

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y
Biotechnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotechnológica



**Determinación mediante MM/PBSA y virtual screening de potenciales agonistas y
ortogonistas de la GLP-1R**

Tesis presentada por el Bachiller:

Pinto Apaza, Uner Josseph

ORCID: 0009-0008-7809-2976

Para optar el Título Profesional de Ingeniero Biotecnólogo

Asesor:

Dr. Gómez Valdez, Badhin

ORCID: 0000-0001-6539-1207

Arequipa – Perú

2024

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 09 de Octubre del 2024

Dictamen: 007991-C-EPIB-2024

Visto el borrador del expediente 007991, presentado por:

2017201921 - PINTO APAZA UNER JOSSEPH

Titulado:

**DETERMINACIÓN MEDIANTE MM/PBSA Y VIRTUAL SCREENING DE POTENCIALES AGONISTAS
Y ORTOGONISTAS DE LA GLP-1R**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

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

INGENIERO BIOTECNOLOGO

**00476696 - BERNABE ORTIZ JULIO CESAR
DICTAMINADOR**



**41404327 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO
DICTAMINADOR**



**42671615 - CARPIO CARPIO JOSE MIGUEL
DICTAMINADOR**



Determinación mediante MM/PBSA y virtual screening de potenciales agonistas y ortogonistas de la GLP-1R

INFORME DE ORIGINALIDAD

12%	11%	3%	4%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María	2%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.ucsm.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
3	hdl.handle.net	1%
	Fuente de Internet	
4	tesis.ucsm.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
5	dokumen.pub	<1%
	Fuente de Internet	
6	Submitted to Ilerna Online	<1%
	Trabajo del estudiante	
7	www.elsevier.es	<1%
	Fuente de Internet	
8	zagan.unizar.es	<1%
	Fuente de Internet	

DEDICATORIA

A Dios, por su presencia en mi camino académico, siendo el guía y maestro en mi día a día.

A mi madre, por su amor infinito y apoyo incondicional en esta etapa de mi vida, al brindarme la confianza y ser motivación para alcanzar mis metas tal cual como ella siempre quiso. Cada logro en mi vida se lo dedico a la mujer que me dio la fuerza y valentía de afrontar mis más grandes miedos.



AGRADECIMIENTO

Al culminar esta etapa tan importante de mi vida, agradezco a la Universidad Católica de Santa María y a los docentes que me formaron, ayudaron y aconsejaron para realizarme como profesional.

Al Doctor Badhin, por darme la oportunidad de realizar mi tesis y apoyarme en su desarrollo.

Al Centro de Investigación en Ingeniería Molecular por permitirme conocer a personas grandiosas llenas de experiencias.

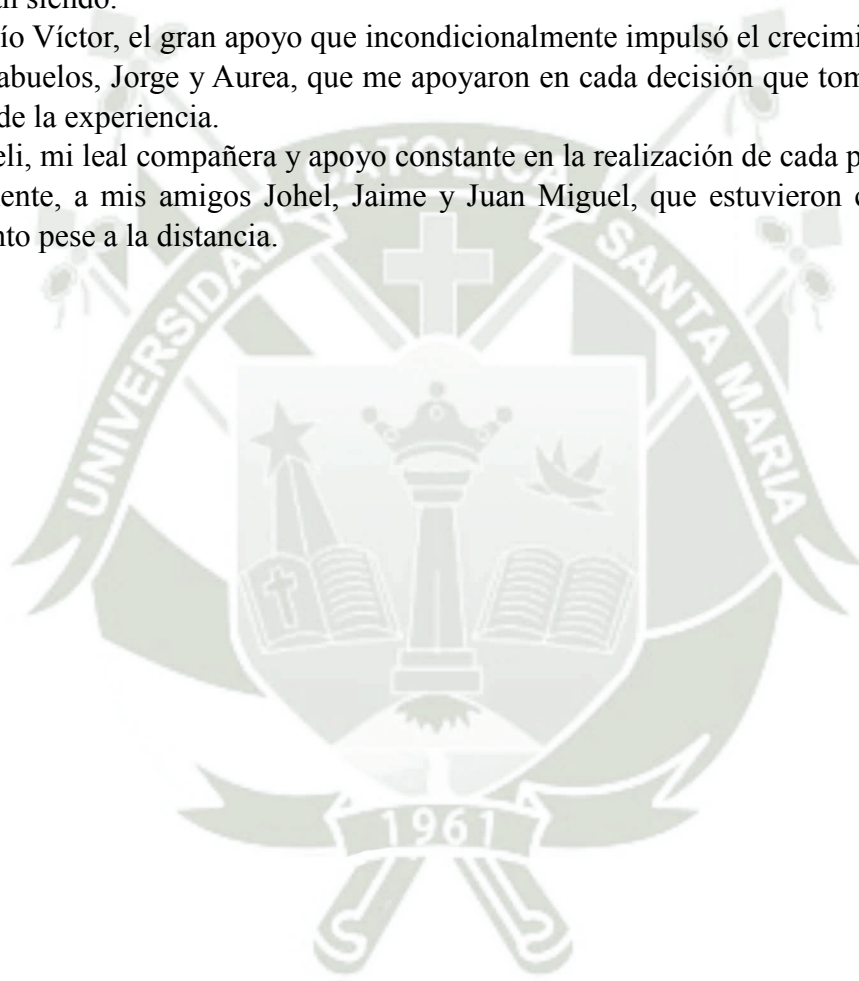
A mi madre y hermanos, que fueron inspiración para seguir cumpliendo mis sueños y lo seguirán siendo.

A mi Tío Víctor, el gran apoyo que incondicionalmente impulsó el crecimiento familiar.

A mis abuelos, Jorge y Aurea, que me apoyaron en cada decisión que tomaba siempre con la voz de la experiencia.

A Nayeli, mi leal compañera y apoyo constante en la realización de cada proyecto.

Finalmente, a mis amigos Johel, Jaime y Juan Miguel, que estuvieron conmigo en todo momento pese a la distancia.



RESUMEN

El péptido 1 similar al Glucagón, una hormona incretina secretada por las células intestinales en respuesta a la ingesta de alimentos y que estimula la secreción de insulina en las células beta del páncreas, es un objetivo clave en la terapia de la diabetes. En este trabajo, se llevó a cabo un estudio in silico para evaluar la interacción de posibles compuestos de origen químico y natural con el receptor GLP-1, buscando candidatos con propiedades de ligandos. Se comenzó con el análisis detallado de la estructura del receptor GLP-1R tras una simulación de dinámica molecular de 100 ns, identificando múltiples sitios potenciales de interacción. Posteriormente, se realizó un cribado virtual (virtual screening) que permitió seleccionar compuestos prometedores tanto naturales como sintéticos. De estos, mediante criterios estocásticos, se eligieron los compuestos más estables y con mayor afinidad para avanzar en estudios más detallados.

Dos estructuras cuaternarias fueron seleccionadas y sometidas a una dinámica molecular adicional de 100 ns en condiciones fisiológicas. Se evaluó la energía libre de enlace usando el método de mecánica molecular de área superficial de Poisson-Boltzmann (MM/PBSA), revelando que ambos compuestos tenían afinidad significativa por el sitio de unión predicho del receptor GLP-1. El compuesto de origen químico SID-22404666 mostró una energía libre de unión más favorable en comparación con el compuesto natural, además de presentar interacciones más estables con los residuos del receptor, sugiriendo un mayor potencial como análogo de GLP-1.

Este estudio no solo subraya la capacidad de los enfoques de cribado virtual y simulación de dinámica molecular para identificar y optimizar nuevos agentes terapéuticos dirigidos al GLP-1R, sino que también proporciona una base sólida para el desarrollo de tratamientos más efectivos para la diabetes tipo 2. El análisis detallado de los sitios de interacción del receptor, junto con la simulación prolongada de las trayectorias moleculares, ha permitido identificar compuestos con alta afinidad y estabilidad, posicionando al SID-22404666 como un candidato particularmente prometedor para futuras investigaciones farmacéuticas.

Palabras clave: GLP-1, dinámica molecular, Docking molecular, MM/PBSA, análogos de GLP-1

ABSTRACT

Glucagon-like peptide 1, an incretin hormone secreted by intestinal cells in response to food intake and which stimulates insulin secretion in pancreatic beta cells, is a key target in diabetes therapy. In this work, an *in silico* study was carried out to evaluate the interaction of potential compounds of chemical and natural origin with the GLP-1 receptor, searching for candidates with ligand properties. The detailed analysis of the GLP-1R receptor structure began after a 100 ns molecular dynamics simulation, identifying multiple potential interaction sites. Subsequently, a virtual screening was performed that allowed the selection of promising natural and synthetic compounds. From these, using stochastic criteria, the most stable compounds with the highest affinity were chosen to advance to more detailed studies.

Two quaternary structures were selected and subjected to an additional 100 ns molecular dynamics under physiological conditions. The binding free energy was assessed using the Poisson-Boltzmann surface area molecular mechanics (MM/PBSA) method, revealing that both compounds had significant affinity for the predicted binding site of the GLP-1 receptor. The parent compound SID-22404666 showed a more favorable binding free energy compared to the natural compound, in addition to exhibiting more stable interactions with the receptor residues, suggesting greater potential as a GLP-1 analogue.

This study not only underlines the ability of virtual screening and molecular dynamics simulation approaches to identify and optimize novel therapeutic agents targeting the GLP-1R, but also provides a solid foundation for the development of more effective treatments for type 2 diabetes. The detailed analysis of the receptor interaction sites, together with the prolonged simulation of the molecular trajectories, has allowed the identification of compounds with high affinity and stability, positioning SID-22404666 as a particularly promising candidate for future pharmaceutical investigations.

Keywords: GLP-1, Molecular dynamics, Molecular Docking, MM/PBSA, GLP-1 analogs

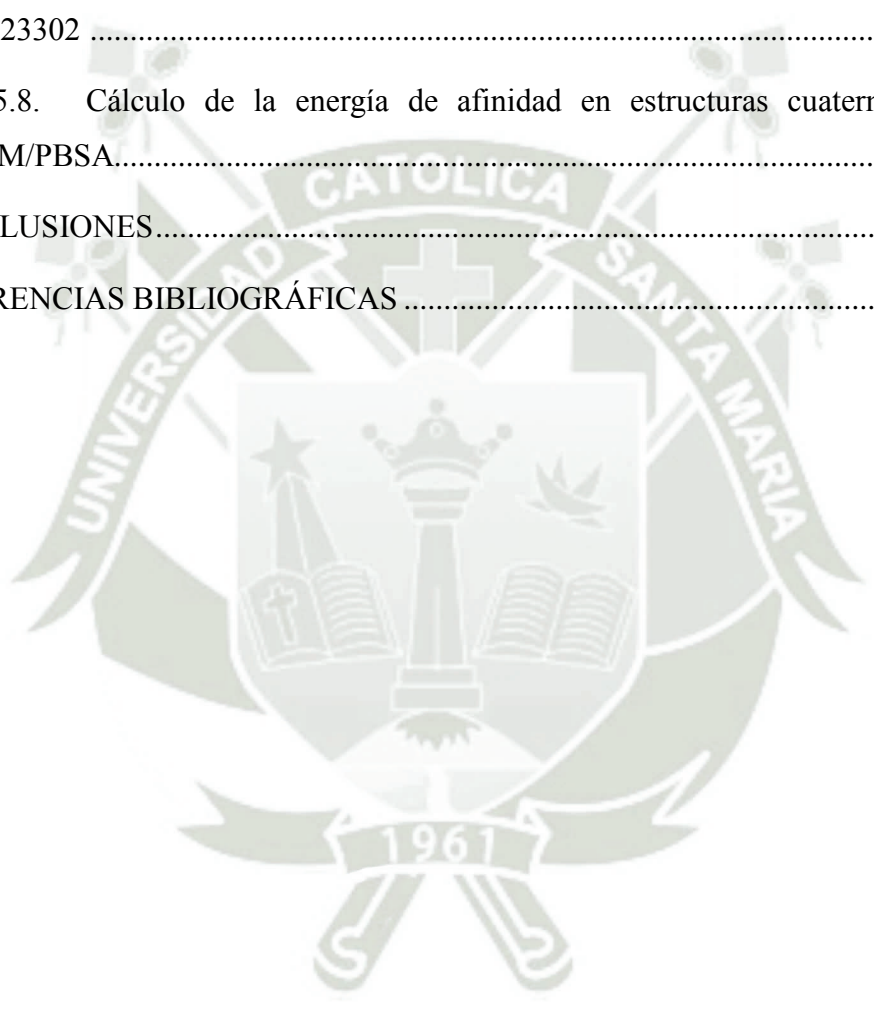
ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN.....	16
HIPOTESIS	17
OBJETIVOS.....	17
CAPÍTULO I.....	18
1. MARCO TEÓRICO.....	19
1.1. Diabetes	19
1.1.1. Definición.....	19
1.1.2. Tipos de diabetes.....	19
1.2. Diabetes tipo 2	21
1.2.1. Definición.....	21
1.2.2. Epidemiología.....	22
1.2.3. Terapia Clínica.....	22
1.3. Péptido 1 Similar al Glucagón.....	23
1.4. Receptor del péptido 1 Similar al Glucagón.....	24
1.5. Vías de señalización.....	26
1.5.1. Vía de señalización de AMPc.....	26
1.5.2. Vía de activación de la Proteína Quinasa A	26
1.5.3. Vía de activación de la Proteína Quinasa C	27
1.5.4. Vía de señalización de la Fosfoinositida 3 Quinasa.....	27
1.5.5. Vía de señalización de la MAPK.....	27
1.6. Farmacología, Homólogos y Análogos de GLP1	28
1.6.1. Agentes farmacológicos	28
1.6.2. Tratamiento Farmacológico de Diabetes tipo 2.....	28

1.6.3.	Tratamiento en base a incretinas.....	30
1.6.4.	Análogos de hormonas incretinas.....	30
1.6.5.	Tratamiento mediante compuestos de origen Natural	32
1.7.	Evidencia experimental.....	34
1.8.	Biología computacional	38
1.8.1.	Modelamiento de proteínas	39
1.8.2.	Herramientas bioinformáticas.....	40
1.8.3.	Dinámica molecular.....	40
1.8.4.	Ensamblaje molecular.....	44
CAPÍTULO II.....		47
2.	Metodología	48
2.1.	Detalles computacionales	48
2.1.1.	Hardware	48
2.1.2.	Base de datos	48
2.1.3.	Software.....	50
2.1.4.	Servidores.....	52
2.2.	Descriptores de estructura.....	54
2.2.1.	Diagrama de Ramachandran.....	54
2.3.	Metodología.....	54
2.3.1.	Determinación y búsqueda de los potenciales sitios de interacción del receptor glp1.	54
2.3.2.	Virtual screening de los potenciales agonistas y ortogonistas de la glp1 r de origen natural y sintético.....	55
2.3.3.	Selección, por criterios estocástico, de los mejores agentes agonistas y ortogonistas de la GPI1-R.	56
2.3.4.	Ensamblaje de los agentes interactuantes en las zonas drogables.....	56

2.3.5. Simulación de trayectorias de 100 nano segundos para los agentes seleccionados.....	57
2.3.6. Análisis de los resultados de la dinámica molecular.	58
CAPÍTULO III	59
3. Resultados	60
3.1. Descubrimiento de los potenciales sitios de interacción del receptor de glp1.....	60
3.1.1. Proteína 1 similar al Glucagón.	60
3.1.2. Hélices alfa.....	62
3.1.3. Giros Beta.....	63
3.1.4. Giros Gamma.....	65
3.1.5. Sitios de interacción de la glp1r	66
3.2. Virtual screening de los potenciales agonistas y ortogonistas de la glp1 r de origen natural y sintético.....	70
3.2.1. Reducción del listado en base al score de afinidad.	71
3.3. Selección en base a criterios estocásticos de los mejores agentes agonistas y ortogonistas de la GIP1-R.....	75
3.4. Ensamblaje de los agentes interactuantes en las zonas drogables.	79
3.4.1. Análisis de los mejores candidatos a ligando del Receptor de GLP-1R.....	82
3.4.2. Análisis del acoplamiento en el complejo GLP-1R y ligando natural	84
3.4.3. Análisis del acoplamiento del complejo GLP-1R y compuesto químico sintético	88
3.5. Simulación de trayectorias de 100 ns para los agentes seleccionados.....	92
3.5.1. Dinámica molecular de la estructura cuaternaria SID-22404666 - GLP-1R. 92	
3.5.2. Interacciones moleculares del complejo GLP-1R y SID-22404666	95
3.5.3. Análisis de la estabilidad de la estructura cuaternaria GLP-1R y SID-22404666.....	98

3.5.4.	Cálculo de energía de afinidad en estructuras cuaternarias mediante MMPBSA	101
3.5.5.	Dinámica molecular de la estructura cuaternaria ZINC-4023302 -GLP-1R 103	
3.5.6.	Interacciones moleculares del complejo GLP-1R - ZINC-4023302	105
3.5.7.	Análisis de la estabilidad en la estructura cuaternaria GLP-1R - ZINC- 4023302	107
3.5.8.	Cálculo de la energía de afinidad en estructuras cuaternarias mediante MM/PBSA.....	111
CONCLUSIONES.....		113
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		116



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Resumen de las características de la estructura del receptor de GLP-1	61
Tabla 2: Hélices alfa presentes en la proteína GPL1-R.....	62
Tabla 3: Giros Beta presentes en la proteína GPL1-R.....	63
Tabla 4: Resumen de las hojas Beta presentes en la proteína GPL1-R	65
Tabla 5: Descripción de las hojas Beta presentes en la proteína GPL1-R.....	65
Tabla 6: Giros Gamma presentes en la proteína GPL1-R	65
Tabla 7: Puentes disulfuro presentes en la proteína GPL1-R	66
Tabla 8: Descripción del sitio de interacción o bolsillo de unión denominado Pocket_1. Se muestran las características que revela el servidor de ProteinPlus, siendo su volumen el más reducido de todos.....	69
Tabla 9: descripción del sitio de interacción o bolsillo de unión denominado Pocket_2. Se muestran las características que revela el servidor de ProteinPlus, siendo su volumen el más grande entre los seleccionados.....	70
Tabla 10: Resumen del listado de los componentes de origen natural del servidor RPBS con acoplamiento al receptor de GLP-1. Se muestra el valor de acoplamiento de cada compuesto de mayor a menor, ordenando a un inicio a posibles mejores candidatos. 71	71
Tabla 11: Resumen del listado de los componentes de origen químico del servidor RPBS con acoplamiento al receptor de GLP-1. Se muestran el valor de acoplamiento de cada compuesto de mayor y menor, el coeficiente de partición y el peso molecular, ordenando a un inicio a posibles mejores candidatos.	71
Tabla 12: Selección de los posibles mejores candidatos a ligando de origen natural con un puntaje de acoplamiento significativo. Se muestra que se escogieron los 121 compuestos con mejores puntuaciones de acoplamiento de -10.2 a -8.....	72
Tabla 13: Selección de los posibles mejores candidatos a ligando de origen químico sintético con un puntaje de acoplamiento significativo. Se muestra que se escogieron los 115 compuestos con mejores puntuaciones de acoplamiento desde -10.3 a -8.6, además de los valores de coeficiente de partición, TPSA y peso molecular.....	72

Tabla 14: Corroboración de las propiedades correctas de los compuestos candidatos a ligando del receptor de GLP1.....	75
Tabla 15: Lista de los compuestos de origen natural evaluados para el ensamblaje con el receptor de GLP1.	78
Tabla 16: Lista de los compuestos de origen químico sintético evaluados para el ensamblaje con el receptor de GLP1.....	78
Tabla 17: Resumen de la evaluación final de los compuestos de diferente origen en la selección estocástica realizada.	78
Tabla 18: Lista de los mejores compuestos de origen químico sintético que cumplen con las propiedades tipo ligando.	80
Tabla 19: Lista de los compuestos de origen natural evaluados para el ensamblaje con el receptor de GLP1.	80
Tabla 20: Mejores compuestos seleccionados de cada librería.	81
Tabla 21: Interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen natural.....	86
Tabla 22: Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto RES de origen natural.	86
Tabla 23: Lista de interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen químico sintético.	90
Tabla 24: Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto NON de origen químico sintético.....	90
Tabla 25: Interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen sintético posterior a la simulación de dinámica molecular.	96
Tabla 26: Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto de origen químico.....	96
Tabla 27: Lista de las energías de las interacciones involucradas en la simulación de dinámica molecular entre el GLP-1R y el ligando SID-22404666	101
Tabla 28: Interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen natural posterior a la simulación de dinámica molecular.	106

Tabla 29: Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto de origen natural.....106

Tabla 30: Lista de las energías de las interacciones involucradas en la simulación de dinámica molecular entre el GLP-1R y el ligando ZINC-4023302 111



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Esquematación de la ruta de señalización en la activación del receptor de GLP1.	25
Figura 2: Estructuras de los compuestos o moduladores alostéricos positivos de la GLP-1R informados en la investigación.....	35
Figura 3: Acoplamiento del compuesto C-1 en el sitio de interacción alostérico predicho que muestra la interacción con los residuos S352 y N406 (a). Estructura química del compuesto C-1 (b).	36
Figura 4: En la izquierda se presenta una curva dosis-respuesta de la evaluación de la actividad agonista del compuesto C-1 en interacción con el receptor de GLP-1 expresado por células HEK293. En la derecha se presenta el posible efecto alostérico del compuesto C-1 sobre la GLP-1R, resalta el papel activador y potenciador del compuesto C-1 en presencia de la hormona GLP1.	37
Figura 5: Evaluación del efecto del compuesto C-1 en dosis de glucosa. Comparación del estímulo en la secreción de insulina por parte de la hormona GLP-1, el compuesto C-1 y la sinergia de ambos compuestos.	37
Figura 6: Estudio de mutagénesis del sitio específico de acoplamiento del compuesto C-1 en el receptor GLP-1R y evaluación de su efecto.	38
Figura 7: Estructura del receptor intermembrana de la hormona similar al glucagón tipo 1	60
Figura 8: Representación de la estructura secundaria de GLP1R obtenido del servidor PDBsum	61
Figura 9: Estructura del receptor de GLP1 con los sitios de interacción. Se muestran los 9 sitios de interacción del receptor en dos vistas, una con el receptor en membrana y una sin membrana usando el visualizador UCSF Chimera.	67
Figura 10: Comparación y vista del receptor de GLP1 con los sitios de interacción. Se muestra la estructura terciaria del receptor de GLP1 sin membrana al lado izquierdo, seguido de la diferenciación de los 9 pockets del receptor GLP1 por colores en la zona central de la imagen, y en el lado derecho la ejemplificación de la composición de un sitio de interacción.	68

Figura 11: Selección de los sitios de interacción de la zona extra membranal. Se muestra al Pocket_1 de menor volumen y color rosa, y el Pocket_2 de mayor volumen y color morado.....	69
Figura 12: Visualización del acoplamiento de compuestos de origen natural extraído del servidor RPBS. Se muestra la interacción de algunos compuestos de afinidad tipo ligando con posibles sitios de interacción del receptor de GLP-1 según evalúa el servidor.....	73
Figura 13: Visualización del acoplamiento de compuestos de origen químico sintético extraído del servidor RPBS. Se muestra la interacción de algunos compuestos de afinidad tipo ligando con posibles sitios de interacción del receptor de GLP-1 según evalúa el servidor	74
Figura 14: Visualización de los compuestos de origen sintético interactuando con el bolsillo de unión (Pocket_2). Se muestra la selección en base a verificación de la interacción del posible ligando a uno de los sitios de interacción del receptor de GLP-1.....	76
Figura 15: Visualización de los compuestos de origen n interactuando con el bolsillo de unión (Pocket_2). Se muestra la selección en base a verificación de la interacción del posible ligando a uno de los sitios de interacción del receptor de GLP-1	77
Figura 16: Visualización de los compuestos de origen n interactuando con el bolsillo de unión (Pocket_2). Se muestra la selección en base a verificación de la interacción del posible ligando a uno de los sitios de interacción del receptor de GLP-1.	79
Figura 17: Compuesto de origen Natural con propiedades de ligando del receptor de GLP-1.....	82
Figura 18: Compuesto de origen Químico-Sintético con propiedades de ligando del receptor de GLP-1.	83
Figura 19: Visualización del mejor candidato de origen natural acoplado al receptor de GLP-1.....	84
Figura 20: Estructura bidimensional de la molécula de origen natural acoplada al sitio de interacción del receptor de GLP-1.	85
Figura 21: Visualización del mejor candidato de origen químico sintético acoplado al receptor de GLP-1R.	88

Figura 22: Estructura bidimensional del compuesto de origen químico sintético acoplado al sitio de interacción del receptor de GLP-1	89
Figura 23: Estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.	93
Figura 24: Resultado de la simulación de dinámica molecular del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.....	94
Figura 25: Interacciones involucradas en la dinámica molecular de la estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.	95
Figura 26: Diagrama RMSD del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.	98
Figura 27: Diagrama de RMSF del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666	99
Figura 28: Diagrama de Radio de Giro del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666	100
Figura 29: Visualización de las superficies electrostáticas del complejo ZINC-4023302 - GLP-1R antes y después de la dinámica molecular.	102
Figura 30: Estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302 posterior a la dinámica molecular.	103
Figura 31: Resultado de la simulación de dinámica molecular del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302.....	104
Figura 32: Estructura bidimensional del compuesto de origen natural acoplado al sitio de interacción del receptor de GLP-1.	105
Figura 33: Diagrama de RMSD del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302	108
Figura 34: Diagrama de RMSF del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302	109
Figura 35: Diagrama de Radio de Giro del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302	110
Figura 36: Visualización de las superficies electrostáticas del complejo GLP-1R - ZINC-4023302 antes y después de la dinámica molecular.	112

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) es una de las enfermedades globales con gran porcentaje de impacto en la salud mundial. Afecta a más del 90% de los casos registrados de diabetes, es de carácter metabólica y de prevalencia que se caracteriza por la producción inadecuada de insulina por parte de las células beta de los islotes del páncreas. Además, presenta resistencia a la insulina y una respuesta deficiente a la secreción de insulina, del cual se le vinculan varios factores antropológicos como la edad, el peso corporal, el porcentaje de masa corporal y el índice de masa corporal. La estrategia de primera línea en la terapia contra la DMT2 es la medicina estandarizada, el cual busca el control de los niveles de azúcar en la sangre apoyado de cambios en el hábito del paciente (1).

El péptido similar al glucagón 1 o GLP-1 tiene la propiedad incretina, el cual potencia la secreción de insulina dependiendo de la concentración de glucosa. Los receptores de este péptido, familia de las proteínas G, han fomentado el interés en el estudio de las interacciones de la hormona con su receptor, la activación de señales involucradas en su acoplamiento, además de la evaluación y descubrimiento de agonistas que trabajen de la misma forma que la GLP1 en la homeostasis de la glucosa y lípidos. De igual manera, este péptido y su receptor es base d estudio para el cribado y análisis de potenciales medicamentos para la terapia de la DM2 (2).

La biología computacional y la química teórica permiten el descubrimiento de nuevos fármacos ya que integran herramientas que facilitan el trabajo, por ejemplo, para el diseño y observación de interacciones proteicas o estructuras cuaternarias. El virtual Screening y las simulaciones de dinámica molecular permiten identificar, evaluar y definir estabildades y afinidades de compuestos en la formación de un complejo previamente rígido o estático, los cuales son aplicados con éxito en la identificación de ligandos de receptores farmacológicos con alto potencial farmacéutico (3).

El presente estudio se enfoca en la identificación de potenciales agonistas y ortogonistas del GLP-1R a través de técnicas y herramientas de biología computacional y química teórica. Usando el método de Virtual Screening y simulaciones de dinámica molecular se intenta hallar compuestos de origen natural y de origen sintético con potencialidad a ser ligandos. Además de identificar nuevos agentes terapéuticos se busca contribuir con el entendimiento de las interacciones moleculares y mecanismos de acción de la GLP-1R y su importancia en el diseño de un potencial tratamiento terapéutico.

HIPOTESIS

Mediante el uso de biología computacional y nuevos métodos de química teórica como son las simulaciones de dinámica molecular y virtual screening, es factible determinar potenciales agentes de origen natural y sintético que puedan poseer actividad ortogonista o agonista de la GLP-1R

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar mediante MMPBSA y virtual screening potenciales agonistas y ortogonistas de la GLP-1R

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar los potenciales sitios de interacción del receptor glp1.
- Hallar mediante virtual screening potenciales agonistas y ortogonistas de la glp1 r de origen natural y sintético.
- Seleccionar por criterios estocástico los mejores agentes agonistas y ortogonistas.
- Determinar por ensamblaje agentes interactuantes en las zonas drogables.
- Simular trayectorias de 100 ns para los agentes seleccionados.
- Analizar los resultados de la dinámica molecular.



1. MARCO TEÓRICO

1.1. Diabetes

1.1.1. Definición

La diabetes es una enfermedad que reduce la capacidad de un individuo de regular el nivel de glucosa en el torrente sanguíneo. Antiguamente, se caracterizó por los egipcios como la pérdida de peso y poliuria. En la actualidad, se define completamente como un trastorno metabólico caracterizado por la hiperglucemia crónica por defecto de secreción o la acción de la insulina con relación a las células Beta del páncreas o una resistencia anormal de la hormona, en consecuencia, presenta una deficiente acción metabólica en carbohidratos, grasas y proteínas que generan complicaciones en el funcionamiento de órganos como ojos, riñones, nervios, vasos sanguíneos y corazón (4–6).

Existen diferentes tipos de diabetes mellitus que varían significativamente en su fisiopatología, control glucémico y características en pacientes. Las diabetes se clasifican en Diabetes Tipo 1, Tipo 2 y Diabetes gestacional, además de otros subtipos como formas monogénicas de diabetes mellitus, por inducción por fármacos o enfermedad del páncreas exocrino (7).

