94	-6.743
C65	59.2818	60.0666	40.2652	-8.29	-9.212
J17	59.2491	51.4951	33.7199	-7.95	-7.713
J8	59.0857	53.9979	31.1379	-7.59	-7.653
J145	59.0712	55.6181	41.6807	-8.98	-8.073
C24	59.0214	58.2201	35.3522	-10.11	-8.577
J30	58.9943	50.4164	36.4742	-7.09	-8.627
J137	58.9366	49.4535	40.0531	-7.89	-7.659
J27	58.7297	46.8917	41.3421	-7.01	-8.623
J197	58.7141	52.6514	37.6511	-7.85	-7.974
C90	58.6981	64.4955	40.5335	-10.94	-10.049
J185	58.6571	54.0091	35.3352	-8.29	-8.432
J4	58.5797	53.3228	33.0993	-7.59	-7.554
J249	58.5508	51.6659	38.1085	-7.3	-7.295
J235	58.4865	47.9872	37.8116	-8.6	-8.007
C12	58.4823	54.3943	41.0309	-9.95	-10.079
J152	58.4514	47.4602	37.1742	-7.09	-8.63
J132	58.3393	53.7461	38.0372	-7.78	-7.473
J216	58.2885	50.8139	33.827	-7.21	-7.925
J135	58.2727	57.5635	46.6054	-10.18	-7.699

J187	58.1473	53.0864	38.3404	-9.04	-9.804
J159	58.1253	48.4359	38.7849	-8.1	-7.353
C6A	58.0364	60.0041	33.7741	-10.79	-10.487
J100	58.0325	59.933	37.3176	-7.25	-7.653
J183	58.0121	50.1957	33.6683	-8.09	-8.432
J288	58.0069	49.6049	32.6234	-7.59	-7.886
J155	57.9528	50.6952	42.4959	-8.16	-8.186
J182	57.9482	49.3543	34.6961	-7.83	-8.134
J15	57.9436	50.3098	35.5142	-7.39	-7.75
C72	57.8684	62.8385	36.1411	-10.69	-10.791
J16	57.6793	54.0923	33.8898	-8.3	-8.157
J131	57.6766	55.0229	41.1051	-7.68	-7.247
J236	57.6157	44.9368	36.9415	-8.2	-7.695
J138	57.4835	45.9406	35.5235	-7.97	-8.331
C109	57.4258	61.4262	32.1879	-11.56	-10.291
J253	57.4181	55.0167	39.9568	-6.87	-7.009
J251	57.3634	50.6724	32.9037	-6.23	-7.481
J263	57.3308	51.807	38.6232	-7.4	-7.435
J237	57.3187	52.8114	35.5688	-6.83	-8.452
C64	57.299	57.0007	39.7291	-8.56	-8.72
J217	57.2588	48.5842	36.0228	-7.41	-7.842
C41	57.1398	54.9916	35.6968	-9.76	-10.319
C71	57.1225	56.1282	41.9324	-11.8	-10.607

J129	57.0934	53.7807	34.6661	-7.93	-7.094
J13	57.0726	46.5251	34.5877	-6.86	-7.964
J181	57.0613	51.0506	34.2136	-8.22	-8.49
J96	57.0579	47.0801	32.1252	-7.63	-7.142
J195	57.0543	58.0957	33.3002	-7.9	-8.654
C77	56.9422	53.3703	39.5916	-10.32	-9.947
J77	56.9082	48.5297	33.4141	-8.28	-7.279
J29	56.826	46.9998	33.1782	-6.39	-8.313
C78	56.7137	60.3936	35.4153	-9.67	-10.482
J133	56.6398	50.2221	33.4355	-7.62	-7.727
C66	56.4495	61.5298	39.7396	-7.29	-9.398
C73	56.3355	58.6475	39.1389	-10.05	-10.145
J205	56.3293	49.7737	33.3214	-7.65	-8.414
J5	56.3078	54.8828	32.6156	-7.69	-8.096
J14	56.256	48.5706	32.5583	-7.34	-7.758
J25	56.1473	45.9312	33.2043	-7.08	-7.429
J23	56.0141	45.8015	32.8444	-6.98	-7.52
J26	55.7129	43.3215	34.0634	-6.57	-7.811
C80A	55.6988	55.8066	40.6245	-10.28	-10.463
C81B	55.6564	57.2678	30.5635	-10.26	-9.748
J35	55.6262	47.1973	36.2005	-6.93	-7.811
J150	55.6139	47.3356	33.7213	-7.63	-7.936
J31	55.4845	43.6462	37.0042	-6.63	-7.712