1.1.2. Tipos de diabetes

1.1.2.1. Diabetes tipo 1

La diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune donde se altera el metabolismo ante la deficiencia en la secreción de insulina causando hiperglucemia crónica (8). Esta deficiencia se caracteriza por la destrucción de las células B pancreáticas y es apreciado en individuos genéticamente susceptibles, donde es el propio cuerpo quien ataca estas células, como en niños y jóvenes. La causa más común de destrucción celular es debido al sistema inmunitario tipo 1A, aunque existen casos raros con etiología desconocida (9). A la DM1 se le asocia una calidad y esperanza de vida reducida y complicaciones graves a largo plazo y la evidencia sugiere que la incidencia, prevalencia y mortalidad, aunque varíe entre países, va en aumento alrededor del mundo siendo incidente tanto en pacientes jóvenes como en adultos (10). Según la federación internacional de Diabetes los casos de DT1 ha ido aumentando en los últimos años a nivel mundial,

especialmente en zonas geográficas como África del norte y Oriente Medio, generando discapacidad y muerte alrededor del mundo, registrándose 6.7 millones solo en el 2021(11,12).

1.1.2.2. Diabetes Tipo 2

La diabetes tipo 2 es un trastorno metabólico que se representa por la secreción deficiente de insulina y la incapacidad de los tejidos para responder ante la insulina, lo que conlleva a una hiperglucemia. Esta patología está relacionada al historial genético familiar y factores ambientales como la obesidad, el sedentarismo, malos hábitos alimenticios y cuadros de estrés, ansiedad o depresión(13–15).

1.1.2.3. Diabetes Gestacional

La diabetes gestacional es una enfermedad inducida durante la gestación, es decir, es una condición que afecta a la mujer durante el embarazo al encontrarse altas concentraciones de glucosa en sangre, pudiendo afectar tanto a la madre como al bebé. Es comúnmente diagnosticado durante el segundo o tercer trimestre de gestación y se asocia a factores relacionados con la madre como obesidad, edad materna o antecedentes familiares, y se suele tratar con terapia insulínica o control dietético y nutricional (14).

1.1.2.4. Subtipos de Diabetes

En primer lugar, uno de los subtipos últimamente investigados es la nombrada Diabetes mellitus tipo 3c o DM3c. Este subtipo se denomina clínica y metabólicamente diferente de otras formas de diabetes, ya que se relaciona con el mal funcionamiento del páncreas exocrino debido a enfermedades como fibrosis quística o pancreatitis. Sus causas más frecuentes con la pancreatitis crónica o aguda, el cáncer de páncreas, la hemocromatosis, fibrosis quística, la pancreatectomía y la agenesia pancreática (16).

Otro subtipo es la diabetes mellitus monogénica, la cual es generada por la alteración de la función de las células beta o la disminución en el número de estas células, ligado a un defecto genético único lo que conlleva a una diabetes neonatal transitoria o permanente o un tardío diagnóstico de diabetes T1 o T2 (17).

Finalmente, la inducción de hiperglucemia o diabetes por el papel de diferentes fármacos es un gran problema actual al aumentar el riesgo de mortalidad mundial. Los diuréticos tiazídicos y agentes betabloqueantes con frecuencia generan efectos adversos glucémicos, al igual que los modificadores de lípidos y las dosis diarias de estatinas al tener un efecto diabetogénico. De igual forma fármacos, como la pentamidina, parecen tener una relación en la disfunción de células pancreáticas, la fenitoína y el ácido valproico también pueden inducir hiperglucemia, los antidepresivos en dosis altas parecen asociar un mayor riesgo de diabetes, al igual que el tratamiento hormonal como dosis altas de estrógeno anticonceptivo o el uso de hormona de crecimiento y análogos de somatostatina pueden generar hiperglucemia (18).

1.2. Diabetes tipo 2

1.2.1. Definición

Antiguamente conocida como diabetes del adulto o diabetes no insulino dependiente, porque comenzaba en etapa adulta y no requería del tratamiento insulínico. Este tipo de diabetes se caracteriza por la resistencia a la insulina, la deficiencia de insulina e hiperglucemia. Este trastorno metabólico de insulina y glucosa se da por la resistencia de los tejidos frente inadecuados niveles de glucosa en sangre (13,15).

La DMT2 y su progresión en el empeoramiento de la hiperglucemia se deben por dos eventos, primero por la secreción reducida de insulina que impide que se mantengan niveles fisiológicos normales de glucosa y por la resistencia a la insulina que conduce la síntesis de glucosa hepática endógena con la reducción de la absorción de glucosa periférica. Además, la resistencia insulínica perjudica el proceso de almacenamiento de glucógeno y síntesis de glucosa, aumentando la lipogénesis liberación de citocinas proinflamatorias como leptina y adiponectina, causando el deterioro y destrucción de las células de Langerhans B a largo plazo (19).

Esta enfermedad metabólica a largo plazo tiende a deteriorar órganos como el corazón, riñones e hígado, causando enfermedades cardíacas, cerebrovasculares,

daño neuropático periférico, ceguera y amputaciones, por esto se le asocia a una esperanza de vida reducida (20–22).

1.2.2. Epidemiología

Mundialmente, la diabetes mellitus tipo 2 ha aumentado al registrarse su diagnóstico en numerosos casos de pacientes, alarmantemente en casos de temprana edad. Se ha extendido por todo el mundo y se estima que en 2035 se alcanzarían 592 millones de muertes y 700 millones para el 2045. Según la OMS, su rápido aumento se observa en países de bajos y medianos ingresos, y su prevalencia se asocia al crecimiento poblacional, hábitos alimenticios y el estilo de vida sedentaria. Según estudios de la Federación Internacional de Diabetes, el 8.8% de la población adulta es diagnosticada con Diabetes, siendo definida en el 2022 a la obesidad como factor impulsador de la DMT2 (23,24).

Se ha presenciado un aumento de casos en pacientes jóvenes con fenotipos de enfermedades agresivas y complicaciones de alto riesgo a largo plazo, a la par de un aumento de obesidad infantil. Esta diabetes juvenil se asocia a una pérdida más rápida de la función células beta-celulares que el tipo adulto (25,26).

En una estimación realizada el 2019, se definió al Perú como el de menor prevalencia en Sudamérica, en comparación con países como Ecuador, Chile, Bolivia y Brasil. Aunque parezca favorable al Perú, visto desde 1980 al 2014 hubo un aumento del 37% (27).

Según el ENDES en 2022 el Perú presentó 5,1% de los casos en personas de 15 a más años, con tendencia mayor en mujeres por un 5.5% a diferencia del 4.7% de los hombres. De igual manera, promedian que la mayor presencia de DMT2 es en la Costa con 6.0% y de menor la Sierra y Selva con 3.0% y 4.5% respectivamente (28).

1.2.3. Terapia Clínica

El manejo médico para la diabetes tipo 2 de primera línea radica en el uso de fármacos como metformina e insulina, de la mano con control dietético, disminución de peso y la práctica de ejercicio.

Las sulfonilureas son los antidiabéticos más usados debido a su actividad estimulante en la secreción de insulina para la captación de glucosa. Este

fármaco solo trata el déficit insulínico el cual desciende con el deterioro progresivo de las células beta, es por ello por lo que su uso se limita en las primeras etapas de la enfermedad. Otro fármaco sintético es el inhibidor de alfa glucosidasa y su función principal es la de retrasar la absorción de hidratos de carbono al retardar su hidrólisis, e igualmente su acción se limita en comparación con otros antidiabéticos. La metformina es un fármaco dispuesto a pacientes con obesidad diagnosticada, es parte de la clase de las biguanidas y su función principal es la de reducir la producción de glucosa y como mejorador de la sensibilidad a la insulina, además de estimular la secreción de GLP1. Es capaz de reducir la concentración de HbA1c en 1.2% aproximadamente, su peso es neutro, sin efecto hipoglucemiante y beneficioso sobre la presión arterial y el perfil lipídico. La metformina presenta efectos secundarios en tejido gastrointestinal y es contraindicada en casos de pacientes con problemas renales y cardiovasculares (29,30).

El tratamiento con insulina es indicado y más eficaz cuando es ineficiente el control glucémico por cambio del estilo de vida e hipoglucemiantes orales. Su acción es directa en la inhibición de la producción de glucosa por el hígado, lipogénesis, lipólisis y catabolismo proteico. Induce la captación de glucosa, glucólisis y glucogénesis muscular. El efecto adverso es la hipoglucemia, por ello su administración debe ser controlada (31).

Actualmente, existen muchos tipos de tratamientos para la diabetes tipo 2, como los candidatos a fármacos sintéticos, los análogos de insulina, análogos de GLP1 y transportadores celulares, pero de igual forma hay tratamiento terapéutico a base de productos de origen natural, como Flavonoides, polifenoles, terpenoides, alcaloides, saponinas y quinones (32).

1.3. Péptido 1 Similar al Glucagón

El Péptido 1 Similar al Glucagón (GLP-1), es una hormona secretada por células L intestinales en respuesta a la ingesta de alimentos y que tiene la función incretina, al reducir los niveles de glucosa en sangre y poseer la capacidad de potenciar la secreción de insulina, disminuir la secreción de glucagón e inhibir el vaciado gástrico y el apetito. En su estado activo posee entre 30 y 31 aminoácidos y en su mayoría poseen un C-terminal en medio y 30 aminoácidos de largo. Este péptido posee un

tiempo de vida muy reducido de unos pocos minutos en el torrente sanguíneo, al ser degradado por la enzima Dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4). La acción del péptido ha sido reconocida en 2 tiempos de alta concentración, la primera liberación o pico de concentración plasmática se observa a los 10 o 30 minutos después de la ingesta de alimentos debido al estímulo del nervio vago por alcance del alimento en el intestino distal, y su segundo pico después de 1 o 2 horas, probablemente debido a la absorción de nutrientes intestinales (33–35).

El GLP-1 es uno de los productos del pro-glucagón, un péptido que se divide en varias hormonas en el páncreas, intestino y cerebro. Su expresión se controla por el estímulo de tejidos, enzimas o factores asociados, como productos de metabolismo bacteriano, mediadores inflamatorios y factores neuroendocrinos, que estimulan las células L entero-endocrinas (35).

La importancia funcional del complejo unido de GLP-1 y su receptor GLP-1R se inicia con la secreción de la hormona de las células L ante la ingesta de alimentos y el proceso se regula con varios estímulos, activando una serie de señales intracelulares que incluyen proteína quinasa A (PKA), proteína quinasa C (PKC), vía del calcio y proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) (36,37).

1.4. Receptor del péptido 1 Similar al Glucagón

El receptor del péptido –1 Similar al glucagón (GLP-1R) es perteneciente a la familia de los receptores acoplados a proteínas G o GPCRs. Esta familia de receptores se caracteriza por poseer siete hélices transmembrana en su estructura, además, está involucrada en un gran número de procesos fisiológicos, ya que logran interactuar con proteínas cíclicas, facilitando la transmisión de señales desde la zona extracelular a la intracelular. La GLP-1R en estado activo cumple un rol importante en la regulación de carbohidratos en el metabolismo lipídico, la liberación de insulina, la supresión de secreción del glucagón, por el cual un cambio estructural puede promover cuadros de obesidad o diabetes (38–40).

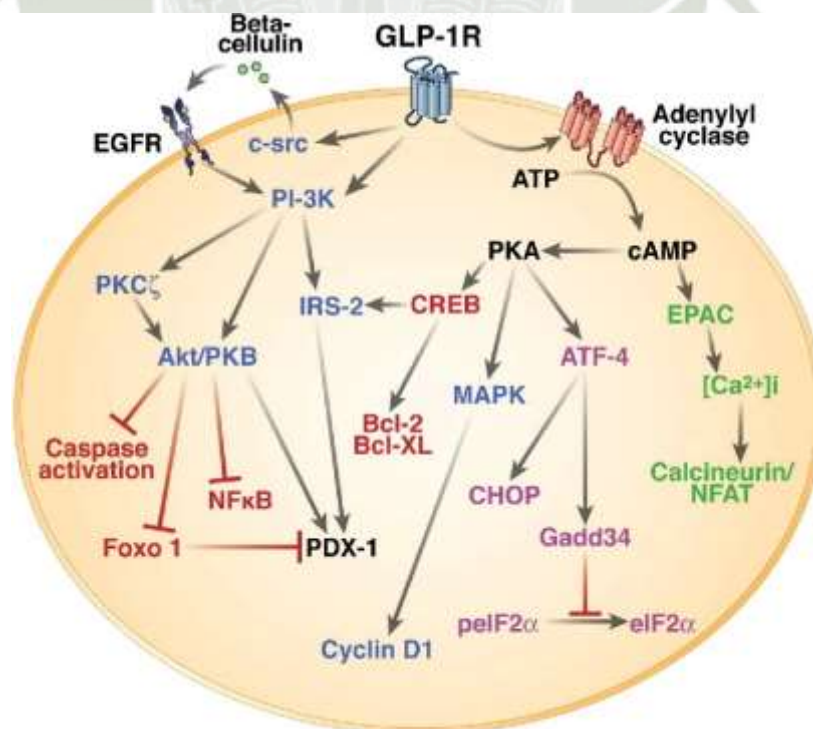
El gen del receptor de GLP1 humano, abarca un total de 40 kb, con al menos siete exones y se le ha asignado al cromosoma seis en la banda p21.1. Se ha visto expresado en una gran variedad de tejidos como células alfa, beta y omega de islotes pancreáticos u órganos como pulmones, corazón, riñones, estómago, intestinos, pituitaria, piel, neuronas ganglionares del nervio vago, hipotálamo y el tronco

encefálico, pero, es mayormente detectado en tejido muscular y adiposo. Se ha observado una relación de expresión regulada negativamente en los islotes del páncreas como respuesta ante la dexametasona, hiperglucemia, activación de la proteína quinasa c y la hormona GLP1. En cuestión a su estructura conformacional, este receptor de GLP1 posee una región N-terminal extracelular importante en el acoplamiento con la hormona GLP1. Posee distintos dominios dentro de un tercer bucle intracelular indispensable para el acoplamiento del receptor a proteínas G específicas, como G alfa s, G alfa q, G alfa i y G alfa o.

Al darse el acoplamiento con su proteína afín, GLP1, en las células Beta del páncreas, conduce a la activación de la actividad de adenilato ciclasa y la producción de AMPc, posteriormente la secreción de insulina al inhibir canales de Katp, la despolarización de la membrana celular, aumento en el nivel de calcio intracelular, activación de canales catiónicos no selectivos, inducción de síntesis de ATP mitocondrial, efectuando así la exocitosis de gránulos de almacenamiento de insulina de las células beta (37).

Figura 1:

Esquematación de la ruta de señalización en la activación del receptor de GLP1.



Fuente: Baggio L, Drucker D (37)

1.5. Vías de señalización

1.5.1. Vía de señalización de AMPc

El AMPc o adenosín monofosfato cíclico es conocido como segundo mensajero intracelular para un gran número de hormonas y neurotransmisores, que es capaz de regular funciones celulares y procesos biológicos como la transcripción de genes, el metabolismo de la célula, proliferación y desarrollo celular, entre otras funciones más especializadas. La liberación de AMPc esta mediada por la activación de las adenilil ciclasas al existir la interacción de una hormona a un receptor acoplado a la proteína G, donde el AMPc intracelular se une a efectores intracelulares como la proteína quinasa A (41).

Se ha observado que en la interacción de la GLP1 y su receptor genera la señalización de producción de AMPc, como los efectores posteriores que desempeñan funciones importantes al estimularse por la presencia de glucosa y estimular la entrada de calcio. El AMP cíclico, principal mediador en la secreción insulínica en las células beta del páncreas, tiene efectos importantes en la mejora de la exocitosis de los gránulos secretores de insulina de núcleo denso (DCG) por medio de las vías mediadas por PKA y Epac2 (42,43).

1.5.2. Vía de activación de la Proteína Quinasa A

La proteína quinasa A (PKA) es una serina/treonina quinasa que regula una serie de procesos celulares de importancia como la activación y control inmunológico. Este mecanismo es complejo y diverso pues contiene la expresión diferencial de isoenzimas, la composición de holoenzimas y la localización subcelular que contribuyen a la especificidad de la vía de señalización de PKA (44).

En el sistema del receptor de GLP1 que actúa a través de G alfa para estimular el adenilato ciclasa y aumentar los niveles de AMPc, demuestra que dicho aumento da como resultado una señalización intracelular dependiente de la proteína quinasa A. La acción de la AMPc libera subunidades catalíticas de PKA capaces de fosforilar varios sustratos proteicos en las células. Los efectos transcripcionales de la PKA abarcan la capacidad de fosforilar y activar factores de transcripción como CREB que regula la expresión de genes específicos que cumplen un papel en el metabolismo y función celular. Por ello, las células Beta

pancreáticas se ven activadas ante la fosforilación de proteínas que aumentan la secreción de insulina como respuesta a la concentración de glucosa (37,43,45).

1.5.3. Vía de activación de la Proteína Quinasa C

La proteína quinasa C es una de las muchas proteínas quinasas de serina/treonina que cumplen un rol importante en las señalizaciones de varios órganos, tejidos y sistemas. Se divide en 3 subfamilias dependiendo de su estructura, las clásicas, no clásicas e isoformas atípicas, las cuales comprenden un dominio regulador, un dominio catalítico y regiones variables. Su activación depende de las interacciones proteína – proteína. De igual manera está implicado en el tráfico de gránulos para mejorar la secreción de insulina, en la activación de TRPM4 y TRPM5 en la activación GLP1 y su receptor, al fosforilar TRPM4 al aumentar la sensibilidad al calcio o la despolarización de la membrana (42,46).

1.5.4. Vía de señalización de la Fosfoinositida 3 Quinasa

La vía de señalización de la PI3K o fosfatidilinositol 3 quinasa es importante en un gran número de mecanismos celulares. Existen tres tipos de PI3k que se denominan en base a números (I, II, III) las que pueden tener una subunidad catalítica, de adaptador y monomérica. Esta vía de señalización es esencial para el control de la autofagia, el metabolismo y el estrés oxidativo, además de participar en la regulación de la masa y funcionalidad de las células beta. En el receptor de GLP1 se ha visto que puede inducir la activación de PI3K a través de intermediarios como IRS-1, el cual va a catalizar la conversión de PIP2 a PIP3 para posterior activar la proteína quinasa B (Akt) por medio de la PDK1 (43,47–49).

1.5.5. Vía de señalización de la MAPK

Esta vía, en relación con la GLP1-R y su interacción con su proteína, al darse un aumento de AMPc se da la activación de la PKA, que activa la Ras, y la Epac activando la Rap1, estos 2 compuestos activados se encargan de activar el RAF que a su vez activa la MEK y por consecuencia la ERK, el cual se va a fosforilar y translocar al núcleo para controlar la proliferación, diferenciación y supervivencia celular. En resumen, se fosforila en las células Beta del páncreas a través de una vía dependiente de la MEK (proteína quinasa activada por mitógeno, pero independiente de la Raf/Ras que necesita la activación de PKA,

un influjo de calcio extracelular y una activación de proteína quinasa II dependiente de calmodulina (50).

1.6. Farmacología, Homólogos y Análogos de GLP1

1.6.1. Agentes farmacológicos

En la enfermedad de la diabetes el cambio en el estilo de vida es un paso del procedimiento terapéutico inicial e importante para mejorar el control de la glucosa en sangre, pero la progresión de la enfermedad hace necesaria la administración de agentes farmacológicos con fin terapéutico como los inhibidores, secuestradores, agonistas, sulfonilureas, meglitinidas, metformina entre otros (51,52).

1.6.2. Tratamiento Farmacológico de Diabetes tipo 2

1.6.2.1. Insulina

La insulina es un medicamento capaz de mejorar el flujo de la glucosa en la sangre hacia las células, causa la reducción de HbA1c produciendo aumento de peso. Al ser una hormona anabólica, la insulina es capaz de inhibir la lipólisis, el metabolismo de las proteínas, y promover la lipogénesis (53).

1.6.2.2. Metformina

La metformina es un fármaco biguanida que tiene la capacidad de disminuir la concentración de glucosa en sangre, disminuye la gluconeogénesis hepática, reduce la absorción de glucosa en el intestino y aumenta la sensibilidad a la insulina. Este tratamiento es de primera línea en la actualidad en pacientes con diabetes tipo 2, debido a su acción supresora del apetito, aumento en niveles de GLP1, inhibición de la Dipeptidil peptidasa IV, lo que genera un retraso en el vaciamiento gástrico y reduce la absorción de carbohidratos. Igualmente, reduce la resistencia a la insulina en tejidos periféricos, dado que reduce los ácidos grasos libres y triglicéridos. Es de precio accesible, eficiente y con poco efecto adverso (52,53).

1.6.2.3. Sulfonilureas

Esta terapia usada ampliamente en pacientes con DM2 se debe a su acción estimulante de la secreción de insulina del páncreas e inhiben la secreción de glucagón, mejorando la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos y

reducen el aclaramiento de insulina hepática. Las sulfonilureas son secretagogos que se metabolizan en el hígado y en ocasiones se excretan por los riñones. Se ha demostrado que tienen la capacidad de reducir la HbA1c entre 1% y 2% (52,53).

1.6.2.4. Inhibidores de la proteína 2 de transporte de sodio-glucosa

Es un agente antidiabético oral que cumple la finalidad de reducir la concentración de glucosa en sangre en pacientes adultos. Se documenta que su acción antidiabética no se afecta en la presencia de niveles de insulina ni por la resistencia a la misma. Se asocian a la disminución de HbA1c de un 0.5% a un 0.8% en pacientes. Estos fármacos están asociados a una pérdida de peso al provocar un déficit calórico por excreción urinaria de 60 a 100g de glucosa por día (52,53).

1.6.2.5. Tiazolidinedionas (TZD)

Son un grupo de fármacos con acción intracelular que mejora la acción de la insulina y aumenta su sensibilidad ante los tejidos. Se ha demostrado que reduce la HbA1c entre 0.5% y 1.4% en pacientes. Además de contribuir con el control glucémico, tiene aplicación para revertir y combatir enfermedades como el ovario poliquístico, aterosclerosis y otras enfermedades cardiovasculares. Los efectos adversos que presenta su aplicación son el aumento de peso y la osteoporosis (52,53).

1.6.2.6. Meglitinidas

Son fármacos con acción en el aumento de la secreción de insulina del páncreas y dependen de los niveles glucosa, reduciendo el riesgo de hipoglucemia. Son de corta duración y pueden administrarse para igualar el aumento de glucosa posprandial. Al igual que las sulfonilureas, son secretagogos que tienen un efecto en la homeostasis de la glucosa y se ha demostrado un efecto en la disminución del 0.5% al 1.5% en la HbA1c en pacientes (52,53).

1.6.2.7. Inhibidores de la Dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4)

Estos fármacos antidiabéticos son capaces de mantener la homeostasis de la glucosa actuando sobre las hormonas incretinas, fomentando el aumento de

la insulina y disminuyendo la secreción de glucagón. Se le ha asociado una disminución del 0.5% al 0.8% de la HbA1c en pacientes con DM2 (53).

1.6.2.8. Pramlintida

Este fármaco es un análogo de la amilina que tiene como función la reducción de hiperglucemia posprandial suprimiendo la secreción de glucagón, retardando el vaciamiento gástrico y reducción de la ingesta. Está asociada con la pérdida de peso al ser administrado por inyección y su aplicación se ha dirigido también en pacientes con DM1 al disminuir los requisitos de insulina a la hora de las comidas (52–54).

1.6.3. Tratamiento en base a incretinas

1.6.3.1. Definición

Además de la principal forma de tratamiento de la DM2 en base a fármacos de primera línea se ha aplicado tratamiento de con distintos beneficios en base a proteínas u hormonas incretinas. Las hormonas incretinas más estudiadas son el péptido 1 similar al glucagón (GLP1) y el polipéptido inhibidor gástrico (GIP) que son secretadas en células endocrinas del intestino ante la ingesta de comida. Los pacientes con DM2 muestran una atenuación de la acción de la GIP en las células beta del páncreas, pero la respuesta de la GLP1 es casi intacta y tiende a fomentar la secreción de insulina e inhibir la liberación de glucagón, mejorando la glucemia (54).

1.6.4. Análogos de hormonas incretinas

1.6.4.1. Definición

Los medicamentos relacionados a la clase incretina son los análogos y/o agonistas de algún receptor que simulan o cumplen con la misma función en la terapia de la DM2. Uno de los aprobados como agonista dual de GIP y GLP1 es la Tirzepatida o Tirzepitida, ya que este trabaja como receptor GIP y agonista GLP1 beneficiando el tratamiento de la DM2, por la reducción de lípidos, peso y control glucémico, además de disminuir el HbA1c en 2.01% a 2.3%, especialmente en pacientes mayores a 18 años (53,55–58).

1.6.4.2. Análogos o agonistas de la hormona GLP1

1.6.4.2.1. Exenatida

Primer agente incretina aprobado para la reducción de los niveles de glucosa y controlar la diabetes. Este compuesto es un péptido sintético de 36 aminoácidos con exedina-4 como base, la cual se obtiene del Lagarto monstruo de Gila, con una homología del 53% con el GLP-1 humano. Este análogo se acopla al receptor de GLP1 y aumenta la secreción de insulina dependiendo de la concentración de glucosa, reduce la ingesta calórica, disminución de la secreción posprandial del glucagón e inhibición del vaciado gástrico. Es considerado seguro y eficaz en la terapia de DM2 como monoterapia o en combinación con otros fármacos, igualmente se ha visto una posible aplicación en eventos cardiovasculares (59,60).

1.6.4.2.2. Lixisenatida

La lixisenatida es un péptido de 44 aminoácidos con una estructura parecida a la exedina-4 que se excreta por la vía urinaria fácilmente. Este compuesto es un agonista selectivo del receptor de GLP1 con aplicación clínica de una dosis diaria (20g) para reducir la concentración HbA1c e hiperglucemia posprandial (59,60).

1.6.4.2.3. Liraglutida

Es uno de los primeros fármacos agonistas que presentó un efecto y acción en la enfermedad de diabetes mellitus. Es un análogo de la GLP-1 humano donde la lisina 34 reemplaza a la arginina formando lisina 26. Este fármaco es menos eficaz en la reducción de los niveles posprandiales de glucosa, HbA1c y glucagón, pero tiene una función eficaz en la reducción de peso corporal en dosis concentradas o altas y se ha visto un efecto a largo plazo en la función de las células beta, la relación proinsulina-insulina aumentando la secreción de insulina (59,60).

1.6.4.2.4. Albiglutida

La Albiglutida es un fármaco agonista del GLP-1R que consta de dos copias de dímeros que contienen 30 aminoácidos, posee una vida media prolongada y presenta una resistencia eficaz ante la DPP-4. Este fármaco

fue aprobado para la aplicación en la DM por su efecto antihiper glucemiante, reductor de peso moderado y menor riesgo de hipoglucemia y eventos cardiovasculares (59,60).

1.6.4.2.5. Dulaglutida

Este análogo es un agente de administración por inyección aprobado para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, la cual comprende en su estructura dos cadenas análogas de GLP-1 unidas por una IgG como base para la reducción eficaz en la absorción y aclaramiento renal. Su aplicación se ha observado tener mejores resultados en pacientes de DM2 de mediana edad y edad avanzada, además de un posible efecto neuro protector y un posible efecto reductor de riesgo en accidentes cerebro vasculares (59,60).

1.6.4.2.6. Semaglutida

La Semaglutida es un agonista del receptor de 1 péptido 1 similar al glucagón, tiene una acción similar a la mayoría de los agonistas aprobados de la GLP-1R. este fármaco fue aprobado para la administración oral y para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, y catalogado como eficaz y seguro. En las dos vías de administración, la Semaglutida oral tiene un perfil de absorción diferente a la versión inyectable, pero ambos tienen las mismas propiedades farmacodinámicas (60–62).

1.6.5. Tratamiento mediante compuestos de origen Natural

1.6.5.1. Flavonoides

Los flavonoides son compuestos de estructura fenólica hidroxilada que son parte de frutas, verduras y hierbas vegetales. A muchos de esta familia se le ha otorgado capacidades anticancerígenas, hepatoprotectoras, antiinflamatorias y antivirales. Últimamente se le ha añadido la posible capacidad anti-DM2 a flavonoides como la Quercetina, Rutina, Naringina, Baicaleina, apigenina, luteolina, naringenina, Bavachin, Genisteína, miricetina, hesperidina y Neohesperidina (63).

1.6.5.2. Polifenoles

Los polifenoles o polihidroxifenoles son compuestos que existen en productos como el cacao, té, café, cereales y otras verduras, con beneficio en el tratamiento de enfermedades dado su capacidad antiinflamatoria, antioxidante, antifibrotica y de regulación metabólica. De igual forma, se han encontrado polifenoles con un posible efecto anti-DM2 como el galato de epigallocatequina, resveratrol, curcumina, antocianina, eugenol, Paenol, Acido-P-Cumarico, acido cafeico, acido cinámico, ácido vanílico, entre otros (63).

1.6.5.3. Terpenoides

Los terpenoides de origen vegetal han mostrado ser de importancia en los remedios de enfermedades, además de un posible tratamiento de la diabetes mellitus 2 al estimular las células Beta del páncreas para la liberación de insulina, reducir la expresión de proteínas reguladoras de esteroides, reducción de glucosa en sangre, reducción de hiperinsulinemia, la esteatosis hepática, y aliviar el estrés oxidativo. Los terpenoides más investigados por su aplicación terapéutica son: El ácido abscísico, la andrografolida, ácido oleanólico, la gepinina y el pinitol (63).

1.6.5.4. Alcaloides

Muchos de los alcaloides tienen actividades terapéuticas que actualmente forman parte de fármacos, debido a su función antipalúdica, anti hiperglucémica, antiasmática, anticancerígenas y antibacterianas. Los alcaloides con posible actividad anti-DM2 son la berberina, la jatrorricina, la tetrandrina, la capsaicina, la galantamina, huperzina A, piperina, teobromina y la colchicina (63).

1.6.5.5. Saponinas

Las saponinas son una clase de glicósidos esteroides con actividades biológicas presente en un gran número de plantas, las cuales son utilizadas en la industria cosmética y farmacéutica. Los ginsenósidos han presentado actividad en la expresión de PPAR y el metabolismo de lípidos en DM2, además de otros como el ginsenósido Rg1, Re y Rg3, el Astragalósido IV, diosgenina, platicodina y el compuesto genósido K (63).

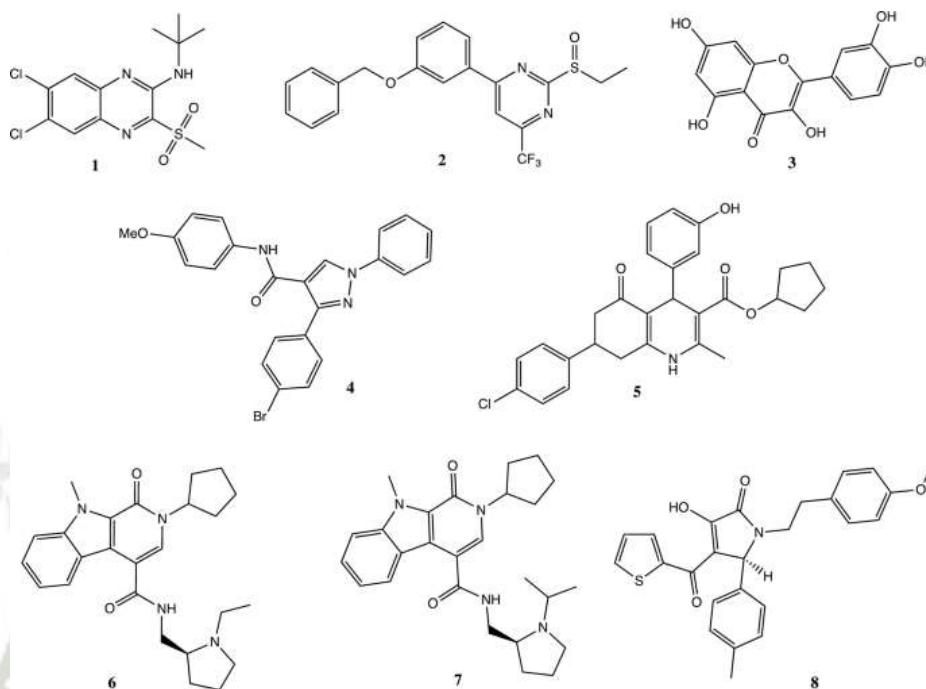
1.6.5.6. Quinonas

Las quinonas son compuestos ampliamente usados en el descubrimiento y elaboración de fármacos por sus capacidades antibacterianas, anticancerígenos y antipalúdicos. Hay un gran número de quinonas que actualmente muestran efectos significativos sobre la DM2 como la emodina, el crisofanol, Rhein, Shikonin, la tanshinona I, la criptotanshinona, Plumbagin y la timoquinona (63).

1.7. Evidencia experimental

En el estudio de Redij, T. en base al antecedente bibliográfico de la acción del péptido 1 similar al glucagón en la terapia de la diabetes mellitus tipo 2 y como este es un referente constante y eficaz para la elaboración de agonistas, tienen como objetivo desarrollar moduladores alostéricos positivos de molécula pequeña biodisponible por vía oral del receptor de GLP-1. Usando la estructura crio-EM de la GLP-1R en estado activo, con un análisis de estructura, modelamiento molecular y de homología in silico, además de una evaluación in vitro y estudios de mutagénesis, obtuvieron, posterior a las evaluaciones in silico, un compuesto de bajo peso molecular como candidato a modulador alostérico positivo del receptor de GLP1. Este compuesto con un peso molecular de 399 representó ser un óptimo candidato a PAMs de GLP-1R, ya que mejoraba la afinidad y eficacia de la hormona GLP1 en relación con el receptor, además que mantenía un control glucémico dependiente de la dosis y estimulaba la secreción de insulina en sinergia con el péptido 1 similar al glucagón. En este estudio se observó que la molécula compartía propiedades similares a los fármacos y los estudios de mutagénesis mostraron que el sitio de unión acoplado al compuesto era parcialmente el mismo con el de un antagonista del receptor en su dominio transmembrana, concluyendo con la confirmación de la importancia del enfoque basado en la estructura in silico para el descubrimiento de moduladores alostéricos no peptídicos de la GLP-1R de cadena corta con potencial valioso para el desarrollo de fármacos adicionales (64).

Figura 2:
Estructuras de los compuestos o moduladores alostéricos positivos de la GLP-1R
informados en la investigación.



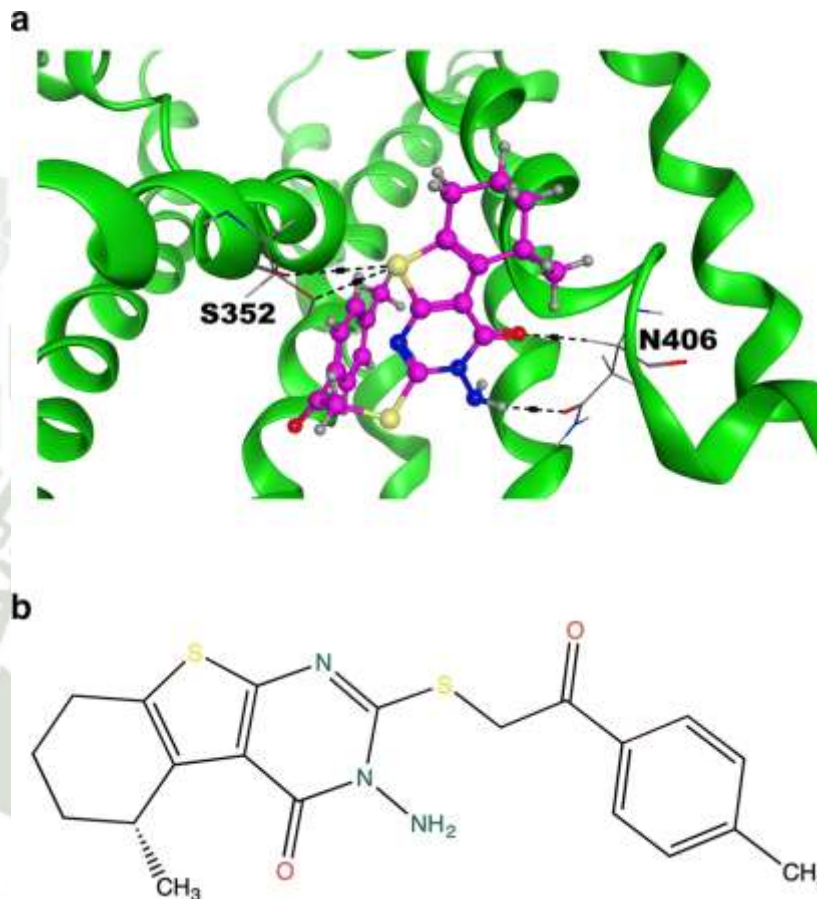
Fuente: Redij, T (64)

Para el cribado de la proteína la estructura crio-EM de la GLP-1R, con un 94% de homología con la humana, se importó y refinó eliminando heteroátomos, agua, proteínas Gs y dominio N-terminal, posteriormente se realizó una minimización de energía y se definieron los sitios de interacción alostéricos del dominio 7 transmembrana del receptor y se escogieron todos los diferentes al sitio ortostérico.

Para el acoplamiento de posibles ligandos, se interactuaron 5689 compuestos a la zona 7TM al definirse en una caja centrada, escogiéndose 16 compuestos con propiedades de ligando con mejor puntuación de interacción para finalmente elegir 10 compuestos óptimos, donde el compuesto de menor peso molecular, menor coeficiente de partición y mejor valor de ajuste inducido fue el candidato para la evaluación in vitro (64).

Figura 3:

Acoplamiento del compuesto C-1 en el sitio de interacción alostérico predicho que muestra la interacción con los residuos S352 y N406 (a). Estructura química del compuesto C-1 (b).

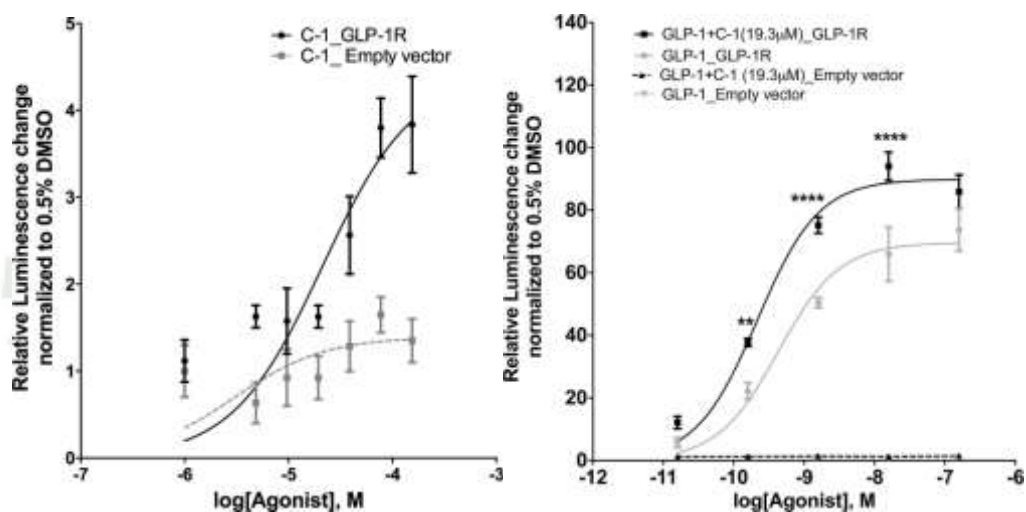


Fuente: Redij, T(64)

En las evaluaciones in vitro, los autores evaluaron al mejor candidato, denominado C-1, mediante una transfección y cultivo células de células HEK293 que expresaban CRE/CREB reporter luciferase, obteniendo que el compuesto C-1 activaba al receptor (GLP-1R) y poseía un valor EC₅₀ de 21uM. De igual manera, la producción de insulina se midió en base a un ensayo de secreción in vitro de células INS-1, la cual indicó que el compuesto C-1 podía estimular la liberación de insulina en presencia de 16,7 mM de glucosa y que la producción de insulina se potenciaba al doble cuando se combinaba la acción de la GLP-1 y el compuesto C-1 en sinergia, cosa distinta al evaluar la producción individualmente (64).

Figura 4:

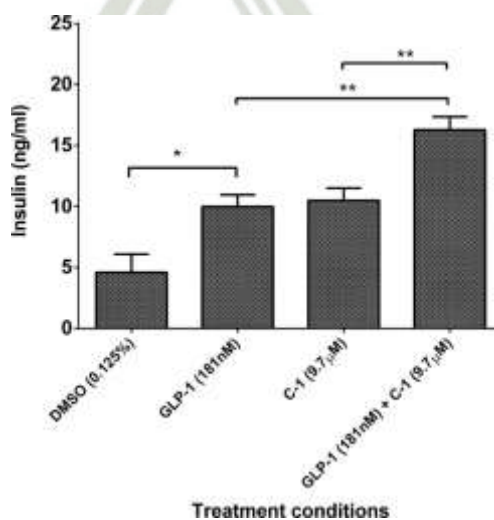
En la izquierda se presenta una curva dosis-respuesta de la evaluación de la actividad agonista del compuesto C-1 en interacción con el receptor de GLP-1 expresado por células HEK293. En la derecha se presenta el posible efecto alostérico del compuesto C-1 sobre la GLP-1R, resalta el papel activador y potenciador del compuesto C-1 en presencia de la hormona GLP1.



Fuente: Redij, T (64)

Figura 5:

Evaluación del efecto del compuesto C-1 en dosis de glucosa. Comparación del estímulo en la secreción de insulina por parte de la hormona GLP-1, el compuesto C-1 y la sinergia de ambos compuestos.

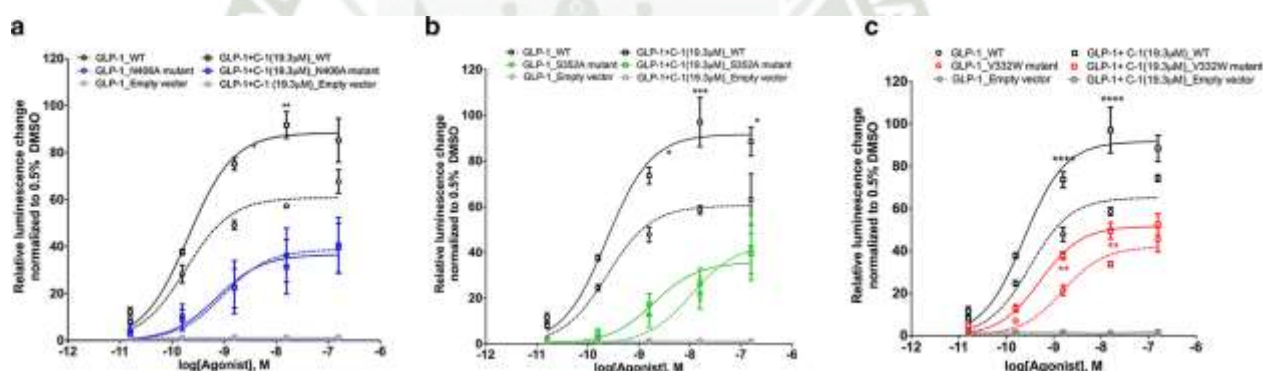


Fuente: Redij, T (64).

Para la evaluación de mutagénesis específicos del sitio de unión se elaboró mediante secuenciación en la estructura del receptor siendo N406A y S352A los mutantes, al ser el sitio de unión del compuesto C-1 y otra mutación control V332W que en bibliografía es importante para la unión de otros agonistas, antagonistas y moduladores. Esta evaluación obtuvo que el compuesto C-1 no activaba al receptor mutante N406A y S352A, pero aun potenciaba la liberación de insulina al trabajar juntamente con la GLP-1, igualmente se determinó que una mutación tipo V332W en la estructura no afectaba a la afinidad del compuesto C-1 ni a su efecto en la activación del receptor e hipoglucemiante, definiendo al sitio de interacción como único posible sitio de acople del candidato a modulador alostérico (C-1) (64).

Figura 6:

Estudio de mutagénesis del sitio específico de acoplamiento del compuesto C-1 en el receptor GLP-1R y evaluación de su efecto.



Fuente: Redij, T(64).

1.8. Biología computacional

La biología computacional o biología sintética es un área de la biología donde se manipula y diseñan vías celulares para forjar o entender nuevas funciones. En la actualidad la biología computacional trabaja con información extraída de la biología natural con el fin de crear nuevas proteínas, simular secuencias, diseñar estructuras, entre otros. Los enfoques de esta rama permiten abordar cuestiones más complejas y proporciona herramientas para la predicción y el diseño con precisión de estructuras de proteínas (65,66).

1.8.1. Modelamiento de proteínas

La biología estructural molecular se centra en interacciones y complejos moleculares, que con el acoplamiento es fundamental para comprobar experimentalmente la interacción y funcionalidad de una proteína. El modelado in silico de proteínas se han categorizado en tres tipos: el acoplamiento basado en plantillas, acoplamiento sin plantillas y acoplamiento guiado por restricciones obtenidos a partir de procedimientos experimentales o hibridación. El modelado de proteínas es útil para predecir los modelos de proteínas tridimensionales y de sus sitios activos, además, apoyado en las simulaciones de dinámica se pueden evaluar las preferencias conformacionales de la naturaleza termoestable de una proteína particular. La estructura de una proteína se define en un estado primaria, secundaria y terciaria, siendo la primaria la secuencia específica de aminoácidos, la secundaria es la unión local de aminoácidos en la proteína primaria, y la estructura terciaria es la estructura proteica final activa y plegada. En la estructura secundaria se tienen dos conformaciones comunes que son las hélices alfa y las láminas Beta con conexión por bucles (67,68).

1.8.1.1. Alfa hélice

La hélice alfa fue la primera estructura que se propuso y se confirmó experimentalmente, la estructura se catalogó como simple y estable por la forma helicoidal. Este diseño presenta enlaces hidrogeno entre el oxígeno del carbonilo de la cadena principal y el péptido amida presente, de igual manera, las hélices alfa pueden estabilizarse por las interacciones de recubrimiento entre los extremos C y N de la hélice. La presencia de hidrógenos en la conformación estructural de una proteína hace que sea más resistente al desdoblamiento y pueden contribuir en la termoestabilidad, ya que esto forma hélices se considera importante la presencia de las hélices alfa en el análisis de la estructura secundaria de una proteína (68).

1.8.1.2. Hoja Beta

Estas estructuras proteicas tienden a formarse por la alineación lateral de hebras beta en orientaciones paralelas o antiparalelas y se estabilizan mediante enlaces hidrogeno e interacciones hidrofóbicas. En estas hojas beta existen interacciones intramoleculares que se asocian al plegamiento de

proteínas y las interacciones intermoleculares se asocian con la estructura cuaternaria de proteínas, interacciones proteína-proteína y agregación de péptidos y proteínas. La estructura de las hojas Beta es de gran importancia en actividades biológicas normales al igual que en enfermedades (69).

1.8.2. Herramientas bioinformáticas

1.8.2.1. Banco de datos de Proteínas (PDB)

El Protein data Bank (PDB) del Colaboratorio de Investigación para Bioinformática Estructural (RCSB) es un portal web centrado en la investigación, de libre acceso a una colección validada de estructuras 3D de macromoléculas biológicas almacenadas en archivos .PDB. Es mundialmente utilizada por docentes, estudiantes e investigadores para una gran variedad de aplicaciones. PDB actualmente admite tres archivos que proporcionan datos estructurales como las coordenadas atómicas de cristalografía macromolecular, espectroscopia de resonancia magnética nuclear y microscopia electrónica, además de otros datos como los factores de la estructura, desplazamientos, restricciones e intensidades no fusionadas (70,71).

1.8.2.2. Programas de visualización 3D de estructuras

Los programas de visualización o de modelado 3D son herramientas eficientes de gran ayuda para el área de investigación y para la creación de gráficos ilustrativos. De igual forma, los visualizadores moleculares son versátiles e integradas en plataformas web vinculadas en el área de diseño de fármacos y acoplamiento molecular. Un ejemplo de los visualizadores más utilizados en el área de la biología computacional sería PyMol, VMD, Chimera, NGL Viewer, 3Dmol.js, MOE, Schrödinger, EzMol, Jmol, GLmol, DS Visualizer, Crystal Studio, CueMol, YASARA view y TexMOL (72,73).

1.8.3. Dinámica molecular

También llamado simulación molecular computacional, es aquella herramienta que analiza el comportamiento de un sistema en un periodo de tiempo, teniendo en cuenta el cálculo de fuerzas entre átomos que lo conforman, este método genera trayectorias por integración numérica directa de ecuaciones de movimientos de Newton. Este método de modelado atómico se da cuando los

átomos constituyen el sistema de estudio. Gracias a la dinámica molecular es posible calcular propiedades de un sistema como la energía libre, la entropía, la viscosidad, la presión, la temperatura, la solubilidad, la interacción de posibles fármacos con la diana determinada y su comportamiento (74,75).

1.8.3.1. Mecánica molecular

La mecánica molecular describe a las moléculas como un conjunto de átomos conectados en vez de núcleos y electrones como en los métodos cuánticos. Este método se justifica por parámetros asociados a conjunto de átomos que permanecen constantes entre estructuras diferentes, ya que la hibridación y el tipo de átomos son los mismos. El desarrollo de campos de fuerzas, funciones energéticas que definen penalizaciones energéticas y la expansión de la estructura a partir de valores normales, nace a partir del modelo de mecánica molecular. La relación de la mecánica y la bioquímica es estrecha al aplicarse estudios de elasticidad del ADN, dinámica conformacional de proteínas, unión receptor-ligando y moléculas motoras. Las fuerzas y movimientos se involucran en dinámica conformacional, la unión, la reacción y transporte de biomoléculas, como la flexión, torsión y estiramiento de ADN (76,77).

1.8.3.2. Campo de Fuerza

Los campos de fuerza son las funciones de energía potencial y los parámetros necesarios para la descripción de interacciones enlazadas y no enlazadas entre partículas, como polipéptidos, proteínas, aminoácidos y agua. La capacidad de los campos de fuerza proteicas para la modelación de interacciones es transferible entre proteínas plegadas, y han sido usadas con el fin de comprender la biofísica de las proteínas desordenadas. Actualmente, ha mejorado el desarrollo de campos de fuerza de otras especies biológicas como los ácidos nucleicos, que presentan significancia en las simulaciones de ARN y ADN. Los campos de fuerza más usados son AMBER, CHARMM, OPLS, GROMOS y ECEPP, los cuales han sido parametrizados para ajustarse a moléculas para cálculo de química cuántica (78–80).

1.8.3.3. Simulación de dinámica molecular

Las simulaciones de dinámica molecular han sido aplicadas en estudios de plegamiento y des-plegamiento proteína, donde se simula el proceso, se

examina la trayectoria y se analiza el comportamiento. La dinámica molecular se ha realizado para aumentar la eficiencia de la determinación y el refinamiento de la estructura mediante el ajuste suave de modelos estructurales para la coincidencia con los datos de resonancia magnética nuclear o los rayos x. En el caso de la energía potencial se modifica con el fin de obtener una mayor eficiencia computacional, reducir el impacto de las interacciones de largo alcance y simular los datos naturalmente biológicos. Otra de las aplicaciones más usadas en el área de la herramienta de dinámica molecular es el modelado de Homología, donde se propone a una estructura mutada basada en una proteína relacionada, el cual ha sido cambiada por deleciones, inserciones o mutaciones en su estructura. En las simulaciones se predice el movimiento de los átomos de una proteína o de un sistema molecular en un tiempo determinado en base a parámetros que la física rige. No solo son capaces de la predicción de movimientos, sino también pueden definir la posible respuesta de biomoléculas ante interacciones, perturbaciones por mutación, fosforilación, protonación o la adición de un ligando. La estabilidad de una simulación depende de los pasos de tiempo a realizarse, es decir, el proceso de simulación debe realizarse en un corto periodo de tiempo como nanosegundos o femtosegundos (81,82).

1.8.3.4. Preparación y realización de una dinámica molecular

Toda estructura que se obtiene por métodos experimentales necesita prepararse para una simulación de dinámica molecular de cada uno de los átomos en él, el proceso puede definirse en el agregado de átomos o residuos, eliminación de ligandos o etiquetas moleculares, iones solventes o moléculas, etc. Existe una metodología o protocolo a seguir como base para la preparación de un sistema para la dinámica molecular, el cual consta de minimizaciones y relajaciones de energía en el sistema que permite la relajación gradual del sistema durante el proceso. Con el uso de restricciones es posible la relajación del sistema al priorizar moléculas móviles antes que moléculas grandes. Los pasos seguidos en la dinámica molecular serían:

Paso 1: Definición de la topología del sistema, el cual es la específica configuración de un sistema que se mantiene durante toda simulación, esto debido a que en las simulaciones no deben existir reactividad química y deben

preasignarse estados tautoméricos y de protonación a todo residuo del sistema.

Paso 2: Construcción del sistema de dinámica molecular. Es necesario que todo sistema esté simulado en un área acuosa o con cualquier otro solvente en el cual estará en contacto nuestra proteína o molécula en cuestión. La solvatación puede influir en la trayectoria de un fármaco hacia un sitio de unión para el acoplamiento y posterior formación de un complejo biomolecular final. De igual manera, el sistema acuoso debe presentar iones en el caso el sistema presente una carga neta, es decir, deben agregarse tanto sodio o cloruro para lograr la carga neutra del sistema.

Paso 3: Minimización y equilibrio del sistema al aplicar restricciones fuertes posicionales en átomos pesados de las moléculas grandes usando una constante de fuerza. Durante el equilibrio se monitorean varios parámetros que pueden alcanzar valores estables para la fase de producción de dinámica molecular. La relajación inicial del sistema en valores constantes de volumen, presión, densidad y temperatura determinan el estado de equilibrio del sistema para la simulación.

Paso 4: Dinámica molecular. La simulación molecular de realizarse con la configuración deseada para la producción, es decir, con los datos de la relajación del sistema con la información de la densidad y otros valores en el conjunto NPT (83–85).

1.8.3.4.1. RMSD

El RMSD o su nombre en inglés, root-mean squared distance es una de las expresiones más utilizadas para el análisis de la similitud estructural entre conformaciones de una molécula implicada en una simulación de dinámica molecular. La distancia cuadrática media implica dos pasos importantes, las cuales son el alineamiento y la superposición de la conformación. La aplicación más común del RMSD es para la determinación o pruebas de similitud entre trayectorias de una molécula en una dinámica y poder concluir la existencia de una convergencia en la conformación proteína. Definida también como la diferencia espacial entre dos estructuras estáticas, esta ecuación se representa en un gráfico

lineal donde la convergencia y la estabilidad se determinan en la aparición de una meseta graficada, estableciéndose como “equilibrio” (86–88).

1.8.3.4.2. RMSF

Las fluctuaciones cuadráticas medias (RMSF) es utilizado en el análisis de una dinámica molecular al intentar obtener información sobre la flexibilidad estructural local, estabilidad termina y heterogeneidad de macromoléculas. El RMSF puede obtenerse a través de factores de temperatura experimentales donde son definidos con una medida de fluctuaciones espaciales de los átomos alrededor de la posición promedio con un movimiento de distribución gaussiana isótropa de desplazamientos alrededor de la posición promedio o como la medida de desplazamiento de un átomo o molécula en relación con una estructura de referencia, promediado sobre un numero de átomos (89,90).

1.8.3.4.3. Radio de Giro

El radio de giro es un parámetro estructural fundamental que describe a las moléculas, es de gran importancia en la estructura molecular como la distancia cuadrática media desde el centro del compuesto y puede ser una poderosa restricción en el modelado de estructuras proteicas. Igualmente, su aplicación permite evaluar la compacidad o tamaño total de una molécula o proteína ya que cuantifica la distribución de la masa alrededor del centro de la masa proteica e informa sobre las propiedades de la estructura en la dinámica. Los cambios conformacionales y flexibilidad de una proteína a lo largo de un tiempo en una simulación de dinámica molecular fueron los principales objetivos de la evaluación del radio de giro cuando esta herramienta se creó (91,92).

1.8.4. Ensamblaje molecular

El ensamblaje molecular es un método aplicado en el diseño de farmacos, el cual se basa en la interacción molecular por predicción de sitios de unión y afinidad entre un receptor y un ligando en base a su estructura. Esta metodología va de la mano con el uso de base de datos de compuestos que permite la investigación de potenciales farmacóforos y su posible compra, síntesis y/o prueba de

seguimiento, ya sea con el fin de evaluar la eficiencia, costo, mejoramiento de acoplamiento u otras aplicaciones (93).

1.8.4.1. Docking Molecular

La metodología del Docking tiene como fin el observar y analizar el comportamiento de moléculas de menor tamaño en un sitio de unión de una proteína diana, que se haya definido por resonancia magnética nuclear o cristalografía de Rayos X. El enfoque in silico permite al Docking trabajar con miles de compuestos en un tiempo mínimo asequible, lo que reduce el tiempo de trabajo en la investigación. La estrategia del acoplamiento permite calcular las propiedades de compuestos moleculares para comportarse como posibles fármacos ante su especificidad con una diana en particular. El trabajo consiste en la programación de un algoritmo que se encarga de buscar exhaustivamente la conformación ideal y acoplamiento adecuado para la formación del complejo hasta alcanzar la convergencia mínima, empleando una función de puntuación de afinidad que clasifica las posibles poses del ligando en el receptor teniendo en cuenta la fuerza electrostática y las fuerzas de Van der Waals. Dada la importancia y el potencial de esta herramienta en la simulación de dinámica molecular y el descubrimiento de nuevos fármacos, se viene desarrollando actualizaciones que la actualicen y mejoren el trabajo en el acoplamiento molecular (94,95).

1.8.4.2. MM/PBSA

El área de superficie de Poisson-Boltzmann de la mecánica molecular es un método muy popular para la predicción de energía libre de libre enlace, debido a la precisión y a la menor exigencia en comparación con otros métodos, por esto se ha usado ampliamente en investigaciones biomoleculares como el plegamiento de proteínas, unión proteína ligando e interacciones proteicas.

El método se desarrolló a finales de los años 90 y posee una constante aplicación debido a su eficiencia. En este método se estima el enlace Delta G a partir de las energías libres de cada reactivo y el producto en reacción:

$$G = E_{bind} * E_{el} + E_{vdW} + G_{pol} + G_{np} - TS$$

Los primeros tres términos se refieren a términos de energía estándar de interacciones enlazantes, electrostáticas y de Van der Waals. Los términos G_{pol} y G_{np} son las contribuciones polares y no polares a las energías libres de solvatación. El primero se obtiene al resolverse la ecuación PB o usando un modelo de Born generalizado, mientras el segundo (no polar) se estima en base a una relación lineal con el área de superficie accesible al solvente (SASA). Al final de la ecuación tenemos el término de la temperatura absoluta multiplicada por la entropía, el cual se estima mediante un análisis de las frecuencias vibracionales en un estado normal.

En el marco de la dinámica molecular el cálculo de MM/PBSA se puede basar en estructuras minimizadas individuales con el fin de ahorrar tiempo y esfuerzo computacional, pero este caso puede ignorar efectos dinámicos que genera una dependencia de gran medida de la estructura inicial, con la posible pérdida de la información y la precisión estadística, ante esto, el desarrollo correcto y un solvente adecuado en instantáneas de dinámica molecular puede permitir liberar esos posibles problemas.

Una de las herramientas actualmente usadas es el cálculo de `g_mmpbsa`, el cual implementa un enfoque MM/PBSA usando subrutinas escritas internamente o en paquetes de GROMACS y APBS. Esta herramienta se desarrolló por el consorcio Open Source Drug Discovery con el fin de integrar simulaciones de dinámica molecular de alto rendimiento con cálculos de energía de enlace, además, posee opciones para la selección de radios atómicos alternativos y diversos modelos de solvatación como no polares, volumen accesible al disolvente, modelos basados en el área de superficie accesible al disolvente y un modelo que contiene componentes repulsivos y atractivos (SAV, SASA, SASA-SAV) (96–98).



2. Metodología

2.1. Detalles computacionales

2.1.1. Hardware

En la elaboración de este trabajo, se hizo uso de la estación de servicio del centro de investigación de Ingeniería Molecular (CIIM). Esta estación trabaja sobre el sistema operativo de Ubuntu, tipo 64 bits, el cual posee un sistema operativo de código libre basado en Debian dirigido por Canonical Ltd, tiene varias versiones ya sea móvil, escritorio o servidor. El equipo cuenta con propiedades como una memoria RAM de 80GiB y un procesador AMD Ryzen 9 5950x 16-core procesador x32, dos unidades de procesamiento NVIDIA GeForce GTX 980 y NVIDIA GeForce RTX 3080 Ti, además de un disco de 13.0 TB (99).