C63	55.4454	53.0863	40.0245	-8.29	-8.642
J22	55.415	49.4806	35.3191	-7.03	-7.396
J219	55.3364	51.8028	34.7306	-6.77	-7.49
C11	55.2968	54.6656	32.1647	-10.29	-9.678
J238	55.2745	47.5644	33.6667	-8.41	-8.033
J234	55.1576	49.398	32.6034	-7.52	-7.672
C9	55.0741	55.9457	34.7391	-10.08	-9.813
C100B	54.9835	60.4247	36.2617	-10.15	-9.686
J279	54.9234	46.6508	33.8333	-7.62	-8.236
C80B	54.8647	55.6946	30.3084	-10.23	-9.785
C5	54.634	55.9969	36.3255	-10.44	-9.786
J118	54.6214	50.7205	34.6686	-7.31	-6.534
J158	54.5428	49.8592	37.9083	-7.4	-8.096
J3	54.4757	48.4891	32.3785	-7.18	-7.211
C6B	54.41	57.8281	37.046	-10.31	-9.915
J78	54.3882	48.5305	32.798	-7.5	-6.77
C75	54.3253	58.1179	32.3797	-10.6	-9.962
J215	54.0851	49.6309	33.9384	-6.92	-7.691
J203	53.8142	60.6083	33.5664	-6.9	-6.607
J284	53.6676	48.2798	35.4003	-7.43	-8.192
J261	53.5325	49.4467	35.1969	-6.73	-7.357
J276	53.4305	50.4796	36.7655	-7.48	-7.25
J282	53.2367	54.1469	32.1789	-7.51	-6.906

J176	53.1892	47.2366	33.9174	-7.88	-7.234
C15	53.1807	57.397	35.6297	-11.94	-10.198
C2	52.9536	50.4554	35.5896	-9.9	-8.854
J103	52.9219	43.176	38.4203	-6.12	-7.254
J10	52.8834	46.6338	33.8923	-7.37	-7.217
C53	52.8689	53.6731	32.183	-11.64	-10.247
J91	52.8573	55.6644	31.5442	-7.83	-6.79
J111	52.7364	52.6162	37.706	-7.31	-6.825
J290	52.6808	47.2671	32.8539	-7.74	-8.085
J33	52.675	47.5413	32.2027	-6.73	-7.638
J250	52.582	47.425	34.049	-6.26	-7.163
C48	52.5653	55.5505	39.7392	-12.51	-10.212
J207	52.4388	48.538	34.6558	-6.85	-6.699
J218	52.3686	46.4599	32.7671	-7.44	-7.4
C43	52.2035	55.971	36.4523	-10.81	-10.004
J229	52.0762	48.7491	32.1561	-6.98	-7.575
C17	52.0116	56.3341	35.0603	-11.88	-10.055
C18	51.8533	56.9465	44.1136	-11.41	-10.869
J12	51.8124	43.7645	33.3493	-6.64	-7.41
J28	51.8104	44.1389	33.4456	-6.85	-7.896
C38	51.625	57.2704	33.293	-9.71	-9.167
J11	51.5709	47.6117	32.0318	-6.97	-7.034
J34	51.5385	46.9678	34.0958	-6.99	-8.231

J7	51.4934	44.9739	30.5387	-7.06	-7.262
C1	51.4886	53.4023	32.1871	-10.17	-8.869
J6	51.4885	46.0201	31.9486	-6.85	-7.359
J258	51.4877	45.1712	33.8422	-7	-7.13
J109	51.4865	54.49	32.6363	-7.18	-6.539
J285	51.452	46.349	33.4147	-7.3	-7.759
C10	51.4394	57.158	32.2668	-11.32	-9.968
J89	51.3662	49.1926	25.8441	-6.64	-6.731
C89	51.3655	68.1946	38.228	-10.34	-10.542
J286	51.3554	44.2006	32.3172	-7.55	-8.152
J239	51.1352	45.9733	31.9286	-8.66	-7.751
J247	51.0572	48.4122	33.4716	-6.85	-6.662
J32	51.0397	44.4899	33.9177	-6.5	-7.884
J175	51.0217	49.2475	29.7474	-7.08	-6.801
J262	50.8161	44.9967	33.6255	-7.02	-7.858
J259	50.4927	48.7968	34.5488	-7.67	-6.982
J116	50.4487	46.7917	35.0517	-7.17	-6.746
J2	50.3952	44.3562	29.3979	-6.39	-7.632
J260	50.2835	47.8588	33.7232	-7.12	-7.075
J271	50.2701	45.6615	37.551	-6.95	-6.565
J149	50.1166	47.3029	31.3224	-7.55	-8.071
J179	50.0996	47.4883	30.7014	-7.12	-6.882
J287	49.9883	47.4289	32.4503	-7.5	-8.397