2.1.2. Base de datos

2.1.2.1. NCBI

El Centro Nacional de Información Biotecnológica o sus siglas en inglés NCBI se creó en 1998 con el fin de desarrollar sistemas de información en el área de salud, está formado por información recibido a partir de tres fuentes como las presentaciones directas de investigaciones externas, colaboraciones o recolección interna, y en consorcios de investigación. En el NCBI podemos encontrar un catálogo de genes humanos, fenotipos, secuencias de genes, proteínas e información de estructuras, funciones y las asociaciones con enfermedades en humanos y modelos animales. Este banco de datos se utilizó con el fin de encontrar las secuencias del receptor de GLP-1 e información de estructuras vinculadas (100).

2.1.2.2. Protein Data Bank

El PDB es una base de datos de gran valor actual debido a su aplicación en el área de educación, formación e investigación en el campo de ciencias biológicas y biomédicas. Se creó en 1971 y en la actualidad sigue siendo una herramienta frecuente y único repositorio mundial de datos estructurales con libre disponibilidad y acceso. Ante la publicación de una investigación sobre nuevas estructuras moleculares, debe ser ingresada en el PCB con información de coordenadas, datos experimentales y metadatos, ya sea de

ámbito gubernamental y no gubernamental. El banco de datos de PDB se utilizó como base para la investigación in silico de la GLP-1R, presentada por difracción de rayos X (101,102).

2.1.2.3. PubChem

Pubchem es una base de datos publica con información del área de biología química, el cual es visitado mundialmente con el fin de adquirir información sobre patentes, compuestos e información bioquímica. Esta base de datos se mantiene por el NCBI por los estados Unidos y posee una gran cantidad de información recopilada de diferentes fuentes de datos, la mayoría recopilada en forma de registros de sustancias químicas, entidades relacionadas y bioensayos. De igual forma, este banco de datos incluye una gran cantidad de información sobre la bioactividad de sustancias químicas definidas experimentalmente y con anotaciones biomédicas, además de brindar información sobre la relación de sustancias químicas con genes, proteínas y vías biológicas, con el fin de llegar a la mejor comprensión del papel de los compuestos en la biología humana. Se utilizo Pubchem en este trabajo con el fin de obtener información de los compuestos de origen químico-sintético con propiedades de ligando al receptor de GLP-1, asimismo como las propiedades, patente y los bioensayos (103,104).

2.1.2.4. Base de datos de ZINC

ZINC es una base de datos de acceso público y disponible, que recopila compuestos registrados y comercializados mundialmente. Su amplia base de compuestos permite una búsqueda rápida de compuestos y análogos además de tener una disponibilidad y visualización en 2D y 3D. El sitio web de ZINC es usado por un gran número de investigadores y su crecimiento es exponencial con el pasar de los años. Esta base de datos se usó con el fin de adquirir información de los compuestos de origen natural con posibles propiedades de ligando con el receptor de GLP-1, además se usó para comprar las propiedades y valores de los mejores compuestos propuestos en la investigación con los valores presentados por el servidor RPBS MTiOpenscreen (105).

2.1.3. Software

2.1.3.1. GROMACS 2022.3

El software de Gromacs, desarrollado en el departamento de Biofísica y química de la universidad Groningen de Netherland por 1990, originalmente se aplicó para el estudio de plegamiento y la interacción moleculares de lípidos, ácidos nucleicos y proteínas, y con los avances re realiza dinámica molecular con el fin de simular el movimiento de una molécula cualquiera en un sistema y poder estudiar las interacciones internas y los cambios conformacionales del mismo. En GROMACS es necesario trabajar con un campo de fuerza molecular apropiado para la obtención de información precisa sobre lo que se busca, estos pueden consistir en interacciones enlazadas para el estiramiento del enlace, flexión de ángulo o torsión de ángulo diedro, e interacciones no enlazadas como las electrostáticas y de van der Waals (75).

2.1.3.2. UCSF Chimera

Chimera ofrece interfaces graficas de usuario para simplificar configuraciones de datos de entrada y parámetros de proceso para la construcción de modelos moleculares. Este software se describe como una interfaz gráfica completa para el control y visualización de resultados. El lenguaje de programación principal que usa Chimera es Python debido a que este se interpreta de manera fácil y legible y es óptimo para el desarrollo y depuración rápida. UCSF Chimera posee capacidades destinadas al análisis de modelos estructurales de resolución atómica, entre las cuales se encuentra los cálculos de contacto, navegación estructural, complementación de secuencia, entre otros (106–108).

2.1.3.3. VMD

Visual Molecular Dynamics es un software implementado por el Grupo de Biofísica teórica y computacional de la Universidad de Illinois con el fin de visualizar, modelar y analizar estructuras o biomoléculas. VMD no posee un límite de números de átomos, moléculas, residuos o cuadros de trayectoria, limitado únicamente por la memoria disponible del equipo o maquinaria de trabajo. Ya que está diseñado para el análisis y visualización de proteínas,

ácidos nucleicos, membranas lipídicas, entre otros compuestos biológicos, es fácilmente trabajado en scripts de Python integrado (72,109).

2.1.3.4. LIGPLOT

El programa de LIGPLOT es un generador automático de esquemas en 2D de complejos Proteína-Ligando a partir de un archivo de entrada estándar del Protein Data Bank, obteniéndose un archivo con una representación sencilla e informativa de las interacciones analizadas intermoleculares, enlaces de hidrogeno, hidrofobicidad y accesibilidad de átomos. Se creó con la finalidad de centrarse en interacciones específicas entre un ligando y una proteína, tanto las mediadas por moléculas de agua o un residuo, como otros tipos de interacción como la dimerización e interacción entre dominios. Actualmente, el avance y mejora de LIGPLOT permite la edición de diagramas, movimiento de componentes alrededor de átomos seleccionados, girar en torno a enlaces, cambiar colores y editar etiquetas (110,111).

2.1.3.5. Open Babel

Open Babel es un software con una caja de herramientas química abierta y con funciones para poder entender y hablar las diferentes lenguas de la representación de datos químicos, en resumen, permite al usuario buscar, convertir, analizar o almacenar datos de modelado molecular, químico, bioquímica u otras áreas, así mismo, al manejar lectura, escritura y conversión de más de 110 formatos de lenguaje químico puede filtrar y buscar archivos moleculares usando la coincidencia de patrones, huellas dactilares y mecánica molecular (112).

2.1.3.6. Autodock Vina

El programa desarrollado por Arthur J. Olson surgió como un programa inicial de acoplamiento molecular adoptado en el campo de la investigación, posee un algoritmo de optimización global denominado Algoritmo Genético Lamarckiano que busca el modo de acoplamiento. Vina es famosa por su acoplamiento molecular preciso, veloz, de fácil uso y al tener un enfoque de uso en cuadrícula. Autodock Vina ha ido mejorando con el paso del tiempo, centrándose en la precisión significativa de las predicciones del modo de enlace, con una mayor aceleración y al calcular automáticamente el mapeo y

agrupar datos resultantes de manera transparente a los usuarios, de igual forma, de la mano de la inteligencia artificial y redes neuronales artificiales se va observando mejoras en el trabajo del software (113,114).

2.1.3.7. Gaussian

Gaussian es un software usado para el estudio de estructuras electrónicas usando una amplia gama de metodología. Se usa en el estudio de moléculas, reacciones y cálculo de propiedades cuánticas. Su uso también es aplicado en la optimización de geometría, optimización de carga, optimización de enlaces diedro y cargas de Hirschfeld, todo mediante cálculos mecánico-cuánticos. En el presente trabajo se utilizó Gaussian para determinar las cargas de Hirschfeld y la optimización de los compuestos con posible potencial de ligando del receptor de GLP-1 (115,116).

2.1.4. Servidores

2.1.4.1. RPBS

Este servidor RPBS es una plataforma web de acceso libre y selección abierta que desempeña un papel crucial en la identificación de nuevos compuestos con fines farmacéuticos o funciones aplicados a la bioquímica. Este servidor posee dos herramientas de acceso abierto para la evaluación de propiedades de compuestos, uno es MTi Autodock Vina que emplea un enfoque de búsqueda conformacional definiendo un área de trabajo por cuadrícula aleatorio. La segunda herramienta, empleada en este trabajo, es la de MtiOpenScreen, el cual trabaja un acoplamiento inicial con Autodock Vina definido en un área de cuadrícula definido por el usuario fijando el trabajo en sitios de unión calculados por el servidor. MTiOS genera interacciones de la proteína o diana en específico con una colección de compuestos químicos definidos, cinco librerías de compuestos etiquetados por su naturaleza como de origen químico variado (Diverse-Lib), químicos enfocados en interacción proteína-proteína (iPPI-Lib), fármacos comerciales (DRUG-Lib), compuestos que constituyen alimentos (FOOD-Lib) y compuestos de origen natural (NP-Lib), todos ellos sin toxicidad alguna y registrados en bases de datos como ZINC, PubChem, FAFDrugs, ChEMBL y DrugBank. En este trabajo se usó este servidor web para la detección de los posibles compuestos

con posible propiedad de ligando al receptor de GLP-1 tanto de origen natural y de origen químico diverso o sintético, igualmente, se determinó características esenciales en la búsqueda de los compuestos (117).

2.1.4.2. Protein Plus

El servidor web ProteinPlus es una plataforma que brinda el soporte de modelado molecular para proteínas disponibles como archivos PDB y registrados en el Protein Data Bank. Este servidor requiere de un conocimiento básico e integral del usuario para la selección y entendimiento de las herramientas que se ofrece, herramientas con funciones como la predicción de sitios de unión potencial, sitios de unión similar y acoplamiento molecular de moléculas de interés. Los pasos de trabajo a seleccionar en la plataforma son Protoss Hydrogen prediction, DogSiteScorer y DogSite3, PoseView y PoseEdit, SIENA, HyPPI, EDIA, METALizer, LifeSoaks, WarPP, StructureProfiler, GeoMine, JAMDA, MicroMinery, por último, ActivityFinder. Este programa se utilizó con el fin de detectar con gran precisión los sitios de unión del receptor de GLP-1 que posteriormente se evaluarían con los compuestos tipo ligando (118,119).

2.1.4.3. LigParGen

El servidor de LigparGen es una plataforma que se desarrolló con el fin de proporcionar un procedimiento simple y automático al momento de asignar parámetros de campos de fuerza y crear archivos necesarios para la realización de cálculos en paquetes de simulación. De igual forma, el servidor permite diseñar parámetros OPLS-AA para moléculas orgánicas y libera archivos PQR, para cálculos de Poisson-Boltzman y archivos especificados con coordenadas tipo MOL o PDB (120).

2.1.4.4. PDBsum

PDBsum es un servidor web que proporciona un resumen de la información sobre las estructuras depositadas en el Protein Data Bank. Es capaz de generar esquemas e imágenes de la estructura, gráficos de una estructura secundaria, tablas de análisis detallados generados por PROMOTIF, resultados en resumen por PROMCHEK y diagramas Proteína-Ligando o Proteína-ADN,

de igual manera, presenta diagramas interactivos 3D y resalta conceptos clave en la estructura (121,122).

2.2. Descriptores de estructura

2.2.1. Diagrama de Ramachandran

El diagrama de Ramachandran es un descriptor de estructuras proteicas que representa los pares de ángulos diedros de la cadena principal en un plano bidimensional. El papel que desempeña este descriptor es crucial en el área de la biología, pero presenta una deficiencia al construir solo una pequeña parte de puntos de datos sin poder reflejar la información estérica de las proteínas. Igualmente, es un enfoque poderoso y conveniente para la visualización y evaluación de estructuras proteicas tridimensionales con solo variables, ángulos ϕ y ψ , los cuales se trazan generalmente en el mapa bidimensional en dos regiones: la región con colisiones estéricas entre átomos se define como la región no permitida, y la región sin colisiones se define como la región permitida. Ante lo expuesto, el diagrama de Ramachandran se define como una métrica de calidad clave para la validación de calidad de los modelos atómicos de proteínas, el cual, al no existir valores atípicos en su grafica se considera ampliamente como una estructura de alta calidad (123,124).

2.3. Metodología

2.3.1. Determinación y búsqueda de los potenciales sitios de interacción del receptor glp1.

Para la determinación de los bolsillos de interacción de la glp1r se utilizó la base de datos de compuestos del centro de investigación de ingeniería molecular de la Universidad Católica de Santa María, el cual contó con el receptor GLP1 de 491 aminoácidos, extraído previamente de la base de datos del Protein Data Bank (7KI1). La estructura incompleta del receptor se trabajó usando UCSF Chimera mediante comandos y herramientas del programa, donde se definió la estructura totalmente. Posteriormente, usando ProteinPlus, el cual es un servidor de soporte o portal web para el modelado de estructuras e interacción de compuestos, se importó el receptor en formato .pdb. Una vez cargado el receptor en el sistema del servidor se seleccionó la herramienta Dogsite Scorer que analizó los posibles sitios de interacción en el receptor de la hormona GLP-

1 y definió la ubicación, área superficial, volumen y aminoácidos interactuantes de cada bolsillo.

Con esta herramienta se definió los pockets de receptor al calcular puntuaciones de afinidad. El servidor procesó y liberó sitios de interacción en las diferentes zonas de la proteína, es decir, la zona intracelular, intermembranal y extracelular. Una vez con los pockets, se caracterizaron los sitios de unión por aminoácidos, área superficial y ubicación extracelular para el posterior acoplamiento con diversos componentes.

2.3.2. Virtual screening de los potenciales agonistas y ortogonistas de la glp1 r de origen natural y sintético.

Se trabajó con el servidor de MTiOpenscreen y sus herramientas de acoplamiento, se importó el receptor en formato .pdb con la estructura completa. Se utilizó la herramienta de AutoDock Vina con la librería misma del servidor, siendo la librería Diverse protein y Natural protein las seleccionadas para la interacción con el receptor, ya que estas librerías contienen proteínas o compuestos que se hallan registradas en la base de datos de Pubchem o ZINC, teniendo naturaleza química o natural respectivamente.

Se trabajo con parámetros basados en la regla de Lipinzki para ambos casos de acoplamiento en las librerías seleccionadas, es decir que se realizó una búsqueda de moléculas de peso molecular menor a 500 gramos, con valor de coeficiente de partición menor a 5, donantes de enlaces hidrogeno menor a 5, aceptores de hidrogeno menores a 10 y una acción antónima al plomo. Posterior se definió una zona centrada de actividad o caja para la interacción con coordenadas previamente establecidas por el visualizador de Chimera. Después de 3 días el servidor entregó una lista de proteínas que cumplían con los parámetros establecidos con puntuaciones de interacción favorables para el estudio.

La librería natural protein procesó 1228 componentes como los mejores interactuantes con el receptor, mientras que la librería diverse procesó 1500 componentes interactuantes con el receptor. De ambas librerías se escogieron las de mayor puntuación de acoplamiento y valores previamente parametrizados teniendo finalmente un listado de 121 componentes para la librería natural protein y 115 para la librería diverse.

2.3.3. Selección, por criterios estocástico, de los mejores agentes agonistas y ortogonistas de la GIP1-R.

La selección de los mejores compuestos que se usaron para el ensamblaje se basó en los valores más importantes que el servidor libero al procesar los compuestos, es decir, la mayor puntuación de interacción, ubicación de acoplamiento y coeficiente de partición según lo parametrizado. Como primer paso, se asignó un código a cada molécula dependiendo del modelo para ordenar la discriminación de valores. Luego, se comprobó la ubicación e interacción de los componentes de cada librería con los sitios de interacción definidos en la proteína receptora con los cálculos realizados en el servidor RPBS, que al visualizarlo en el programa UCSF Chimera, eliminó uno de la lista de compuestos de la librería natural. Como segundo paso, con los datos del RPBS se empezó a seleccionar a los de mejor puntuación de interacción, coeficiente de partición y peso molecular, eliminando un gran número de compuestos de ambas librerías. Finalmente, se seleccionó un total de 49 modelos para el grupo de Natural protein y 96 modelos para el grupo Diverse protein, afines al receptor GLP1-R.

2.3.4. Ensamblaje de los agentes interactuantes en las zonas drogables.

Para el ensamblaje de los componentes seleccionados, se trabajó con AutoDock Vina de Gromacs 2022.3, y Chimera UCSF, que permitieron el acoplamiento de las estructuras para evaluar la interacción en el receptor, y Open Babel que permitió el cambio de formato de archivos. En primer lugar, con el programa Open Babel se adquirió, del receptor glp1 y de cada ligando seleccionado para el ensamblaje, los formatos en .pdb y .pdqt. Después, con la herramienta Add H de UCSF Chimera, se agregó hidrogeno a los ligandos que los perdieron en la conversión de formato. Finalmente, se definió una caja centrada con coordenadas para la interacción de los ligandos y la zona extracelular del receptor y se realizó una evaluación de 1000 interacciones para cada ligando, tanto para el grupo de Natural protein y Diverse protein, lo que resulto en la determinación de un solo mejor candidato de mayor puntuación de interacción para cada grupo respectivamente. Con el programa Gaussian se establecieron las cargas de Hirschfeld. En el servidor LigParGen se envió la estructura tridimensional de cada ligando para la obtención de un archivo en formato. itp,

el cual al utilizar funcionales como CAMB3LIP=pop en Gaussian se logró calcular la carga de Hirschfeld, dicha carga se agregó al formato .itp de cada metabolito y se guardó el cambio para iniciar con el trabajo de simulación.

2.3.5. Simulación de trayectorias de 100 nano segundos para los agentes seleccionados.

Las 2 estructuras cuaternarias obtenidas en el acoplamiento molecular se sometieron a simulación de dinámica molecular mediante cálculos con el paquete de GROMACS 2022.3, se usó un campo de fuerza OPLSAA_lipip.ff, se delimitó con una caja al complejo con todos los átomos a mínimo 1nm del límite de la caja, para evitar la periodicidad. Se solvataron por moléculas de agua modelo TIP3 de 3 puntos y luego, con el script perl water_deletor.pl para eliminar las moléculas de agua dentro del núcleo hidrofóbico de la bicapa lipídica, con adición de iones neutralizantes de carga neta del sistema. Posteriormente, se realizó una minimización de energías para que los complejos no presenten choques esféricos o geometrías inapropiadas, donde las estructuras logran relajarse. Debido al método Steepest Descent, la minimización se encarga de evaluar las fuerzas debidas a las posiciones atómicas del complejo para modificarlas y alcanzar un mínimo de energía. En la dinámica molecular se usó el acoplamiento de temperatura V-rescale y acoplamiento de presión Parrinello-Rahman para conservar los sistemas estables con relación a una temperatura fisiológica de 309.65K° y a 1 bar de presión. Se estableció a 0.1 y 0.2 para temperatura y presión, respectivamente. Se realizó la simulación de 100 ns para el ligando con origen en el grupo Diverse protein y una simulación de 200ns para el ligando con origen en el grupo Natural protein, las trayectorias se almacenaron cada 10ps y se hizo diferentes análisis de estructura al culminar la dinámica para definir la estabilidad de cada complejo, mediante cálculo de la desviación cuadrática media, fluctuaciones cuadráticas medias y radio de giro, además de un estudio de los componentes de energía mediante MM/PBSA con la contribución energética de cada residuo, para determinar la interacción de los 2 ligandos y el receptor de GLP1.

2.3.6. Análisis de los resultados de la dinámica molecular.

Se estimó la energía de unión promediando las energías de enlace para las estructuras de cada frame de las simulaciones de dinámica molecular para cada complejo. Con el uso de un script en lenguaje Python (MmPbSaStat.py) con la metodología de g_mmpbsa, brindó dos archivos de salida “full_energy.dat” y “sumary_energy.dat”, los cuales presentaban las desviaciones promedio y estándar de todos los componentes energéticos y la energía de enlazamiento.





3. Resultados

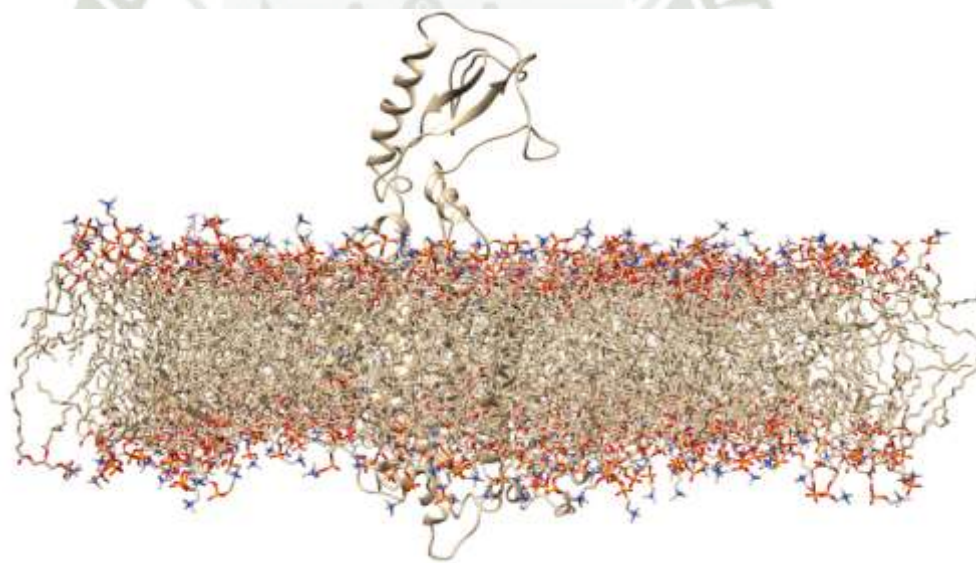
3.1. Descubrimiento de los potenciales sitios de interacción del receptor de glp1.

3.1.1. Proteína 1 similar al Glucagón.

Para la evaluación de los sitios de interacción del receptor, se llevó a cabo un análisis en el servidor PDBsum para primero definir las características de la estructura inicial en la investigación. En base al servidor se describió al GLP-1 receptor como una proteína que consta de 491 residuos en su estructura que, según la gráfica de Ramachandran, posee un total de 346 residuos en su zona más favorecida y 89 residuos en la región adicionalmente permitida, teniendo un 97.3% lo que lo define como estructuralmente correcta.

Figura 7:

Estructura del receptor intermembrana de la hormona similar al glucagón tipo 1



Fuente: Elaboración propia

La estructura del receptor del péptido 1 similar al glucagón presentó una lista de características que se muestran en la Tabla 1. El receptor de GLP1 obtuvo en su evaluación un total de 28 hélices alfa, 26 interacciones hélice-hélice, 78 giros Beta, 7 giros gama, 1 hoja beta y 4 puentes disulfuro.

Tabla 1:

Resumen de las características de la estructura del receptor de GLP-1

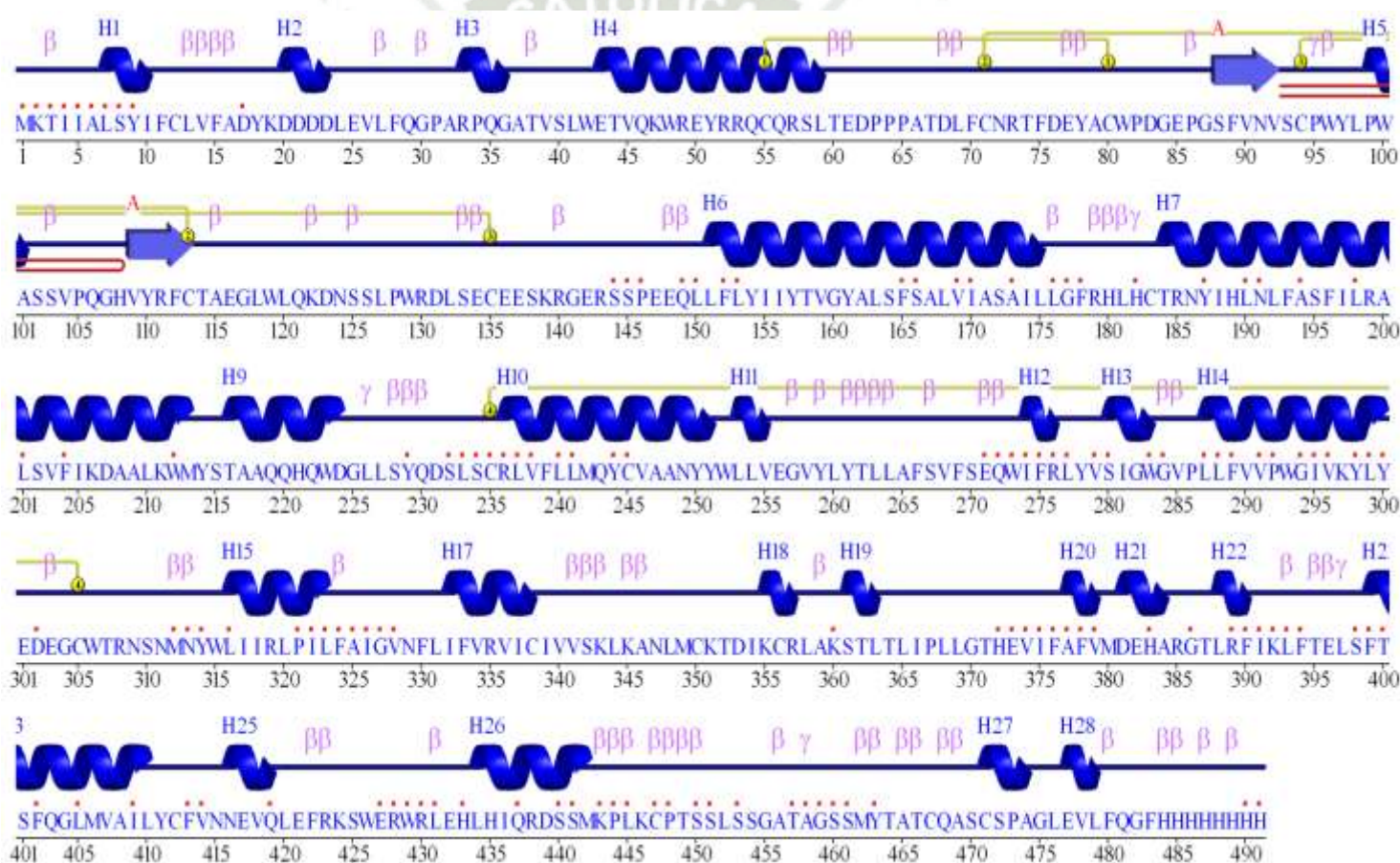
Estructura del Receptor GLP-1					
hélices a	Giros B	Giros g	Hojas B	Interacciones hélice-hélice	Puentes disulfuro
28	78	7	1	26	4

Fuente: Elaboración propia

Figura 8:

Representación de la estructura secundaria de GLP1R obtenido del servidor

PDBsum



Fuente: Elaboración propia

La estructura secundaria de la proteína, con hélices alfa, hojas beta y giros gamma, que fundamentan la estabilidad de la proteína. Las hélices alfa están representadas de color azul formando una estructura helicoidal. Las hojas beta están representadas en flechas magenta en diferentes posiciones, como cadenas

de aminoácidos alineadas en laminas planas. La numeración bajo la estructura indica la posición de los residuos de aminoácidos en la proteína.

3.1.2. Hélices alfa

Tabla 2:
Hélices alfa presentes en la proteína GPL1-R

Hélices alfa					
N.º	Inicio	Final	Tipo	Residuo	Secuencia
1	Leu7	Ile10	H	4	LSYI
2	Asp20	Asp23	H	4	DDDD
3	Arg33	Gly36	G	4	
4	Glu43	Leu59	H	17	ETVQKWREYRRQCQRSL
5	Pro99	Ala101	G	3	PWA
6	Leu151	Leu175	H	25	LFLYIIYTVGYALSFSALVIASAIL
7	Thr184	Asn186	G	3	TRN
8	Tyr187	Met213	H	27	YIHLNLFASFILRALS VF I K D A A L K W M
9	Thr216	Asp224	H	9	TAAQQHQWD
10	Arg236	Tyr251	H	16	RLVFLMQYCVAANY
11	Leu253	Val255	G	3	LLV
12	Ile274	Arg276	G	3	IFR
13	Ser280	Trp283	H	4	SIGW
14	Leu287	Tyr300	H	14	
15	Leu316	Arg319	H	4	LIIR
16	Leu320	Leu323	G	4	LPIL
17	Ile332	Cys338	H	7	IFVRVIC
18	Lys355	Arg357	G	3	KCR
19	Ser361	Leu363	G	3	STL
20	Ala377	Val379	G	3	AFV
21	Asp381	Ala384	H	4	DEHA
22	Leu388	Phe390	G	3	LRF
23	Phe399	Phe402	G	4	FTSF
24	Gln403	Leu410	H	8	QGLMVAIL
25	Asn416	Gln419	H	4	NEVQ
26	Leu434	Met442	H	9	LHIQRDSSM
27	Cys471	Ala474	H	4	CSPA
28	Glu477	Leu479	G	3	EVL

Fuente: Elaboración propia

La tabla 2 es un análisis detallado de las hélices alfa en el receptor de GLP1 (GLP1R), con información sobre su estructura al inicio, al final, el tipo, el número de residuos y la secuencia específica. Se muestra que la GLP1R consta de 28 hélices alfa con variaciones en su longitud, desde hélices cortas de 3 residuos hasta hélices largas de 37 residuos. La hélice alfa 6, que abarca de Leu151 a Leu175, es de las más largas y probablemente tenga participación de

un dominio crítico de la proteína para su función como receptor, especialmente en la interacción de ligandos. De igual forma, la hélice 16, que se extiende desde Arg236 hasta Tyr251 con 16 residuos, contiene secuencias que podrían estar implicada en la señalización membranal.

3.1.3. Giros Beta

Tabla 3:

Giros Beta presentes en la proteína GPL1-R

N.º	Giro	Secuencia	Residuo i + 1			Residuo i + 2			Enlaces hidrogeno
			Phi	Psi	Chi1	Phi	Psi	Chi1	
1.	Lys2-Ile5	KTII	-89.1	3.3	38.6	-88.6	-20.8	-78.2	No
2.	Cys12-Phe15	CLVF	-69.5	141.7	-61.8	78.7	22.4	-136.4	No
3.	Leu13-Ala16	LVFA	78.7	22.4	-136.4	-151.7	-53.5	-158.3	Yes
4.	Val14-Asp17	VFAD	-151.7	-53.5	-158.3	-79.4	-29.0	-	Yes
5.	Phe15-Tyr18	FADY	-79.4	-29.0	-	-111.5	10.0	65.2	No
6.	Val26-Gln29	VLVQ	-64.7	-39.8	-54.4	-113.5	23.9	-56.4	No
7.	Gln29-Ala32	QGPA	102.3	-131.2	-	-92.8	-0.7	23.6	Yes
8.	Ala37-Ser40	ATVS	-53.2	-29.1	64.6	-146.0	143.0	-69.4	Yes
9.	Leu59-Asp62	LTED	-92.3	-1.2	53.9	-81.8	-40.0	-161.4	Yes
10.	Thr60-Pro63	TEDP	-81.8	-40.0	-161.4	-153.1	145.3	167.7	Yes
11.	Thr67-Phe70	TDLF	-148.5	-21.3	157.6	-80.1	-25.3	-146.9	Yes
12.	Asp68-Cys71	DLFC	-80.1	-25.3	-146.9	-71.1	153.4	-172.7	Yes
13.	Asp76-Ala79	DEYA	-78.9	-11.7	-151.7	-126.6	-40.0	-63.9	Yes
14.	Glu77-Cys80	EYAC	-126.6	-40.0	-63.9	-122.2	80.9	-	Yes
15.	Glu85-Ser88	EPGS	-68.7	96.7	22.8	125.8	26.3	-	No
16.	Pro95-Leu98	PWYL	-51.3	-18.6	56.4	-74.8	-15.7	64.8	No
17.	Ser102-Pro105	SSVP	-94.7	-32.2	74.6	-129.9	138.9	-67.9	Yes
18.	Thr114-Gly117	TAEG	-51.4	-25.0	-	-70.5	-18.0	-164.4	No
19.	Gln121-Asn124	QKDN	-146.5	-8.2	76.0	-110.3	-22.6	96.1	Yes
20.	Asn124-Leu127	NSSL	-81.4	-22.6	54.2	-149.2	-11.1	57.8	Yes
21.	Leu132-Cys135	LSEC	-72.0	-28.6	61.2	-94.1	11.2	-157.2	No
22.	Ser133-Glu136	SECE	-94.1	11.2	-157.2	-127.4	-29.5	-178.4	Yes
23.	Lys139-Glu142	KRGE	-69.0	-29.8	174.8	-131.6	-149.8	-	Yes
24.	Glu147-Leu150	EEQL	-61.4	-33.0	-170.0	-79.6	-18.1	72.8	No
25.	Glu148-Leu151	EQLL	-79.6	-18.1	72.8	-93.0	-15.7	-58.4	Yes
26.	Leu175-Phe178	LLGF	-101.8	-0.3	-74.2	-125.8	-10.7	-	Yes
27.	Phe178-Leu181	FRHL	-62.7	-39.1	175.3	-61.8	-42.6	-179.2	Yes
28.	Arg179-His182	RHLH	-61.8	-42.6	-179.2	-80.8	-30.2	-65.3	Yes
29.	His180-Cys183	HLHC	-80.8	-30.2	-65.3	-92.7	53.5	-168.5	Yes
30.	Leu227-Gln230	LSYQ	-133.2	-83.9	64.5	-45.1	-26.5	-68.1	Yes
31.	Ser228-Asp231	SYQD	-45.1	-26.5	-68.1	-108.0	14.0	73.0	No
32.	Tyr229-Ser232	YQDS	-108.0	14.0	73.0	-111.8	-29.2	179.9	Yes
33.	Glu256-Tyr259	EGVY	135.5	-91.6	-	-147.8	33.4	54.9	Yes
34.	Val258-Tyr261	VYLY	-91.4	-36.5	170.4	-119.6	118.3	-61.8	Yes
35.	Leu260-Leu263	LYTL	-83.8	-25.9	-171.1	-69.9	10.6	-173.9	Yes
36.	Tyr261-Leu264	YTLL	-69.9	10.6	-173.9	-84.2	-15.5	-58.1	No
37.	Thr262-Ala265	TLLA	-84.2	-15.5	-58.1	-127.1	-40.0	62.1	Yes
38.	Leu263-Phe266	LLAF	-127.1	-40.0	62.1	-100.4	81.0	-	Yes
39.	Phe266-Phe269	FSVF	-159.5	-73.5	59.8	-79.4	-11.2	-59.6	Yes
40.	Ser270-Trp273	SEQW	-79.7	156.2	-174.9	77.8	5.5	-55.8	No
41.	Glu271-Ile274	EQWI	77.8	5.5	-55.8	-151.5	28.2	81.1	Yes
42.	Trp283-Pro286	WGVP	-113.3	-39.7	-	-36.9	-52.2	-178.6	Yes
43.	Gly284-Leu287	GVPL	-36.9	-52.2	-178.6	-77.7	-21.4	24.7	No
44.	Asp302-Cys305	DEGC	-126.7	-1.8	-135.2	118.0	54.5	-	Yes
45.	Asn311-Tyr314	NMNY	-100.8	-15.7	-169.1	-86.8	-28.8	-76.2	Yes
46.	Met312-Trp315	MNYW	-86.8	-28.8	-76.2	-73.9	-28.9	-68.5	Yes

47.	Leu323-Ile326	LFAI	-137.6	-81.3	74.1	-45.2	-49.3	-	Yes
48.	Val340-Lys343	VVSK	-74.4	-12.9	-81.4	-74.0	-11.1	57.2	No
49.	Val341-Leu344	VSKL	-74.0	-11.1	57.2	-113.3	-36.9	-56.7	Yes
50.	Ser342-Lys345	SKLK	-113.3	-36.9	-56.7	-88.0	29.6	-64.1	Yes
51.	Leu344-Asn347	LKAN	-80.0	-1.9	58.6	-98.9	-0.2	-	No
52.	Lys345-Leu348	KANL	-98.9	-0.2	-	-132.7	-19.7	73.7	Yes
53.	Leu358-Ser361	LAKS	-101.7	137.3	-	-50.9	139.9	56.0	Yes
54.	Lys392-Thr395	KLFT	96.2	7.4	-66.9	-159.1	10.9	64.6	Yes
55.	Phe394-Leu397	FTEL	-105.5	7.6	60.4	-148.1	-36.9	-159.9	Yes
56.	Thr395-Ser398	TELS	-148.1	-36.9	-159.9	-83.4	64.9	-86.2	Yes
57.	Glu421-Lys424	EFRK	-81.6	20.3	-78.4	-112.2	12.5	-50.7	No
58.	Phe422-Ser425	FRKS	-112.2	12.5	-50.7	-115.0	-42.7	-74.0	Yes
59.	Arg430-His433	RLEH	-104.2	-12.3	-54.7	-152.0	140.9	-156.1	Yes
60.	Met442-Leu445	MKPL	-48.6	-38.5	-128.9	-73.7	-33.8	-7.6	No
61.	Lys443-Lys446	KPLK	-73.7	-33.8	-7.6	-77.5	-6.0	-50.3	Yes
62.	Pro444-Cys447	PLKC	-77.5	-6.0	-50.3	-120.3	3.9	54.3	No
63.	Lys446-Thr449	KCPT	-39.9	-60.3	-177.8	-75.6	-40.6	34.6	Yes
64.	Cys447-Ser450	CPTS	-75.6	-40.6	34.6	-70.1	-13.9	60.3	Yes
65.	Pro448-Ser451	PTSS	-70.1	-13.9	60.3	-100.5	-12.2	70.2	No
66.	Thr449-Leu452	TSSL	-100.5	-12.2	70.2	-73.8	-24.0	-39.4	Yes
67.	Gly455-Ala458	GATA	-152.5	-4.7	-	-113.9	12.8	58.3	Yes
68.	Ser461-Thr464	SMYT	-69.3	7.7	-162.7	-82.7	-35.6	-58.4	No
69.	Met462-Ala465	MYTA	-82.7	-35.6	-58.4	-88.3	127.7	51.4	Yes
70.	Thr464-Cys467	TATC	-82.7	-28.5	-	-77.8	37.1	55.9	Yes
71.	Ala465-Gln468	ATCQ	-77.8	37.1	55.9	-126.1	0.8	177.3	No
72.	Cys467-Ser470	CQAS	-65.8	-3.1	74.8	-118.7	23.4	-	No
73.	Gln468-Cys471	QASC	-118.7	23.4	-	-129.2	15.8	-167.3	Yes
74.	Leu479-Gly482	LFQG	-39.7	-30.6	69.1	-77.7	-9.8	80.5	No
75.	Phe483-His486	FHHH	-54.8	30.7	58.6	-155.9	3.9	50.1	No
76.	His484-His487	HHHH	-155.9	3.9	50.1	-151.8	25.3	56.8	Yes
77.	His486-His489	HHHH	-75.2	-32.8	59.5	-62.7	117.6	-161.3	Yes
78.	His488-His491	HHHH	-141.1	-36.6	69.5	-139.6	39.9	-179.6	Yes

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 3 se muestran las distribuciones de los giros beta de la proteína GLP1-R, donde se destaca las secuencias de aminoácidos involucrados, ángulos diédricos Phi y Psi para cada residuo en los giros. El giro Beta 1 Lys2-Ile5 tiene ángulos Phi y Psi de -89.1 y 3.3 respectivamente para el residuo $i+1$, y -88.6 y 250.8 para el residuo $i+2$. Se observa que muchos giros tienen enlaces de hidrogeno que contribuyen a la estabilidad de la proteína. La comparación de los ángulos Phi y Psi entre los giros y hélices beta puede sugerir información sobre la flexibilidad y rigidez de la proteína, siendo estas regiones las que podrían influir en su interacción con otras moléculas.

Tabla 4:
Resumen de las hojas Beta presentes en la proteína GPL1-R

Hoja B		
Hoja B	N.º de hebras	Tipo
A	2	Antiparalelas

Fuente: Elaboración propia

Tabla 5:
Descripción de las hojas Beta presentes en la proteína GPL1-R

Hojas Beta					
N.º	Inicio	Final	Hoja B	N.º de residuo	Secuencia
1.	Ser88	Val92	A	5	SFVNV
2.	Val109	Cys113	A	5	VYRFC

Fuente: Elaboración propia

La tabla 5 muestra información sobre el inicio y final de cada hoja beta en la proteína, número de residuos involucrados y la secuencia de aminoácidos correspondiente. Las hojas beta son estructuras secundarias que contribuyen a la rigidez y estabilidad de una proteína. Se identificaron dos segmentos de hojas beta, donde la primera abarca desde Ser88 hasta Val92 y contiene la secuencia SFVNV, mientras que la segunda hoja va desde Val109 hasta Cys113 con la secuencia VYRFC. Cada hoja consta de cinco residuos indicando una estructura repetitiva y posiblemente

3.1.4. Giros Gamma

Tabla 6:
Giros Gamma presentes en la proteína GPL1-R

No.	Inicio	Final	Secuencia	Residuo i+1		
				Phi	Psi	Chi1
1.	Cys94	Trp96	C P W	-61.7	66.6	27.3
2.	Leu181	Cys183	L H C	-92.7	53.5	-168.5
3.	Gly225	Leu227	G L L	-86.5	93.7	-179.5
4.	Glu396	Ser398	E L S	-83.4	64.9	-86.2
5.	Thr457	Gly459	T A G	-92.5	70.2	-
6.	Ala465	Cys467	A T C	-77.8	37.1	55.9
7.	Phe483	His485	F H H	-54.8	30.7	58.6

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 6 se presentan los giros gamma identificados en la proteína GLP1R que se caracterizan por la secuencia de tres residuos con un enlace de hidrogeno entre el primer y tercer residuo. Se detalla sobre las posiciones de inicio y final de cada giro gamma, la secuencia de aminoácidos involucrados y los valores de ángulos Phi, Psi y Chi1 para el residuo i+1. En el primer giro gamma Cys94 hasta Trp96 presenta Phi, Psi y Chi1 de -61.7, 66.6 y 27.3 respectivamente. El segundo giro gamma Leu181 hasta Cys183, tiene ángulos diédricos diferentes con valores de -92.7, 53.5 y -168.5, lo que podría sugerir que los giros gamma adoptarían conformaciones diversas con posibles implicaciones funcionales.

Tabla 7:

Puentes disulfuro presentes en la proteína GPL1-R

1st cysteine	2nd cysteine	Type	Chi1	Chi2	Chi3	Chi2p	Chi1p
A 55	A 80	LHS	-158.0	-173.3	-91.3	-105.4	-159.8
A 71	A 113	RHS	-39.2	175.2	94.5	60.9	-177.1
A 94	A 135	RHS	-173.2	62.3	79.2	70.3	-178.4
A 235	A 305	LHS	-175.7	-91.0	-88.7	-173.7	-171.2

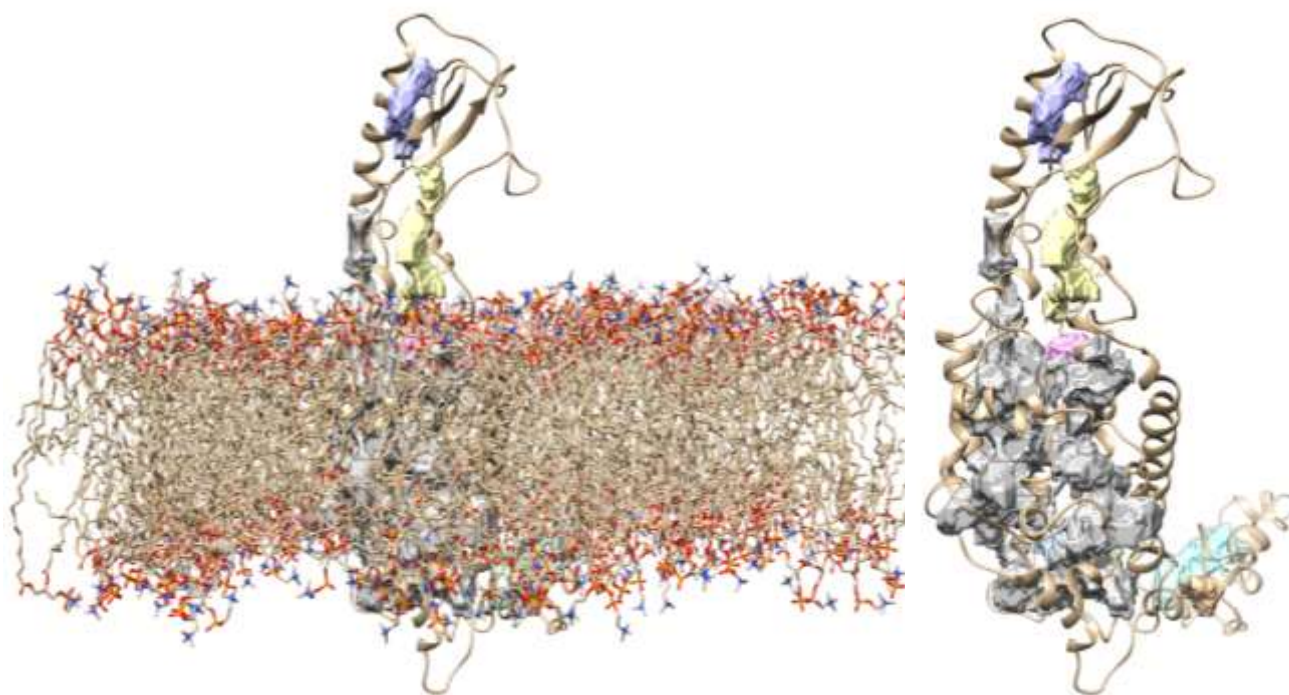
Fuente: Elaboración propia

3.1.5. Sitios de interacción de la gpl1r

Para la búsqueda de los sitios de interacción o bolsillos de unión en el receptor de GLP1, se utilizó el servidor de protein plus con la herramienta DOGSiteScorer, el cual nos permitió descubrir los sitios de interacción al puntuar las interacciones con diferentes ligandos inscritos en la base de datos del propio servidor. Se obtuvo una lista de 9 sitios de interacción en el receptor completo, diferenciando su ubicación en tres zonas diferentes: la zona extra membranar, intermembrana e intramembranal. El portal web de ProteinPlus también caracterizó cada sitio de interacción con un color diferente y brindó información como la codificación del bolsillo, la superficie de interacción, el volumen del bolsillo, puntuaciones de acople y un cuadro de descripciones de tamaño y forma, composición por elementos, grupos funcionales y composición de aminoácidos.

Figura 9:

Estructura del receptor de GLP1 con los sitios de interacción. Se muestran los 9 sitios de interacción del receptor en dos vistas, una con el receptor en membrana y una sin membrana usando el visualizador UCSF Chimera.

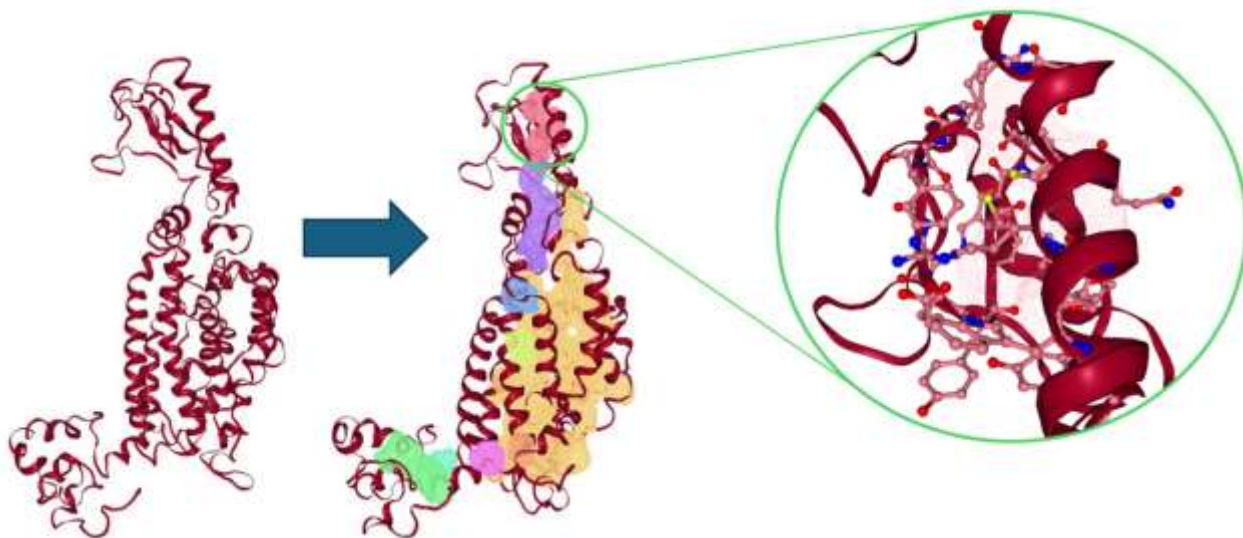


Fuente: Elaboración propia

Para la búsqueda de posibles agonistas de GLP1, se tomó como principales sitios de interacción a los 2 bolsillos situados en la zona extra-membranal, puesto estos serían los interactuantes con los posibles ligandos. Teniendo el bolsillo de la parte superior un volumen de 296.84 \AA^3 y el bolsillo de la parte inferior un volumen superior de 562.57 \AA^3 y características que se detallan en la tabla 8 y 9

Figura 10:

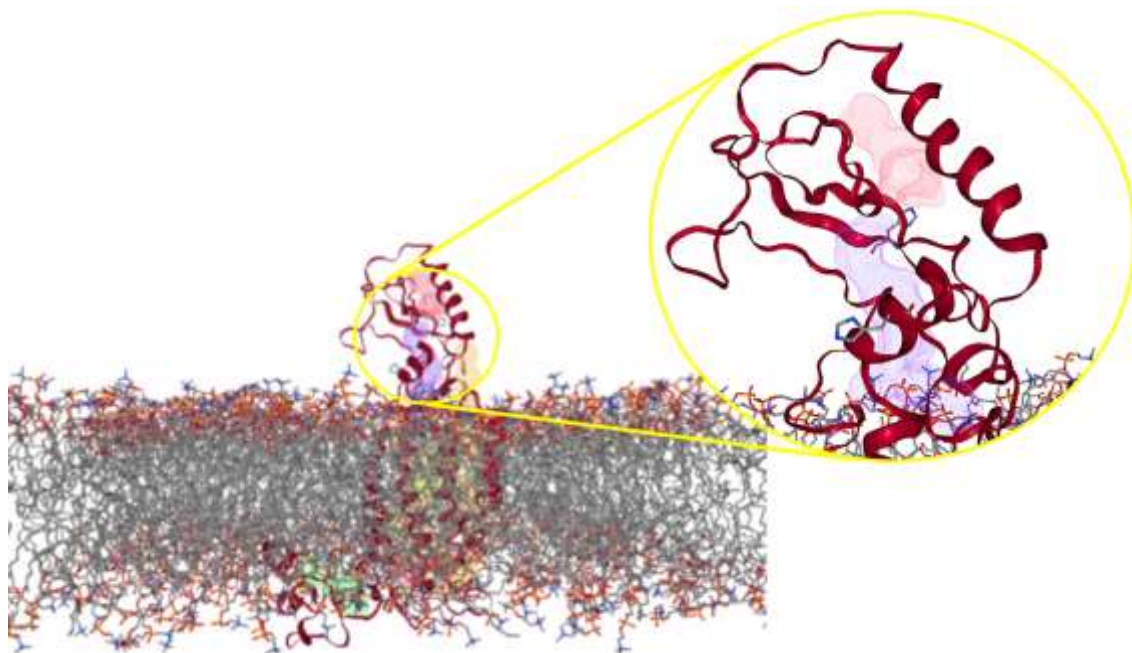
Comparación y vista del receptor de GLP1 con los sitios de interacción. Se muestra la estructura terciaria del receptor de GLP1 sin membrana al lado izquierdo, seguido de la diferenciación de los 9 pockets del receptor GLP1 por colores en la zona central de la imagen, y en el lado derecho la ejemplificación de la composición de un sitio de interacción.



Fuente: Elaboración propia

Figura 11:

Selección de los sitios de interacción de la zona extra membranal. Se muestra al Pocket_1 de menor volumen y color rosa, y el Pocket_2 de mayor volumen y color morado.



Fuente: Elaboración propia

Tabla 8:

Descripción del sitio de interacción o bolsillo de unión denominado Pocket_1. Se muestran las características que revela el servidor de ProteinPlus, siendo su volumen el más reducido de todos.

Descripción de Pocket_1							
Tamaño y forma		Elementos		Grupo funcional		Aminoácidos	
Volumen	296.84 A3	Carbonos	72	Donantes de hidrogeno	8	Apolares	32%
Superficie	456.44 A2	Nitrógenos	11	Aceptadores de hidrogeno	40	Polares	47%
Profundidad	14.53 A	oxígenos	17	Interacciones hidrofóbicas	16	Aminoácidos positivos	11%
		Azufres	2	Relación hidrofobicidad	0.25	Aminoácidos negativos	
		Átomos totales del bolsillo	102	Metales	0		

Fuente: Elaboración propia

Tabla 9:

descripción del sitio de interacción o bolsillo de unión denominado Pocket_2. Se muestran las características que revela el servidor de ProteinPlus, siendo su volumen el más grande entre los seleccionados.

Descripción de Pocket_2							
Tamaño y forma		Elementos		Grupo funcional		Aminoácidos	
Volumen	562.57 A3	Carbonos	84	Donantes de hidrogeno	16	Apolares	41%
Superficie	705.28 A2	Nitrógenos	18	Aceptadores de hidrogeno	46	Polares	50%
Profundidad	26.66 A	oxígenos	22	Interacciones hidrofóbicas	34	Aminoácidos positivos	3%
		Azufres	2	Relación hidrofobicidad	0.35	Aminoácidos negativos	6%
		Átomos totales del bolsillo	126	Metales	0		

Fuente: Elaboración propia

3.2. Virtual screening de los potenciales agonistas y ortogonistas de la glp1 r de origen natural y sintético.

Para el análisis de los candidatos a agonistas con acoplamiento en el receptor de GLP1 al importar la estructura en formato .pdb en el servidor de RPBS, trabajando con la herramienta MtiOpenScreen Virtual screening, se obtuvo un total de 2728 componentes, siendo 1500 compuestos originarios de la librería de naturaleza química-sintética y un total de 1228 de compuestos originarios de la librería de naturaleza química-natural. Estos candidatos a ligando resultaron del acoplamiento por parte del servidor al interactuar los compuestos de la base de datos del RPBS con el receptor de GLP1 en parámetros preestablecidos. Se delimito la búsqueda de ligandos en ambas librerías tomando en cuenta propiedades de la regla de Lipincki, el cual determina las propiedades más básicas e importantes para la farmacocinética en el cuerpo humano, y fijando un límite de trabajo para el servidor.

Tabla 10:

Resumen del listado de los componentes de origen natural del servidor RPBS con acoplamiento al receptor de GLP-1. Se muestra el valor de acoplamiento de cada compuesto de mayor a menor, ordenando a un inicio a posibles mejores candidatos.

	Componentes de origen natural	energía	nRot
1	MolPort-039-338-463_ZINC000238774071	-10.2	2
2	MolPort-020-005-756_ZINC000031459237	-9.7	1
3	MolPort-028-754-125_ZINC000008829452	-9.6	1
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
1226	MolPort-000-872-086_ZINC000001648294	-4.2	7
1227	MolPort-003-844-548_ZINC000001655433	-4.2	4
1228	MolPort-001-783-101_ZINC000001529820	-4.1	5

Fuente: Elaboración propia

Tabla 11:

Resumen del listado de los componentes de origen químico del servidor RPBS con acoplamiento al receptor de GLP-1. Se muestran el valor de acoplamiento de cada compuesto de mayor y menor, el coeficiente de partición y el peso molecular, ordenando a un inicio a posibles mejores candidatos.

N°	Componentes de origen químico sintético	energía	LogP	Peso molecular	TPSA
1	125305589_Intermediate	-10.3	5.77	498.62	83.67
2	17386798_Intermediate	-9.7	4.73	408.45	60.45
3	24301518_Intermediate	-9.5	4.86	395.41	76.61
.
.
.
1498	26669932_Accepted	-7.7	5.72	421.42	40.86
1499	24384377_Intermediate	-7.7	4.21	370.44	49.41
1500	24837318_Intermediate	-7.7	3.94	490.45	130.62

Fuente: Elaboración propia

3.2.1. Reducción del listado en base al score de afinidad.

Luego de la obtención de proteínas o compuestos con potencial de ligando, se redujo el listado de los componentes de ambas librerías a un mínimo definido por su score de acoplamiento o afinidad al receptor de GLP1. La cantidad fue diferente en cada librería debido al puntaje de afinidad, muchos de los

compuestos compartieron el mismo valor lo que los agrupaba haciendo más extensa la lista de candidatos. Cada lista consta de diversos compuestos que el servidor proporcionó, del cual se observó diferían de los parámetros seleccionados, dado que el servidor proponía a compuestos priorizando su afinidad al receptor, proponiendo otra cantidad de compuestos.

Tabla 12:

Selección de los posibles mejores candidatos a ligando de origen natural con un puntaje de acoplamiento significativo. Se muestra que se escogieron los 121 compuestos con mejores puntuaciones de acoplamiento de -10.2 a -8.

N.º	Componentes de origen natural	Energía	nRot
1	MolPort-039-338-463_ZINC000238774071	-10.2	2
2	MolPort-020-005-756_ZINC000031459237	-9.7	1
3	MolPort-028-754-125_ZINC000008829452	-9.6	1
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
120	MolPort-020-005-773_ZINC000238809538	-8	16
121	MolPort-000-704-745_ZINC000005512980	-8	2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 13:

Selección de los posibles mejores candidatos a ligando de origen químico sintético con un puntaje de acoplamiento significativo. Se muestra que se escogieron los 115 compuestos con mejores puntuaciones de acoplamiento desde -10.3 a -8.6, además de los valores de coeficiente de partición, TPSA y peso molecular.

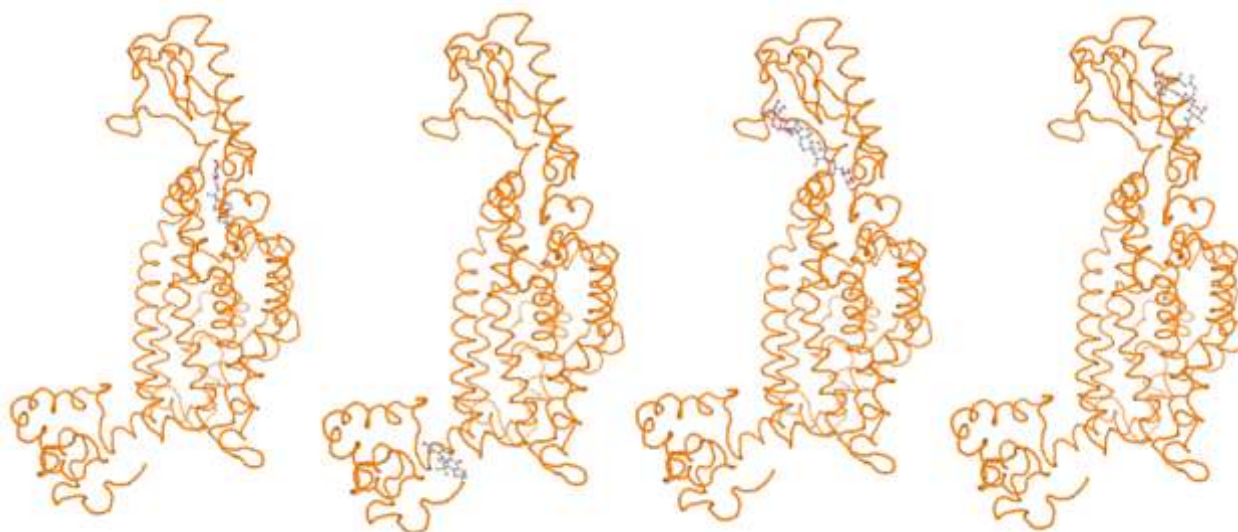
N.º	Componentes de origen químico sintético	Energía	LogP	Peso Molecular	TPSA
1	125305589_Intermediate	-10.3	5.77	498.62	83.67
2	17386798_Intermediate	-9.7	4.73	408.45	60.45
3	24301518_Intermediate	-9.5	4.86	395.41	76.61
.
.
.
114	24386580_Intermediate	-8.6	4.98	386.83	52.19
115	57265112_Intermediate	-8.6	1.14	475.56	121.47

Fuente: Elaboración propia

La elección de los compuestos para el inicio del trabajo se obtuvo al seleccionar un rango óptimo de afinidad dependiendo de la puntuación de afinidad. Se observaron compuestos que excedían los parámetros establecidos o que su acoplamiento no era el indicado, lo que los sugería como incompetentes al estudio, es por ello por lo que se optó por una evaluación para continuar la evaluación.