C8	49.936	54.5856	30.399	-11.28	-10.286
J90	49.9019	43.619	26.2566	-6.29	-6.91
C91	49.8883	58.3708	39.1246	-11.61	-10.266
J180	49.778	45.7931	31.8781	-7.64	-6.837
J115	49.6976	47.2782	33.9922	-7.05	-7.21
J280	49.4807	45.6719	29.237	-6.16	-7.603
J122	49.3277	42.2649	31.8012	-6.55	-7.65
C40	49.3194	48.1409	31.4823	-9.65	-9.052
J136	49.216	44.6362	29.3171	-6.99	-8.142
J119	49.2151	53.1949	35.0619	-7.15	-6.765
J110	49.0903	51.1699	36.8236	-7.13	-5.97
P2	48.9294	42.3151	32.389	-7.06	-6.466
P3	48.6447	41.6648	29.1481	-6.68	-7.107
J117	48.456	52.8059	34.0851	-7.5	-6.323
J230	48.0374	45.8653	35.4369	-7.89	-6.137
J123	48.0036	41.6894	31.7169	-5.68	-5.276
J67	47.9143	44.9529	29.8486	-7.08	-7.77
J108	47.8426	50.909	33.8535	-6.96	-6.859
J102	47.7992	43.4207	28.7784	-7.62	-6.17
J112	47.7192	57.9478	34.9338	-7.15	-6.651
J255	47.2883	43.2904	34.3692	-6.39	-7.625
J270	47.2644	44.4172	34.3036	-7.38	-6.546
J68	47.2499	44.4087	33.1767	-6.57	-6.929

J85	47.2281	42.1078	30.7487	-8.28	-6.155
J65	47.188	45.7941	30.4758	-6.61	-7.651
C86	46.694	58.7422	37.842	-11.94	-10.245
C44	46.6398	58.2484	30.3419	-9.48	-9.007
J244	46.4731	43.3086	33.6443	-6.78	-6.953
C3	46.3701	59.6396	32.7253	-9.84	-9.563
J114	46.2267	51.7488	35.5878	-7.61	-6.731
C84	45.7136	55.3124	36.7849	-11.39	-10.351
J88	45.5949	46.3512	31.1366	-7.13	-6.059
J120	45.2922	43.9061	31.5428	-6.78	-6.749
J220	45.1778	43.6197	31.1231	-7.93	-6.128
J222	44.8456	38.9241	28.5995	-7.02	-6.322
J125	43.9537	43.7493	26.699	-4.91	-6.249
J128	43.6228	45.5074	31.5083	-6.81	-7.161
J278	43.5641	45.7231	31.4868	-6.74	-7.249
J70	43.0104	42.6916	31.0849	-7.22	-5.751
J113	42.905	50.0077	38.4284	-6.05	-6.019
J277	42.8882	39.9754	32.7752	-7.27	-7.121
J86	42.6008	39.6843	24.7623	-5.04	-5.992
J87	42.5652	39.9531	27.6616	-6.04	-6.334
J254	41.8659	37.4221	34.3759	-6.67	-6.144
J1	41.7701	32.2941	27.4989	-5.96	-6.165
J64	41.5847	33.2507	28.5175	-6.02	-5.783

J221	41.3061	40.3902	31.9321	-5.94	-5.926
J81	40.9254	41.9421	26.3925	-6.85	-5.461
J196	40.8395	39.1381	33.4775	-7.07	-6.22
P1	40.6374	39.0337	27.78	-7.25	-6.339
J273	39.5433	39.1054	25.2039	-6.64	-5.309
J248	39.0328	34.4413	22.7074	-3.82	-5.038
J69	38.4918	36.3419	25.7781	-6.49	-5.587
J82	38.3519	42.078	24.5971	-6.46	-5.603
J274	37.9648	39.1705	27.9841	-5.46	-5.953
J124	37.3026	31.9579	28.5112	-6.19	-5.073
J204	29.5856	29.2211	19.0222	-5.34	-4.781