Figura 12:

Visualización del acoplamiento de compuestos de origen natural extraído del servidor RPBS. Se muestra la interacción de algunos compuestos de afinidad tipo ligando con posibles sitios de interacción del receptor de GLP-1 según evalúa el servidor



Fuente: Elaboración propia

Figura 13:

Visualización del acoplamiento de compuestos de origen químico sintético extraído del servidor RPBS. Se muestra la interacción de algunos compuestos de afinidad tipo ligando con posibles sitios de interacción del receptor de GLP-1 según evalúa el servidor



Fuente: Elaboración propia

En las figuras 12 y 13 podemos observar el acoplamiento de compuestos con posibles sitios de interacción del receptor de GLP-1 evaluados en el servidor RPBS. Exactamente, la figura 12 muestra el acoplamiento de compuestos de origen natural en el receptor y se revela la diversidad en el acople, es decir, que se indica una posible variedad en las formas de interacción y afinidad de los ligandos naturales hacia el receptor. Por otro lado, la figura 13 muestra un acoplamiento menos variado a diferencia de los ligandos de origen natural, lo cual puede deberse a la naturaleza diseñada sintéticamente y suelen ser modificados u optimizados para interacciones específicas con algún objetivo molecular.

3.3. Selección en base a criterios estocásticos de los mejores agentes agonistas y ortogonistas de la GIP1-R.

Basándose en la parametrización empleada en el trabajo del servidor RPBS se evaluó la interacción de cada candidato a ligando en las diferentes librerías con la proteína. Se interacciono y corroboró que existiera algún contacto directo o cercano con los dos bolsillos de unión previamente definidos. Se observó que los compuestos interactuaban con el bolsillo de unión Pocket_2 y en su minoría con Pocket_1, pocos atravesaban el bolsillo dado su tamaño y peso molecular, y/o se alejaban del mismo. En ambas figuras (- --) se puede visualizar la posición predominante de los compuestos con el sitio de interacción definido como Pocket_2, tanto los de origen natural como los químicos se acomodaron en dicho bolsillo.

Tabla 14:

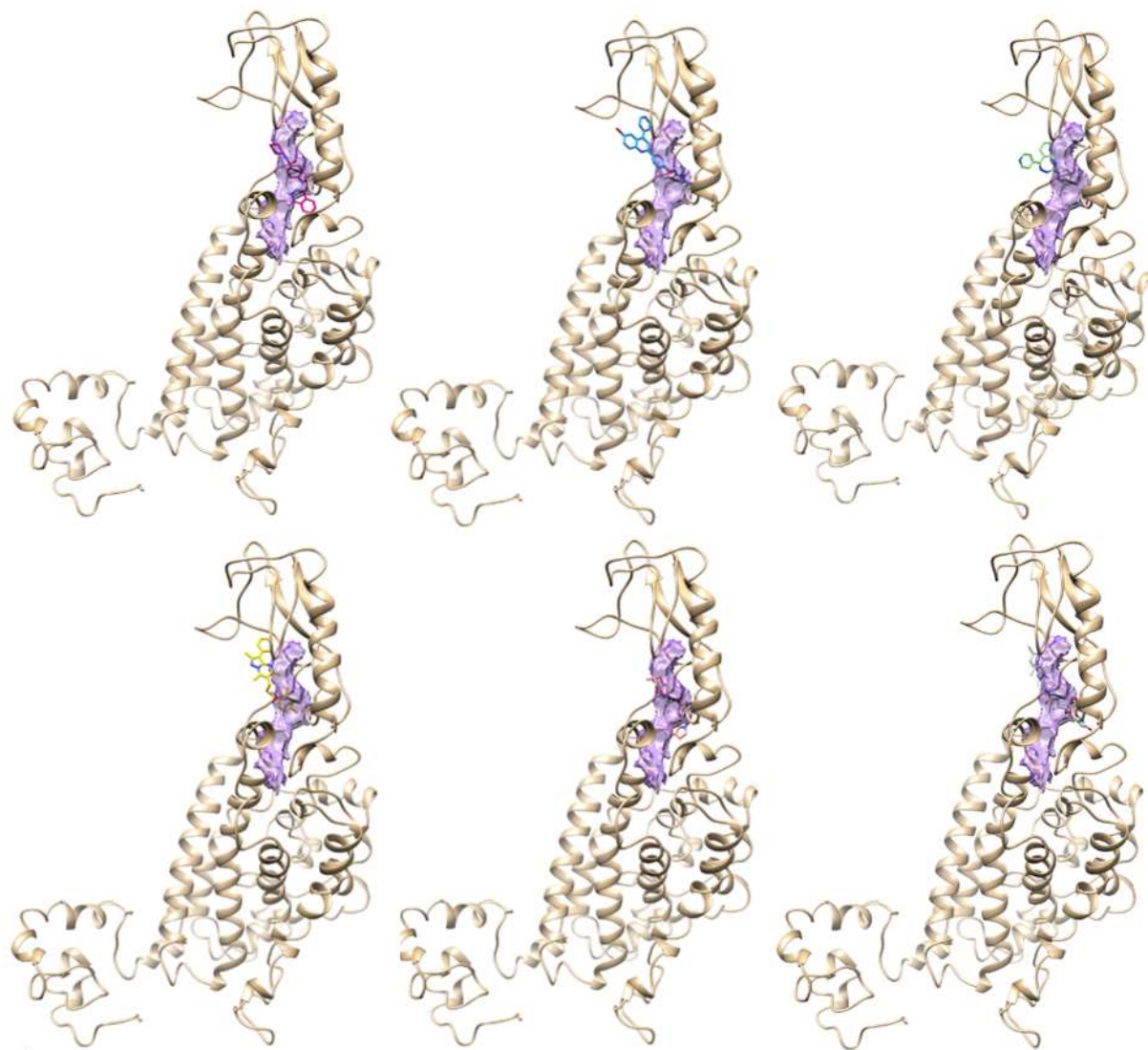
Corroboración de las propiedades correctas de los compuestos candidatos a ligando del receptor de GLP1

CRITERIO DE SELECCION		
Interacción con bolsillos de unión	Coefficiente de partición	Score de interacción
Pocket_1 o Pocket_2	< a 5	Mejor puntuación

Fuente: Elaboración propia

Figura 14:

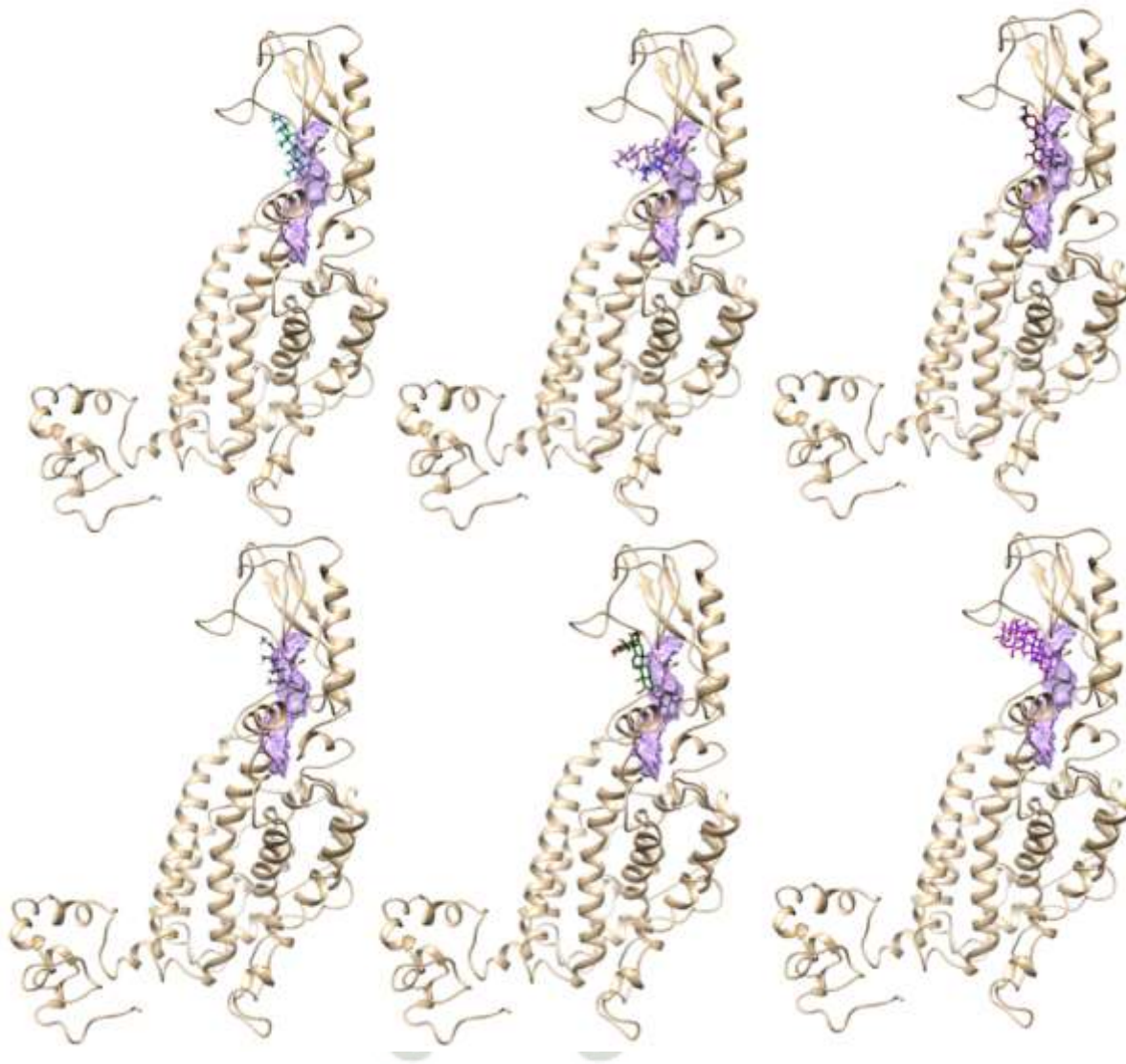
Visualización de los compuestos de origen sintético interactuando con el bolsillo de unión (Pocket_2). Se muestra la selección en base a verificación de la interacción del posible ligando a uno de los sitios de interacción del receptor de GLP-1



Fuente: Elaboración propia

Figura 15:

Visualización de los compuestos de origen n interactuando con el bolsillo de unión (Pocket_2). Se muestra la selección en base a verificación de la interacción del posible ligando a uno de los sitios de interacción del receptor de GLP-1



Fuente: Elaboración propia

Basándose en los dos últimos criterios, se seleccionaron únicamente aquellos que cumplieran con una puntuación de afinidad o acoplamiento significativo en el Docking del Servidor. Se corroboró que cada modelo presentado por el servidor RPBS tuviera, además de una afinidad con el receptor de GLP1, tuviera un valor de coeficiente de partición adecuado para condiciones normales o biológicas. Del grupo de los compuestos de origen Natural conformado por 121 unidades se redujo

considerablemente a 49 unidades, y del grupo de compuestos de origen químico que conformaba 115 unidades se redujo considerablemente a 96 unidades, como se detalla en la Tabla 15 y Tabla 16 respectivamente.

Tabla 15:

Lista de los compuestos de origen natural evaluados para el ensamblaje con el receptor de GLP1.

N.º	Componentes de origen natural	Energía	LogP
1	MolPort-000-741-311_ZINC000253502229	-9.7	0.398
2	MolPort-002-508-597_ZINC000004023302	-9.1	4.669
3	MolPort-001-740-100_ZINC000037538575	-9.0	3.681
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
48	MolPort-020-005-773_ZINC000238809538	-8.0	2.373
49	MolPort-000-704-745_ZINC000005512980	-8.0	2.110

Fuente: Elaboración propia

Tabla 16:

Lista de los compuestos de origen químico sintético evaluados para el ensamblaje con el receptor de GLP1.

N.º	Componentes de origen químico	Energía	LogP
1	24805332_Intermediate	-9.1	4.54
2	17386798_Intermediate	-9.7	4.73
3	124349856_Intermediate	-9.6	4.36
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
95	26663758_Intermediate	-8.7	4.49
96	24384732_Intermediate	-8.7	4.95

Fuente: Elaboración propia

Tabla 17:

Resumen de la evaluación final de los compuestos de diferente origen en la selección estocástica realizada.

	Cantidad inicial	Cantidad final	Energía
Origen Natural	121 compuestos	49 compuestos	-9.8 a -8.7
Origen Sintético	115 compuestos	96 compuestos	-10.3 a -8.6

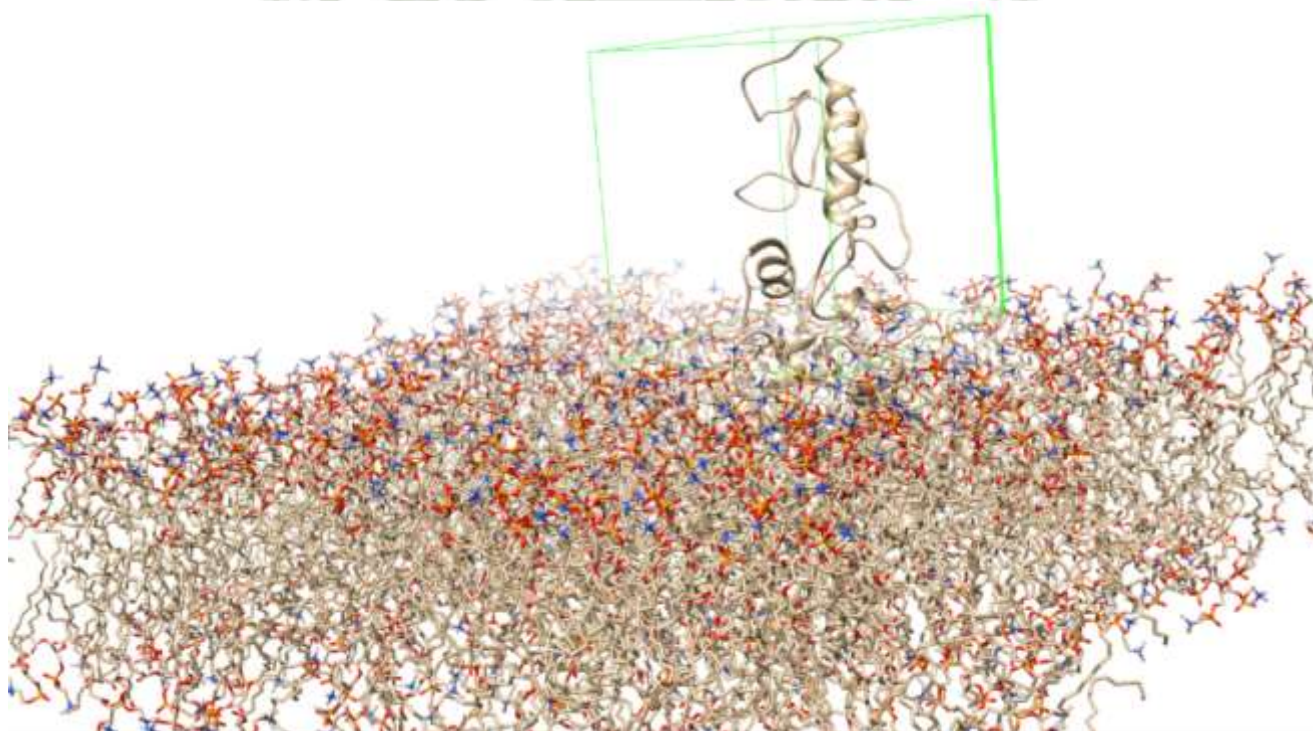
Fuente: Elaboración propia

3.4. Ensamblaje de los agentes interactuantes en las zonas drogables.

Para el ensamblaje de los últimos posibles candidatos de ambas librerías, se limitó el trabajo de interacción de los compuestos en una zona de coordenadas definidas que permitió el contacto único con la zona extracelular del receptor de GLP1. Se centro la caja para acoplar los compuestos con el Pocket_2 y determinar si existía interacción con alguna otra zona del receptor y calcular el score de afinidad correcto.

Figura 16:

Visualización de los compuestos de origen n interactuando con el bolsillo de unión (Pocket_2). Se muestra la selección en base a verificación de la interacción del posible ligando a uno de los sitios de interacción del receptor de GLP-1.



Fuente: Elaboración propia

Tabla 18:

Lista de los mejores compuestos de origen químico sintético que cumplen con las propiedades tipo ligando.

N.º	Componentes de origen químico sintético	Energía	LogP	Peso Molecular	Ubicación
1	22404666_Intermediate	-11.656	0.81	429.50	Pocket_2
2	14733302_Accepted	-10.505	2.32	443.00	Pocket_2
3	24372710_Intermediate	-10.410	4.66	465.51	Pocket_2
.
.
95	17506263_Intermediate	-8.303	4.90	381.47	Pocket_2
96	17512454_Intermediate	-7.843	2.27	408.41	Pocket_2

Fuente: Elaboración propia

Tabla 19:

Lista de los compuestos de origen natural evaluados para el ensamblaje con el receptor de GLP1.

N.º	Componentes de origen Natural	Energía	LogP	Peso Molecular	Ubicación
1	MolPort-002-508-597_ZINC000004023302	-9.779	4.669	386.53	Pocket_2
2	MolPort-003-983-881_ZINC000058576036	-9.596	1.334	696.858	Pocket_2
3	MolPort-002-508-597_ZINC000004023303	-9.445	4.669	386.53	Pocket_2
.
.
48	MolPort-001-740-357_ZINC000013374323	-7.740	3.318	444.53	Pocket_2
49	MolPort-001-740-396_ZINC000031155594	-7.358	0.235	378.377	Pocket_2

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 18 y 19 tenemos un listado resumido de los compuestos de origen químicos-sintético y de origen natural respectivamente, que se evaluaron en el ensamblaje usando Autodock Vina de GROMACS. En la tabla 18 se muestran los resultados de los mejores compuestos de origen químico sintético, siendo el compuesto 22404666 el que presente un menor valor en el acoplamiento lo que sugiere una alta afinidad con el receptor, además de resaltar valores de LogP que varían desde un valor cercano a cero y cercano a 5, siendo los más altos los que

indican una mayor lipofilia pudiendo afectar la biodisponibilidad del compuesto. De igual manera, los bajos pesos moleculares en el listado demuestran un rango adecuado para la buena permeabilidad y absorción celular. En la Tabla 19 se muestran los mejores compuestos de origen natural, siendo el compuesto ZINC-4023302 el que presenta un menor valor en el acoplamiento lo que sugiere una buena afinidad con el receptor de GLP-1. Las propiedades fisicoquímicas como el LogP y peso molecular son consistentes, pero al existir valores elevados podría afectar la biodisponibilidad y la permeabilidad a la membrana. En ambos casos la interacción en cuestión al acoplamiento con el receptor se dio en el sitio de unión denominado Pocket_2 lo que indica una preferencia por el bolsillo definido.

Tabla 20:
Mejores compuestos seleccionados de cada librería.

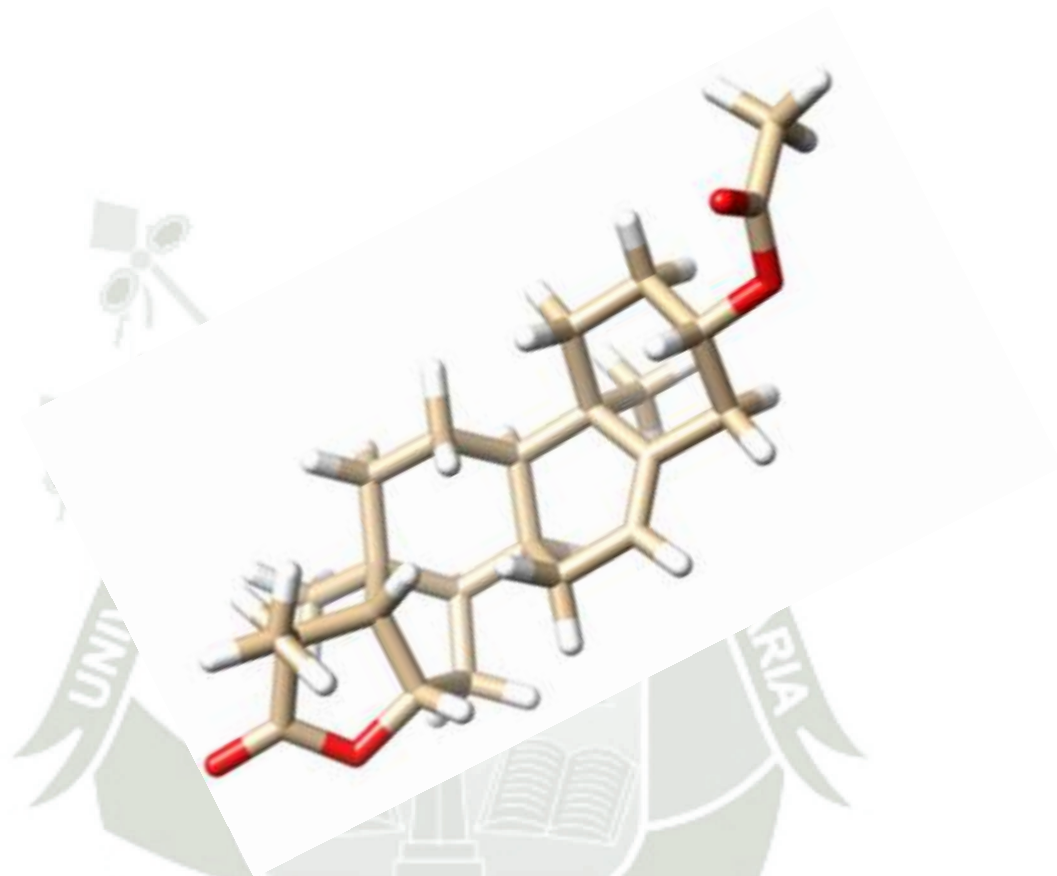
	ID de corrida	Energía RPBS	Energía Auto dock Vina
Origen Natural	4023302	-8.7	-11.656
Origen Sintético	22404666	-9.1	-9.779

Fuente: Elaboración propia

3.4.1. Análisis de los mejores candidatos a ligando del Receptor de GLP-1R

Figura 17:

Compuesto de origen Natural con propiedades de ligando del receptor de GLP-1.

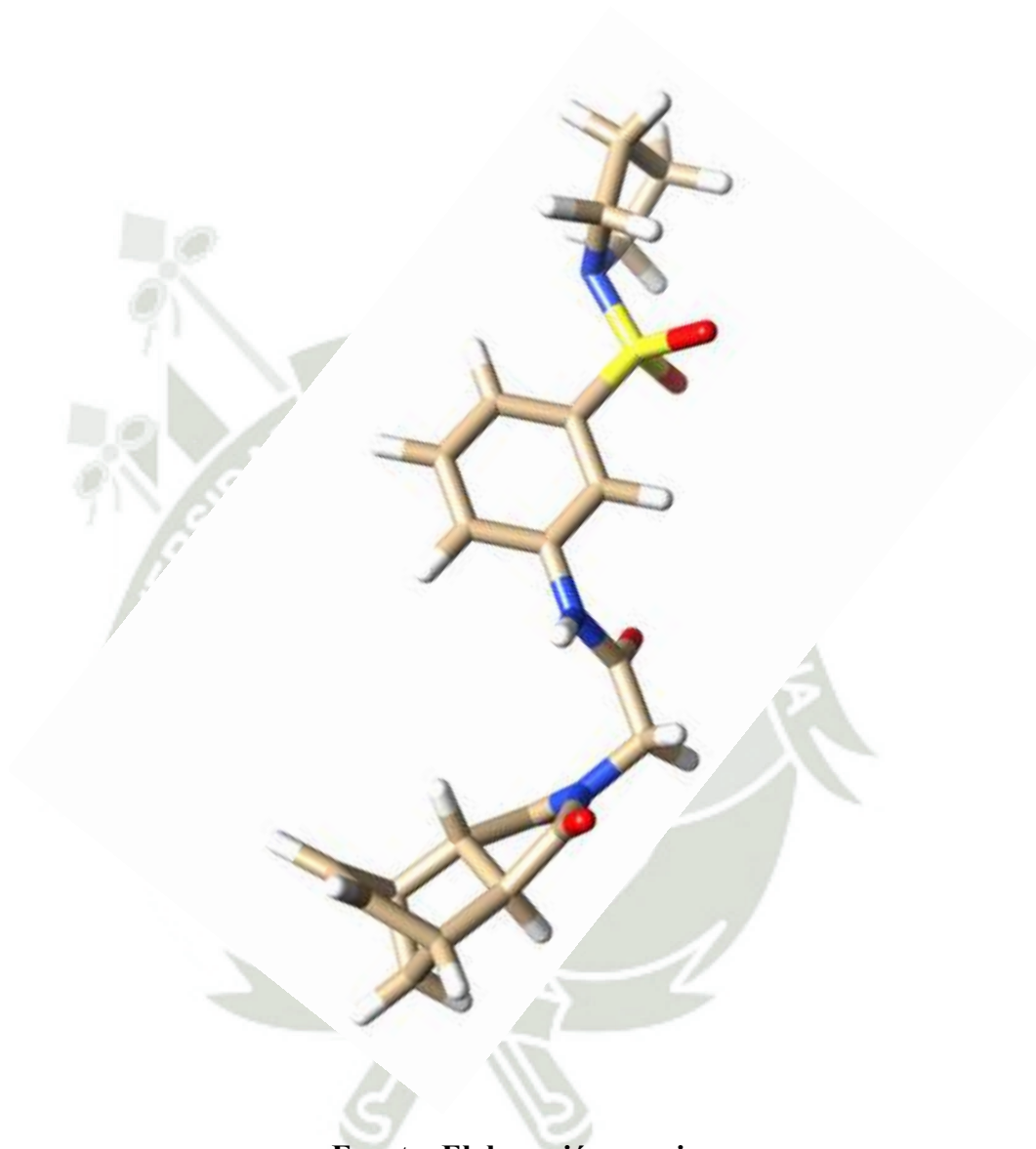


Fuente: Elaboración propia

En la figura 17 se muestra el compuesto Zinc-4023302 el cual posee un peso molecular de 386.532 Da y un coeficiente de partición de 4.669, además, posee en su estructura 5 anillos, 28 átomos pesados y 4 hetero átomos. Posee tres anillos de ciclohexano y un anillo de ciclopentano fusionados en un sistema trans decalina, el cual es característico y típico de los esteroides. Se observan tres grupos funcionales como el grupo acetato en la posición 3 del primer anillo el cual puede conferir propiedades lipofílicas, un grupo hidroxilo en la posición 11 y 17 del anillo C y D respectivamente, finalmente un grupo cetona en la posición 20 del anillo D, el cual es crítico para la actividad biológica en las moléculas tipo esteroides.

Figura 18:

Compuesto de origen Químico-Sintético con propiedades de ligando del receptor de GLP-1.



Fuente: Elaboración propia

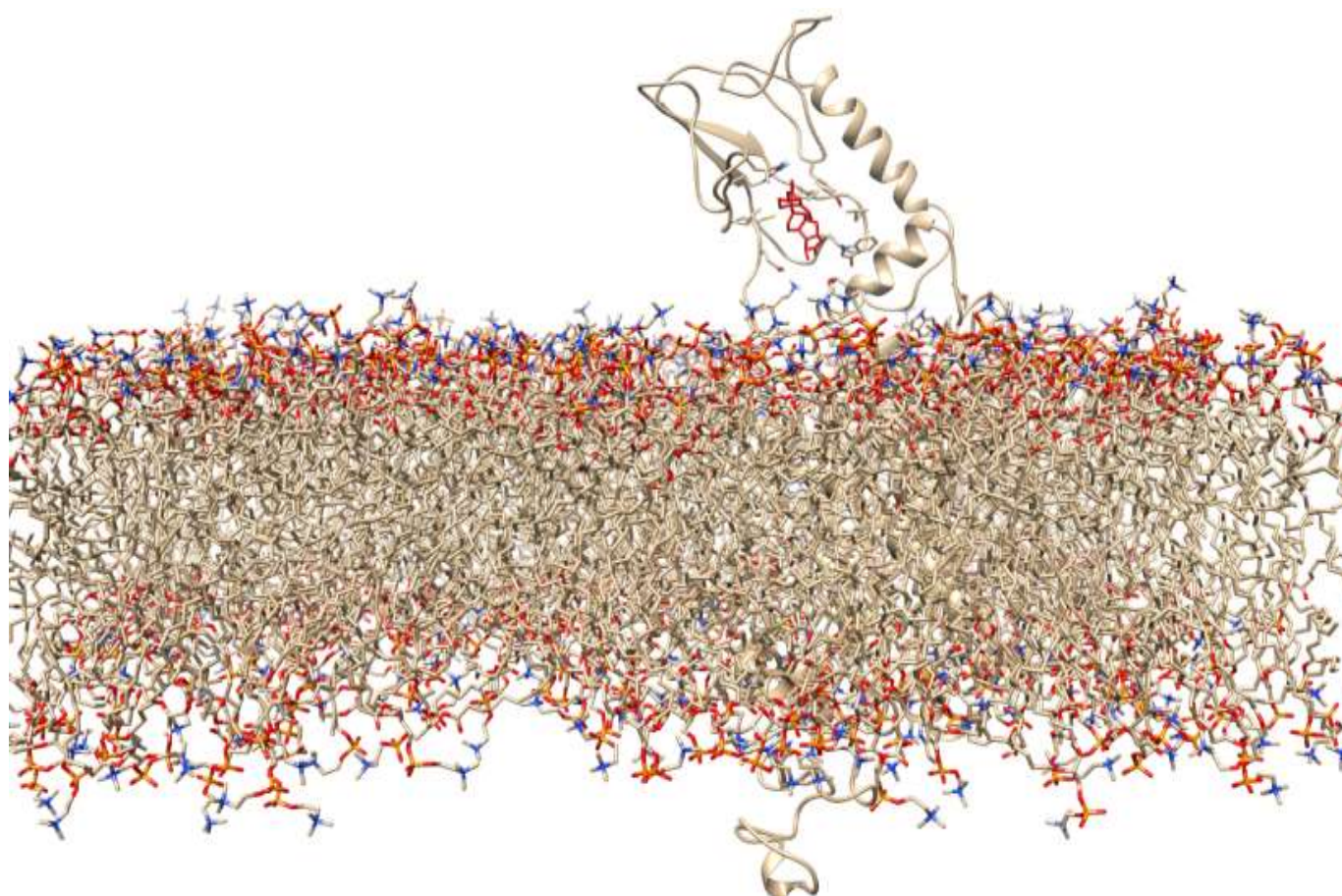
En la Figura 18 se muestra al compuesto de origen químico sintético identificado como SID-2240466, el cual posee un peso molecular de 429.489 Da y un coeficiente de partición de 0.81. Además, posee en su estructura un anillo de benceno que sugiere un cierto grado de estabilidad cuando se habla de diseño de farmacos. Igualmente, tiene integrado grupos funcionales como la sulfonamida que unido al anillo benceno puede conferir solubilidad e interacción de enlace de hidrogeno, un grupo urea unido al anillo benceno que estabiliza la estructura

del fármaco, finalmente, un grupo imida unido a un sistema bicíclico que brinda rigidez a la estructura y podría promover una mejor afinidad de unión.

3.4.2. Análisis del acoplamiento en el complejo GLP-1R y ligando natural

Figura 19:

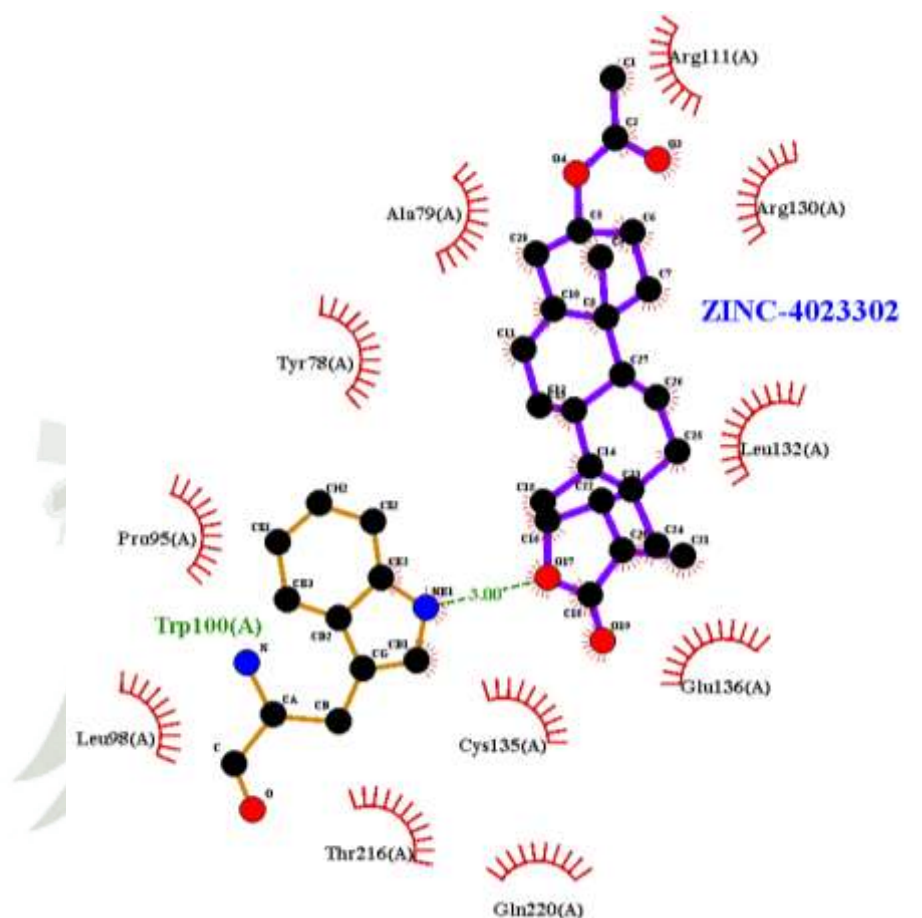
Visualización del mejor candidato de origen natural acoplado al receptor de GLP-1.



Fuente: Elaboración propia

Figura 20:

Estructura bidimensional de la molécula de origen natural acoplada al sitio de interacción del receptor de GLP-1.



Fuente: Elaboración propia

En la Figura 19 se muestra el complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el compuesto de origen natural insertado en una membrana plasmática. Este complejo se obtuvo posterior a la evaluación del Docking molecular por Autodock Vina en GROMACS. En la Figura 20 se observa la estructura bidimensional de la ZINC-4023302 acoplado al sitio de unión, revelando las interacciones entre la molécula y los residuos del receptor, siendo el residuo TRP100 el que presenta una interacción de enlace de hidrógeno con el ligando a una distancia de 3.00 Å. el enlace de hidrógeno presente en el átomo NE1 del TRP100 de la cadena A y el átomo O17 del ligando sugiere una estabilidad y especificidad de la unión proteína ligando postulando un posible papel significativo en la unión.

Tabla 21:

Interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen natural.

Ligando	Contacto entre GLP-1R y RES	
	Interacciones Hidrofóbicas	Puentes de Hidrogeno
RES	49	1

Fuente: Elaboración propia

Tabla 22:

Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto RES de origen natural.

Interacciones hidrofóbicas GPL-1R y ZINC-4023302		Distancia (Å)
TYR 78 A	C9	3.88
TYR 78 A	C9	3.49
TYR 78 A	C9	3.54
TYR 78 A	C8	3.88
TYR 78 A	C9	3.09
TYR 78 A	C10	3.52
TYR 78 A	C11	3.8
TYR 78 A	C28	3.75
TYR 78 A	C11	3.8
TYR 78 A	C11	3.71
ALA 79 A	C9	3.74
ALA 79 A	C6	3.89
ALA 79 A	C9	3.87
PRO 95 A	C13	3.65
PRO 95 A	C14	3.45
LEU 98 A	C15	3.44
TRP 100 A	O17	3.69
TRP 100 A	C18	3.83
TRP 100 A	O19	3.57
TRP 100 A	C15	3.61
TRP 100 A	C16	3.9
TRP 100 A	O17	3
TRP 100 A	C18	3.6
TRP 100 A	O19	3.69
TRP 100 A	C24	3.88
TRP 100 A	O17	3.74
ARG 111 A	C1	3.36
ARG 130 A	C1	3.71
ARG 130 A	O3	3.6

ARG 130 A	C2	3.62
ARG 130 A	C1	3.89
ARG 130 A	O3	3.05
ARG 130 A	O3	3.71
ARG 130 A	O3	3.75
LEU 132 A	C6	3.41
LEU 132 A	C7	2.84
LEU 132 A	C26	3.75
CYS 135 A	C25	3.75
GLU 136 A	C20	3.87
GLU 136 A	C21	3.85
GLU 136 A	O19	3.65
GLU 136 A	C20	3.72
GLU 136 A	C21	3.63
THR 216 A	O19	3.9
THR 216 A	C18	3.75
THR 216 A	O19	3.11
THR 216 A	C21	3.75
GLN 220 A	C15	3.81
GLN 220 A	C16	3.89

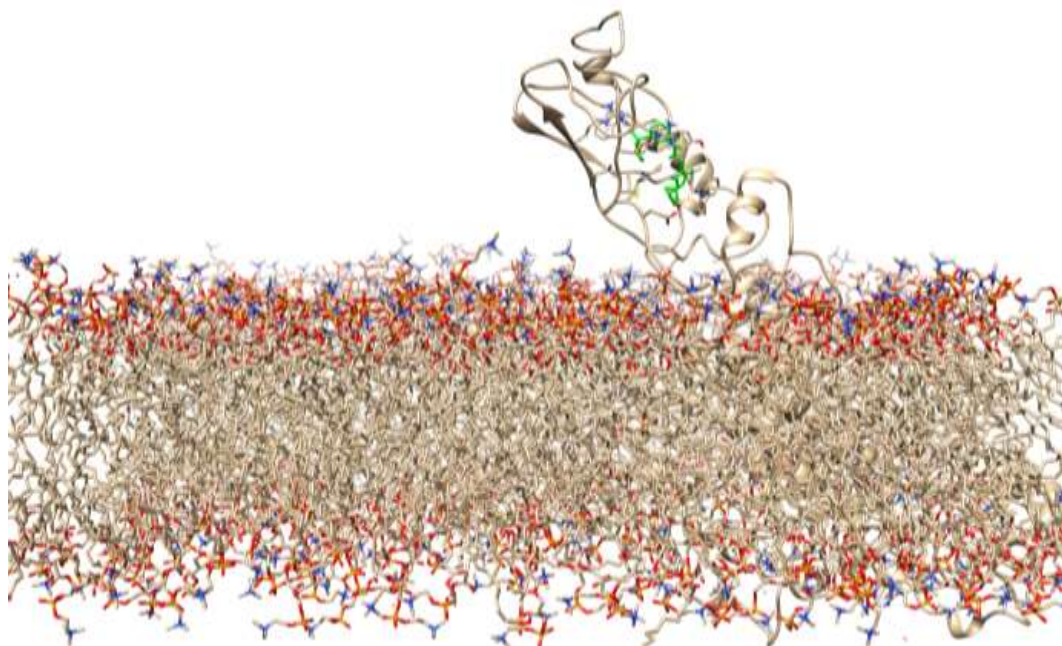
Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 21 se detalla el número total de contactos hidrofóbicos (49) al igual que el número de enlaces por puente de hidrogeno (1) entre la proteína y el ligando. En la Tabla 22 se detallan los 49 contactos hidrofóbicos en el complejo donde se destaca el contacto múltiple de los átomos del residuo TYR78 con varios átomos del ligando a distancias que varían de 2.84 y 3.88 Å, lo que lo define como una posible región clave en la interacción. El residuo TRP100 genera contactos hidrofóbicos con 3 átomos del ligando a distancias de 3.00 y 3.90 Å, además del puente de hidrogeno. El residuo ARG130 posee múltiples contactos con 3 átomos del ligando a distancias de 3.05 y 3.89 Å que podrían indicar una buena interacción electrostática entre el grupo guanidino de la arginina y el ligando. De la misma forma residuos como PRO95, LEU98, LEU132, CYS136 y THR216 contribuyen en las interacciones estabilizadoras del complejo.

3.4.3. Análisis del acoplamiento del complejo GLP-1R y compuesto químico sintético

Figura 21:

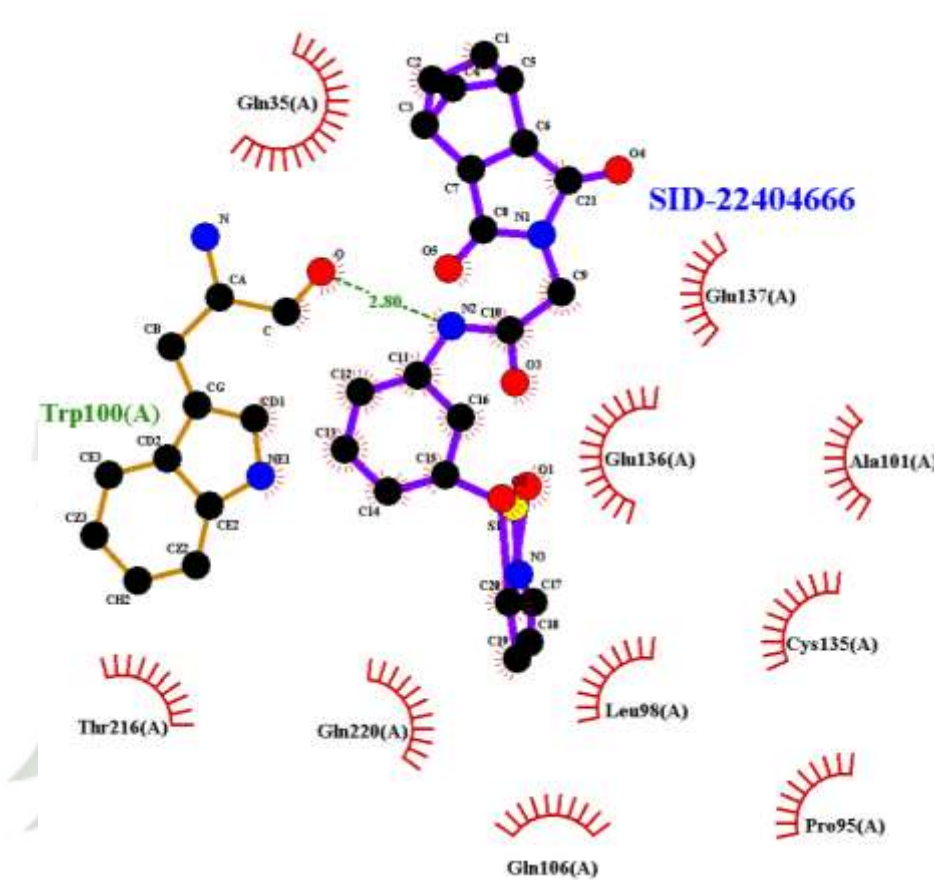
Visualización del mejor candidato de origen químico sintético acoplado al receptor de GLP-1R.



Fuente: Elaboración propia

Figura 22:

Estructura bidimensional del compuesto de origen químico sintético acoplado al sitio de interacción del receptor de GLP-1.



Fuente: Elaboración propia

En la Figura 21 se muestra el complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el compuesto de origen químico sintético insertado en una membrana plasmática. Este complejo se obtuvo posterior a la evaluación del Docking molecular por Autodock Vina en GROMACS. En la Figura 22 se observa la estructura bidimensional de la SID-22404666 acoplado al sitio de unión, revelando las interacciones entre la molécula y los residuos del receptor, siendo el residuo TRP100 el que presenta un enlace puente de hidrogeno entre el receptor y el ligando. El enlace puente de hidrogeno se da entre el átomo O del residuo TRP100 de la cadena A y el átomo N2 del ligando a una distancia de 2.80 Å, lo que sugiere una mayor estabilidad y significancia en la afinidad del ligando en el receptor.

Tabla 23:

Lista de interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen químico sintético.

Contacto entre GLP-1R y SID-2240466		
Ligando	Interacciones Hidrofóbicas	Puentes de Hidrogeno
NON	53	1

Fuente: Elaboración propia

Tabla 24:

Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto SID-2240466 de origen químico sintético.

Interactuantes GLP-1R y SID-2240466	Distancia (Å)
GLN 35 (CG) (C1)	3.33
GLN 35 (CG) (C2)	3.76
GLN 35 (CD) (C1)	3.72
GLN 35 (OE1) (N2)	3.6
GLN 35 (OE1) (C21)	3.72
GLN 35 (OE1) (O4)	3.38
GLN 35 (NE2) (C12)	3.37
PRO 95 (CG) (O2)	3.45
LEU 98 (CD1) (C20)	3.55
TRP 100 (C) (N2)	3.78
TRP 100 (O) (C10)	3.58
TRP 100 (O) (N2)	2.8
TRP 100 (O) (C11)	3.48
TRP 100 (O) (C9)	3.82
TRP 100 (CD1) (C11)	3.58
TRP 100 (CD1) (C12)	3.64
TRP 100 (CD1) (C13)	3.59
TRP 100 (CD1) (C14)	3.46
TRP 100 (CD1) (C15)	3.38
TRP 100 (CD1) (C16)	3.44
TRP 100 (NE1) (C14)	3.64
TRP 100 (NE1) (C15)	3.67
TRP 100 (NE1) (O2)	3.81
TRP 100 (NE1) (C20)	3.52
ALA 101 (CB) (O2)	3.71
SER 103 (OG) (O4)	2.87
GLN 106 (OE1) (C10)	3.79

GLN 106 (OE1)	(C9)	3.43
CYS 135 (C)	(O3)	3.76
CYS 135 (C)	(O1)	3.86
CYS 135 (O)	(O3)	3.05
CYS 135 (O)	(C16)	3.72
CYS 135 (O)	(O1)	3.26
CYS 135 (SG)	(O1)	3.6
GLU 136 (CA)	(O3)	3.31
GLU 136 (CB)	(O3)	3.81
GLU 136 (CB)	(O1)	3.27
GLU 136 (CD)	(O3)	3.49
GLU 136 (CD)	(C11)	3.77
GLU 136 (CD)	(C12)	3.67
GLU 136 (CD)	(C13)	3.75
GLU 136 (OE1)	(C10)	3.61
GLU 136 (OE1)	(O3)	2.87
GLU 136 (OE1)	(C11)	3.79
GLU 136 (OE1)	(C12)	3.89
GLU 136 (OE1)	(O5)	3.63
GLU 136 (OE2)	(C11)	3.81
GLU 136 (OE2)	(C12)	3.26
GLU 136 (OE2)	(C13)	3.06
GLU 136 (OE2)	(C14)	3.46
GLU 137 (CB)	(O5)	3.85
THR 216 (CG2)	(C13)	3.46
GLN 220 (OE1)	(C19)	3.83

Fuente: Elaboración propia

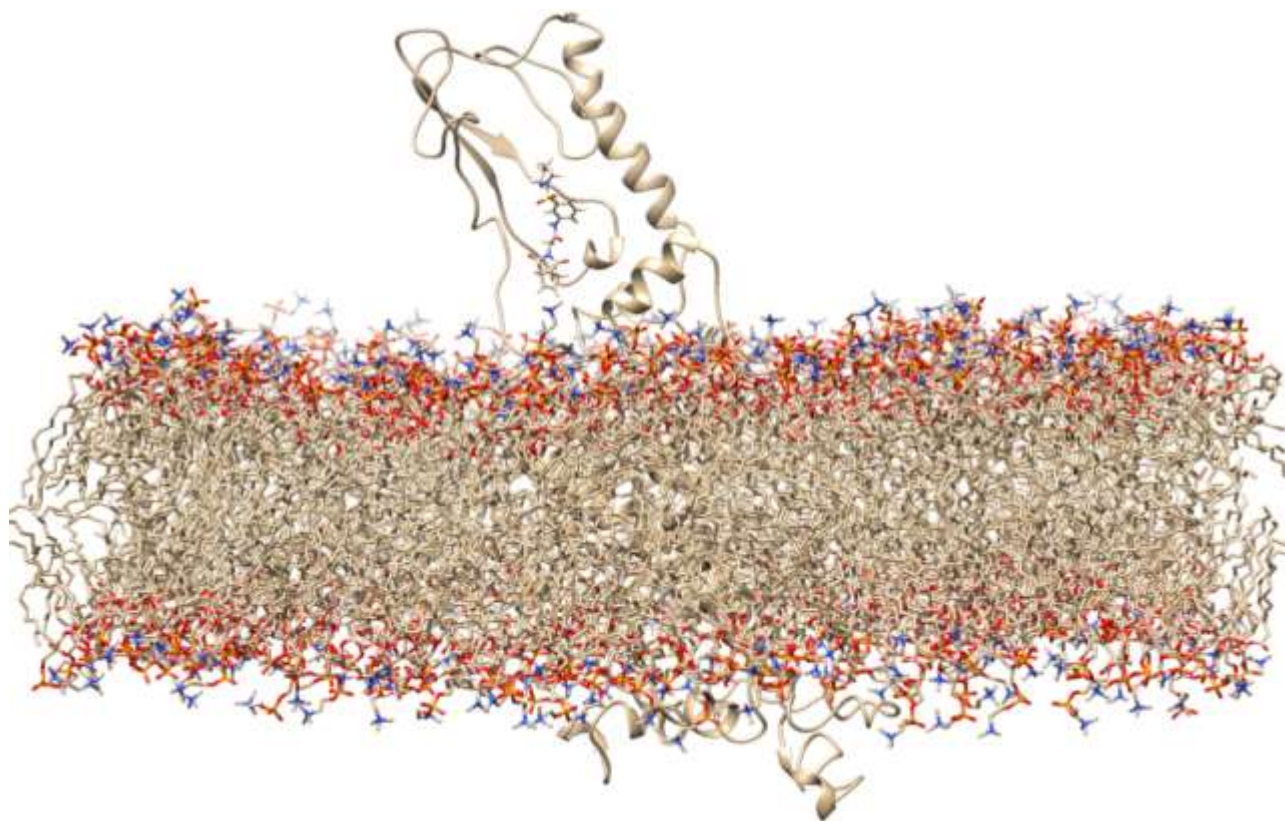
En la Tabla 23 se detalla el número total de contactos hidrofóbicos (53) al igual que el número de enlaces por puente de hidrogeno (1) entre la proteína y el ligando. En la Tabla 24 se detallan los 53 contactos hidrofóbicos en el complejo donde se destaca las múltiples interacciones de los átomos del residuo GLN35 con varios átomos del ligando que varían su distancia entre 3.33 y 3.76 Å. El residuo TPR100 forma varios contactos hidrofóbicos con sus átomos CD1 y NE1 con 8 átomos del ligando a una distancia que varía de 2.80 y 3.82 Å. El residuo GLU136 presenta múltiples contactos con 7 átomos del ligando a distancias que varían entre 2.87 y 3.89 Å, e indica una posible interacción significativa entre los grupos carboxilato del glutamato y el ligando. De igual manera, residuos como PRO95, LEU98, ALA101, SER103, GLN106, GLU137

y THR216 presentan contactos hidrofóbicos que contribuyen a la red de interacciones entre proteína-ligando.

3.5. Simulación de trayectorias de 100 ns para los agentes seleccionados.

3.5.1. Dinámica molecular de la estructura cuaternaria SID-22404666 - GLP-1R

Las simulaciones de dinámica molecular de las dos estructuras cuaternarias obtenidas mediante acoplamiento molecular, utilizando el paquete GROMACS 2022.3 y el campo de fuerza OPLSAA_lipip.ff son las que se muestran en adelante. Se establecieron condiciones específicas para estas simulaciones, como la delimitación de una caja que garantiza que todos los átomos del complejo se encuentren al menos a 1 nm del límite, evitando así problemas de periodicidad. Se empleó el modelo TIP3 para la solvatación con moléculas de agua y se utilizó el script perl water_deletor.pl para eliminar las moléculas de agua presentes en el núcleo hidrofóbico de la bicapa lipídica. Además, se añadieron iones neutralizantes para equilibrar la carga neta del sistema. La etapa de preparación incluyó una minimización de energías para asegurar que las estructuras no presentaran choques esféricos ni geometrías inapropiadas, permitiendo que las mismas se relajaran adecuadamente. Los resultados se enfocaron en cómo estas condiciones iniciales y la posterior minimización de energías afectaron la estabilidad y comportamiento de las estructuras cuaternarias durante las simulaciones de dinámica molecular. Se analizaron parámetros clave como la estabilidad conformacional, interacciones moleculares y posibles cambios estructurales, proporcionando una visión detallada de la dinámica y el comportamiento de estos complejos en un entorno simulado.

Figura 23:**Estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.****Fuente: Elaboración propia**

En la Figura 23 se muestra el resultado final de la simulación de dinámica molecular de 100 ns para una estructura cuaternaria, en este caso, el receptor GLP-1R ligado al compuesto SID-2040666 insertado en una bicapa lipídica. Se puede observar la conformación cuaternaria y las interacciones críticas entre el ligando y el receptor en un entorno biológico realista. Se muestra la presencia de las varias hélices alfa típicas e iniciales de la estructura del receptor. Se observa al ligando firmemente asociado al sitio de unión predicho del receptor, el cual parece estabilizar la conformación específica del receptor, la cual sugiere una importancia para la activación del receptor y que podría inducir cambios conformacionales para la transmisión de señales a través de la membrana celular.

Figura 24:

Resultado de la simulación de dinámica molecular del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.



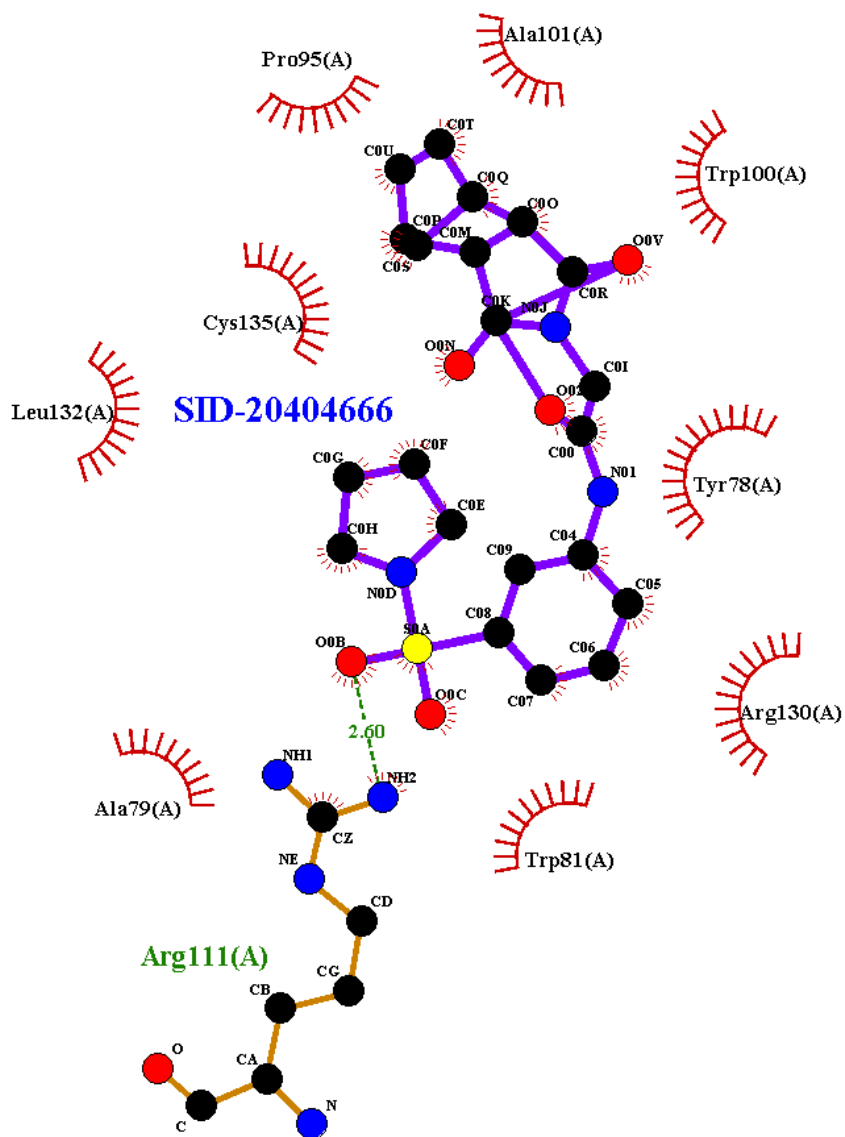
Fuente: Elaboración propia

En la figura 24 se muestra el resultado de la dinámica molecular, la estructura cuaternaria libre de la membrana lipídica. En la imagen de la izquierda se observa la estructura al inicio de la dinámica, es decir, en su conformación inicial con las mismas características que al evaluar el Docking molecular. A la derecha se muestra la estructura cuaternaria al final de la simulación de la dinámica molecular después de los 100 ns, aunque las hélices alfa siguen presentes, algunas regiones parecen haber experimentado movimientos y ajustes en su conformación, el cual puede deberse a la flexibilidad intrínseca del receptor y a la interacción dinámica con el ligando entorno en la capa lipídica. Al comparar ambas imágenes se observan ciertos cambios conformacionales en el receptor que sugiere una flexibilidad para la función del receptor. El ligando permanece unido al receptor en ambos casos con una ligera diferencia en la última imagen, estos cambios sugieren que el sitio de unión es lo suficientemente flexible durante la simulación para mantener una interacción estable.

3.5.2. Interacciones moleculares del complejo GLP-1R y SID-22404666

Figura 25:

Interacciones involucradas en la dinámica molecular de la estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 25 se muestran las interacciones involucradas en el acoplamiento del ligando SID-20404666 y el receptor de GLP-1 posterior a la simulación de dinámica molecular. Se observan interacciones notables con varios aminoácidos del receptor, el cual se evidencia mediante líneas de interacción y las distancias

específicas señaladas en la imagen. Se resalta la interacción en el complejo por parte del residuo Arg111 a una distancia de 2.60 Å, el cual indica una interacción fuerte por puente de hidrógeno. De igual forma, se muestran diversos residuos del receptor con una cierta interacción hidrofóbica con el ligando en los cuales se incluyen a la Ala79, Leu132, Cys135, Trp78, Trp100, Pro95, Ala101 y Arg130, lo que hace referencia a una red compleja de interacción que contribuye a la afinidad y especificidad del ligando.

Tabla 25:
Interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen sintético posterior a la simulación de dinámica molecular.

Contacto entre GLP-1R y SID-22404666		
Ligando	Interacciones Hidrofóbicas	Puentes de Hidrogeno
SID-22404666	42	1

Fuente: Elaboración propia

Tabla 26:
Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto de origen químico.

Interactuantes GLP-1R y SID-22404666	Distancia
TYR 78 (O)	C0G 3.59
TYR 78 (CG)	O02 3.79
TYR 78 (CD1)	C00 3.83
TYR 78 (CD1)	O02 3.24
TYR 78 (CE1)	C00 3.79
TYR 78 (CE1)	O02 3.53
TYR 78 (CE1)	O0V 3.59
ALA 79 (CB)	C0H 3.82
TRP 81 (NE1)	O0B 3.45
TRP 81 (CE2)	O0B 3.57
TRP 81 (CZ2)	O0B 3.16
TRP 81 (CZ2)	C0H 3.89
PRO 95 (CD)	C0F 3.9
TRP 100 (CD1)	C0T 3.39
TRP 100 (NE1)	C0O 3.29
TRP 100 (NE1)	C0Q 3.72
TRP 100 (NE1)	C0T 3.58

TRP 100 (NE1)	O0V	3.78
ALA 101 (CB)	C0T	3.89
ARG 111 (CZ)	O0B	3.77
ARG 111 (NH2)	S0A	3.9
ARG 111 (NH2)	O0B	2.6
ARG 130 (CB)	O0C	3.59
ARG 130 (CG)	O0C	3.61
ARG 130 (CD)	O0C	3.65
ARG 130 (NE)	C06	3.8
ARG 130 (NE)	C07	3.77
ARG 130 (CZ)	C04	3.66
ARG 130 (CZ)	C05	3.26
ARG 130 (CZ)	C06	3.43
ARG 130 (CZ)	C07	3.85
ARG 130 (NH1)	N01	3.51
ARG 130 (NH1)	C04	3.5
ARG 130 (NH1)	C05	3.43
ARG 130 (NH2)	C05	3.25
ARG 130 (NH2)	C06	3.29
LEU 132 (CD2)	C0E	3.34
LEU 132 (CD2)	C0F	3.56
LEU 132 (CD2)	O0N	3.76
CYS 135 (O)	C0P	3.39
CYS 135 (O)	C0S	3.55
CYS 135 (O)	C0U	3.39

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 25 se muestra el resumen de las interacciones involucradas en el acoplamiento del ligando SID-20404666 y el receptor GLP-1R, en el cual se muestra la interacción por puente de hidrogeno entre el residuo ARG111 y el extremo del ligando. De igual forma, en la tabla 26 se detallan las 42 interacciones hidrofóbicas implicadas en la estructura cuaternaria, en el cual se enlistan los residuos del receptor y los átomos del ligando interactuantes. En la lista de interacciones hidrofóbicas resaltan algunos como el residuo TYR78 el cual su oxígeno interactúa con un átomo del ligando a una distancia de 3.59A, además los átomos aromáticos de este residuo interactúan con otros 2 átomos a 3.79A y 3.83 A respectivamente. Otro residuo es el TRP81 que presenta dos interacciones con el ligando a distancias de 3.68 A y 3.70A, y el residuo PRO95 presenta interacciones con 2 átomos a distancias de 3.79 A y 3.62. Estos residuos

sugieren ser parte principal del acoplamiento entre el ligando y el receptor, al proporcionar interacciones estabilizadoras adicionales que mantiene al ligando en su posición correcta, posiblemente proporcionando fuerzas de apilamiento aromático.

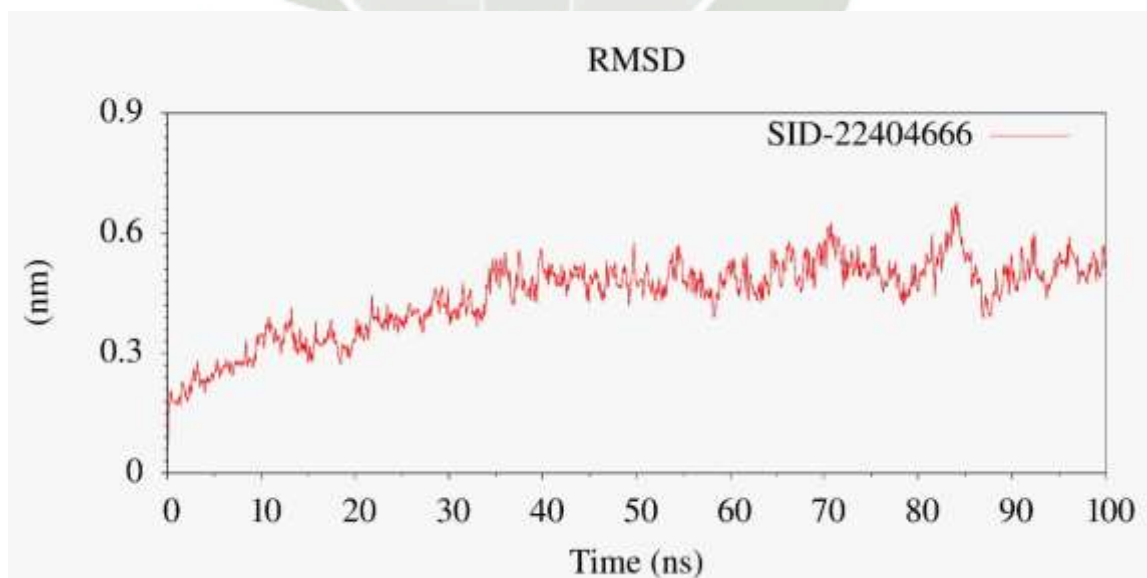
3.5.3. Análisis de la estabilidad de la estructura cuaternaria GLP-1R y SID-22404666

3.5.3.1. RMSD

El cálculo del RMSD total al finalizar la dinámica molecular se realizó en este caso al complejo ligando químico y receptor con el fin de determinar estabilidad. Se analizaron los valores resultantes con la herramienta Xmgrace de Gromacs y se crearon graficas con la herramienta GNUplot el cual trabaja con los datos y el promedio. La diferencia espacial entre la estructura estática se representa en un gráfico lineal donde la aparición de mesetas graficadas determina la convergencia y la estabilidad.

Figura 26:

Diagrama RMSD del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666.



Fuente: Elaboración propia

En la figura 26 se muestra la gráfica de desviación cuadrática media de la estructura del complejo a lo largo del tiempo (ns). El valor del RMSD

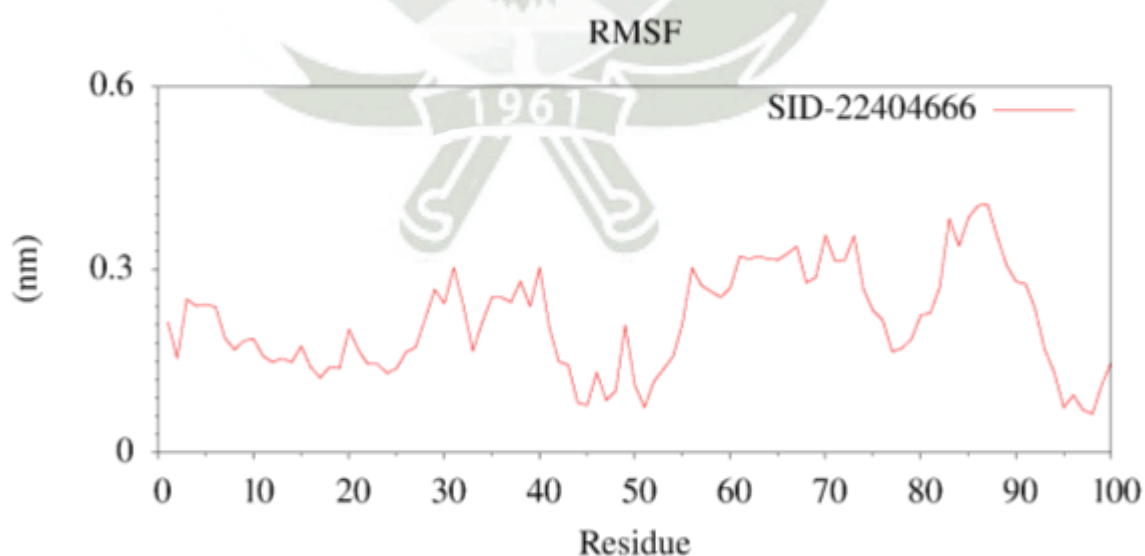
empieza alrededor de 0.2 nm y gradualmente aumenta hasta alcanzar valores cercanos a 0.8nm, un aumento progresivo con varios picos a lo largo de la dinámica, sugiriendo que algunas regiones del complejo son más flexibles que otros. Finalmente, la tendencia indica una estabilidad estructural con ciertas regiones significativas.

3.5.3.2. RMSF

Se realizó el cálculo de las fluctuaciones cuadráticas media del complejo, con el fin de evaluar el movimiento que hay en los residuos o aminoácidos a lo largo de la simulación de dinámica molecular. Ya que el RMSF puede obtenerse a través de valores experimentales definidos con una medida de fluctuaciones espaciales de átomos alrededor de la posición promedio con un movimiento de distribución isotrópica o como la medida del desplazamiento de átomos o moléculas en relación con la estructura de referencia, el complejo ligando químico y receptor fijó resultados que se analizaron con la herramienta Xmgrace de Gromacs y se crearon graficas con la herramienta GNUplot el cual trabaja con los datos y el promedio resultante,

Figura 27:

Diagrama de RMSF del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666



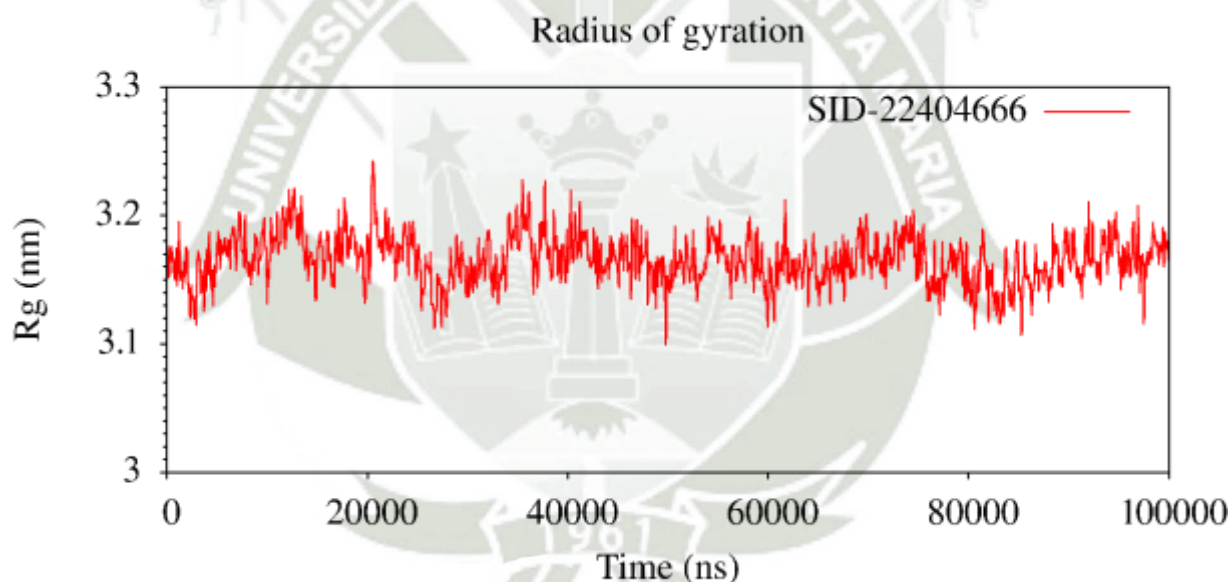
Fuente: Elaboración propia

En la figura 27 se muestra la fluctuación media cuadrática de cada residuo del complejo a lo largo de la simulación. El RMSF muestra variaciones desde aproximadamente 0.1 nm hasta un máximo de 0.5 nm y se observan varios picos que indican que ciertos residuos tienen mayores fluctuaciones que otros, sugiriendo que las regiones con valores de RMSF altos indicarían mayor flexibilidad o que pueden ser más dinámicos.

3.5.3.3. Radio de Giro

Figura 28:

Diagrama de Radio de Giro del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando SID-22404666



Fuente: Elaboración propia

En la figura 28 se muestra el radio de giro del complejo de GLP-1 y el ligando a lo largo de la simulación de dinámica molecular. Se observa en la gráfica que el valor del Rg oscila entre aproximadamente 3.1 y 3.3 nm y que hay fluctuaciones en el radio de giro, pero al no existir una tendencia ascendente o descendente significativa, se sugiere que la conformación global de la estructura cuaternaria se mantiene relativamente constante. Además, las

fluctuaciones cercanas al valor promedio indican el equilibrio y la flexibilidad del complejo.

3.5.4. Cálculo de energía de afinidad en estructuras cuaternarias mediante MMPBSA

3.5.4.1. Energía de afinidad en el complejo GLP-1R - SID-22404666

El cálculo de las energías de afinidad en el complejo se realizó mediante la herramienta de MMPBSA de Python juntamente con Gromacs. Después de someter los resultados de la dinámica molecular del complejo se estableció una energía de unión de -326.652 ± 38.849 kJ/mol, el cual es considerable como un valor de energía favorable que permite dar indicios de una unión espontánea entre el ligando y el receptor.

Tabla 27:

Lista de las energías de las interacciones involucradas en la simulación de dinámica molecular entre el GLP-1R y el ligando SID-22404666

Tipo de Energía	Valor (kJ/mol)	Desviación Estándar (kJ/mol)
Energía van der Waals	-175.7	15.071
Energía electrostática	-53.113	20.08
Energía de solvatación polar	103.16	19.751
Energía de solvatación no polar (SASA)	-19.863	1.564
Energía de solvatación no polar (SAV)	-181.135	32.822
Energía de WCA	0	0
Energía libre de unión total	-326.652	38.849

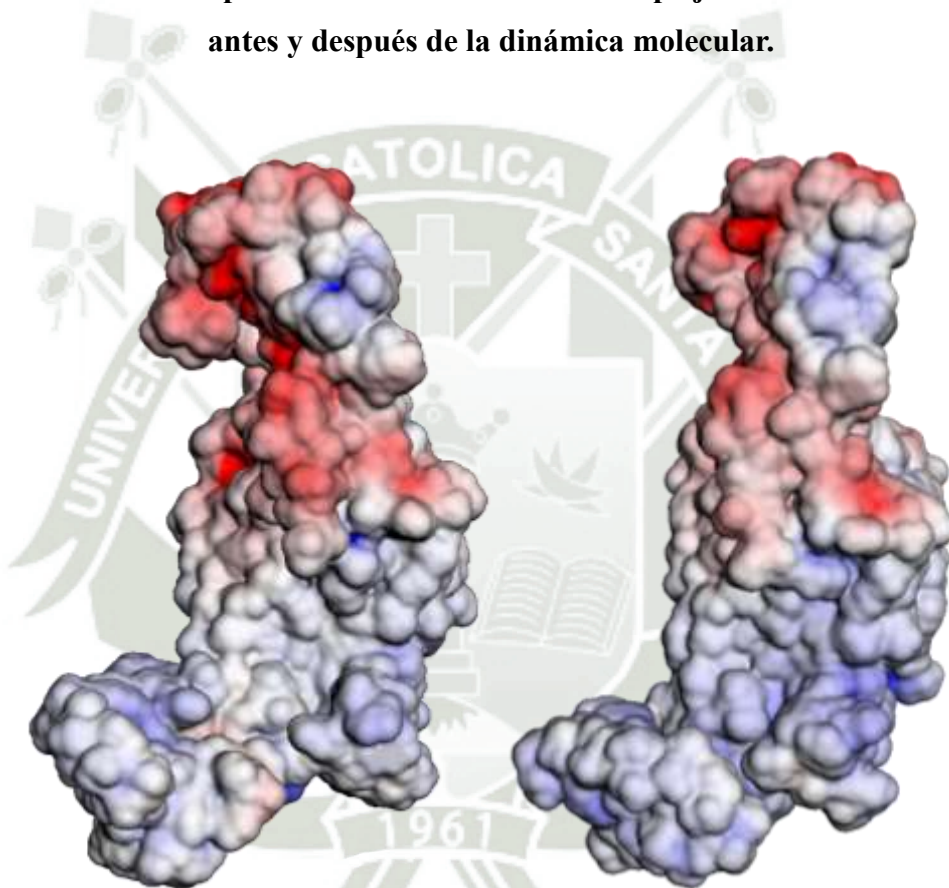
Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 27 se muestra el resumen de las energías involucradas en las interacciones de la simulación de dinámica molecular del complejo GLP-1R – SID22404666 mediante cálculos de MM/PBSA. Al observar los valores entre las interacciones Van der Waals y las electrostáticas se sugiere que la estructura es estable durante la simulación, ya que las fuerzas de Van der Waals ayudan a mantener la compactación del receptor y las electrostáticas estabilizan la estructura mediante la formación de interacciones cargadas. La

solvatación Polar refleja la necesidad del sistema de reorganizar las moléculas de agua para el acomodo del receptor. La Energía de solvatación no polar negativa indica que las regiones hidrofóbicas están bien situadas con una posible agrupación interna de interacción favorable con el medio acuoso.

Figura 29:

Visualización de las superficies electrostáticas del complejo ZINC-4023302 -GLP-1R antes y después de la dinámica molecular.



Fuente: Elaboración propia.

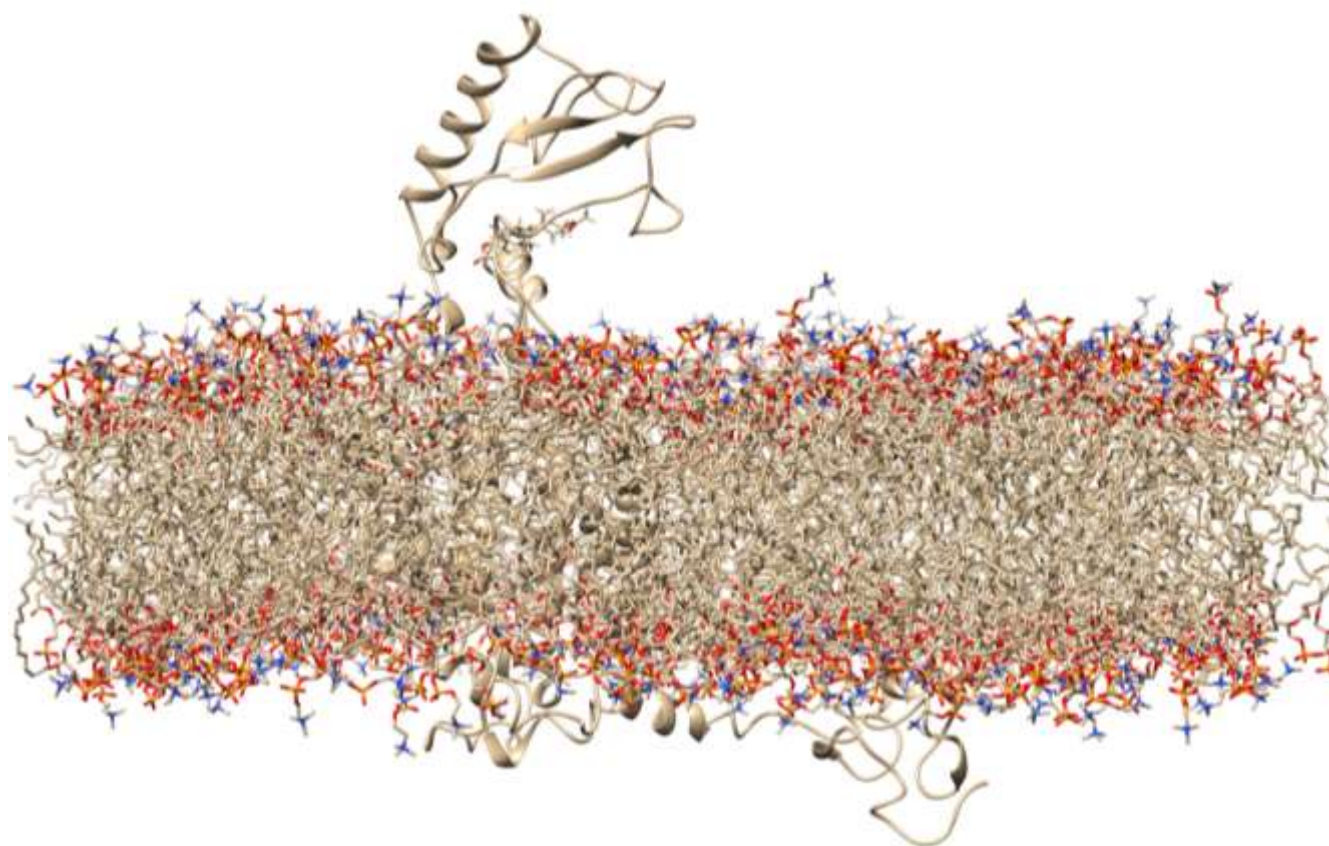
La figura 29 es la visualización de la superficie electrostática de la estructura acoplada al ligando de origen químico sintético proporcionada por el servidor de APBS. En la primera imagen de la derecha se observa la distribución electrostática del complejo antes de la dinámica molecular el cual señala las regiones rojas como las cargas negativas y las azules como positivas. Se muestra que las distribuciones no optimizan las interacciones electrostáticas y muestra una conformación menos ajustada y la superficie representa una

falta de estabilidad al presentarse relativamente uniforme. Se observa en la segunda imagen que la dinámica molecular permitió la reorientación y reorganización de los grupos funcionales cargados mejorando las interacciones electrostáticas, igualmente la estructura del complejo ha variado a una conformación más compacta y específica al notarse una mejor adaptación del receptor al ligando.

3.5.5. Dinámica molecular de la estructura cuaternaria ZINC-4023302 -GLP-1R

Figura 30:

Estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302 posterior a la dinámica molecular.



Fuente: Elaboración propia.

En la figura 30 se muestra la estructura cuaternaria de GLP-1R unida a un ligando después de la simulación de dinámica molecular, la cual se encuentra dentro de una bicapa lipídica simulando un entorno biológico realista. Se observa un ligero cambio y ajustes conformacionales en la zona extracelular que se debe al acoplamiento del ligando en el sitio de interacción. En la región

transmembrana se observa un gran cambio conformacional posterior a la dinámica, lo que sugiere un cambio significativo en la estructura del receptor al acoplarse con el ligando que podría ser crítico para la funcionalidad del receptor.

Figura 31:

Resultado de la simulación de dinámica molecular del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302.



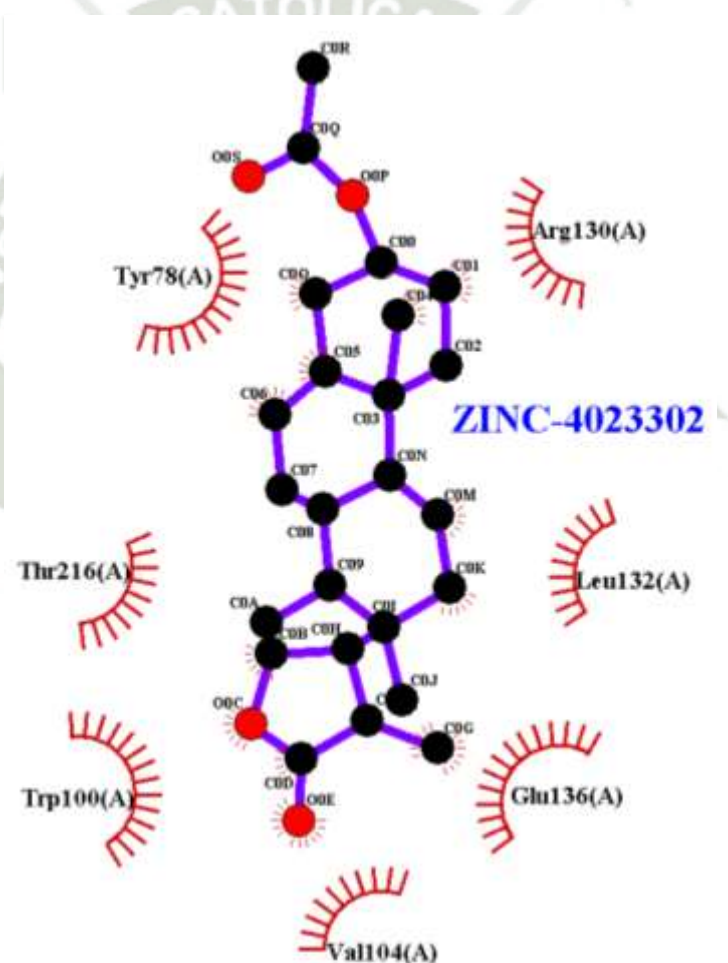
Fuente: Elaboración propia.

La figura 31 muestra el resultado de la simulación de dinámica molecular del complejo después de 200 ns. En la imagen ubicado en el lado izquierdo se muestra la estructura inicial del receptor unido al ligando, en el primer paso de la simulación se observa la unión específica del ligando dentro del receptor de GLP-1 formando interacciones iniciales que estabilizan temporalmente al complejo, además presenta una conformación rígida y ordenada, con hélices alfa definidas con menor flexibilidad. En el lado derecho se ubica la estructura del complejo posterior a los 200 ns de simulación, esta etapa de la dinámica demuestra la continuidad de la posición del ligando dentro del sitio de unión del receptor, formando nuevas interacciones que favorecen energéticamente. Igualmente, el receptor muestra mayor flexibilidad, cambios en regiones como las hélices alfa, que permiten la mejor interacción con el ligando. Se contempla

un cambio conformacional en la zona intracelular del receptor al finalizar la dinámica, el cual puede deberse a la respuesta o generación de señales al acoplarse el ligando con el sitio de unión del receptor, agregando también la flexibilidad inherente de los receptores acoplados a proteínas G.

3.5.6. Interacciones moleculares del complejo GLP-1R - ZINC-4023302

Figura 32:
Estructura bidimensional del compuesto de origen natural acoplado al sitio de interacción del receptor de GLP-1.



Fuente: Elaboración propia.

La figura 32 es una representación ilustrada por la herramienta Ligplot en el que se muestran las interacciones moleculares entre los residuos del receptor y el ligando de origen natural. En la imagen se observa las interacciones representativas del total de interacciones (26), las interacciones hidrofóbicas

serían por medio de los residuos Tyr78, Thr216, Trp100, Val100, Arg130, Leu132 y Glu136. La mayoría de los residuos se encuentran cercanos a varios átomos del ligando generando hidrofobicidad debido a compuestos como el grupo guanidino del residuo Leu132 o el enlace al anillo aromático del Trp100.

Tabla 28:

Interacciones entre el receptor de GLP-1 y el componente de origen natural posterior a la simulación de dinámica molecular.

Contacto entre GLP-1R y ZINC-4023302		
Ligando	Interacciones Hidrofóbicas	Puentes de Hidrogeno
ZINC-4023302	26	0

Fuente: Elaboración propia

Tabla 29:

Lista de interacciones hidrofóbicas entre el receptor de GLP-1 y el compuesto de origen natural.

Interactuantes GLP-1R y ZINC-4023302		Distancia (Å)
35GLN	O0E	3.83
78TYR	C05	3.87
78TYR	C06	3.51
78TYR	C05	3.85
78TYR	C06	3.27
78TYR	C00	3.57
78TYR	C06	3.7
78TYR	C00	3.52
100TRP	O0C	3.26
100TRP	C0D	3.61
100TRP	O0E	3.62
100TRP	C0B	3.72
100TRP	O0C	3.45
103SER	O0E	3.33
104VAL	O0E	3.45
130ARG	C04	3.88
130ARG	C04	3.65
130ARG	C04	3.66
130ARG	C04	3.75
130ARG	C01	3.79
130ARG	O0P	3.43

132LEU	C0M	3.74
136GLU	C0K	3.82
136GLU	C0G	3.5
136GLU	C0K	3.74
216THR	C0G	3.72

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 28 se resumen las interacciones en el acoplamiento del ligando ZINC-4023302 y el GLP-1R después de una simulación de dinámica molecular a 200ns. Se muestran las 26 interacciones hidrofóbicas por parte de los residuos con el ligando además de la escasez de enlaces por puente de hidrogeno, lo cual puede sugerir que las condiciones de la simulación no favorecieron la formación de estas interacciones y que la unión al receptor es únicamente mediante interacciones hidrofóbicas. En la tabla 29 se enlista detalladamente los 26 enlaces hidrofóbicos presentes en el acoplamiento del complejo, donde se detalla las interacciones con sus respectivas distancias. Se observa la aparición constante entre los residuos Tyr78, Trp100 y Arg130.

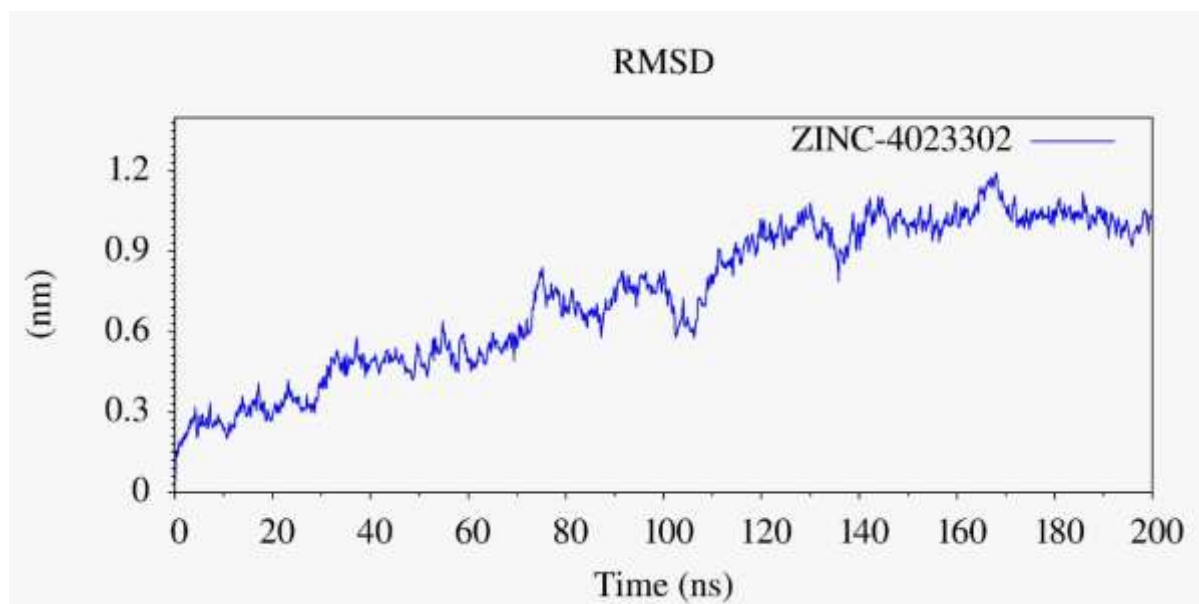
3.5.7. Análisis de la estabilidad en la estructura cuaternaria GLP-1R - ZINC-4023302

3.5.7.1. RMSD

El cálculo del RMSD total al finalizar la dinámica molecular se realizó al complejo ligando químico y receptor para determinar estabilidad. Se analizaron los valores resultantes con la herramienta Xmgrace de Gromacs y se crearon graficas con la herramienta GNUplot el cual trabaja con los datos y el promedio. La diferencia espacial entre la estructura estática se representa en un gráfico lineal donde la aparición de mesetas graficadas determina la convergencia y la estabilidad.

Figura 33:

Diagrama de RMSD del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302



Fuente: Elaboración propia

La figura 33 es una gráfica de raíz cuadrática media el cual mide la estabilidad de una estructura durante la simulación de dinámica molecular e indica cuanto se desvía la estructura del complejo en relación con una estructura de referencia a lo largo del tiempo. Se observa que la dinámica inicia con valores alrededor de 0.3 y aumenta progresivamente hasta alcanzar valores cercanos a 1.2nm. El incremento constante sugiere una mayor flexibilidad y movimiento del complejo durante la simulación, el cual puede ser indicativo de cambios conformacionales entre el receptor y el ligando para lograr una configuración estable. Posterior a los 160 ns se muestra una estabilidad relativa en la dinámica.

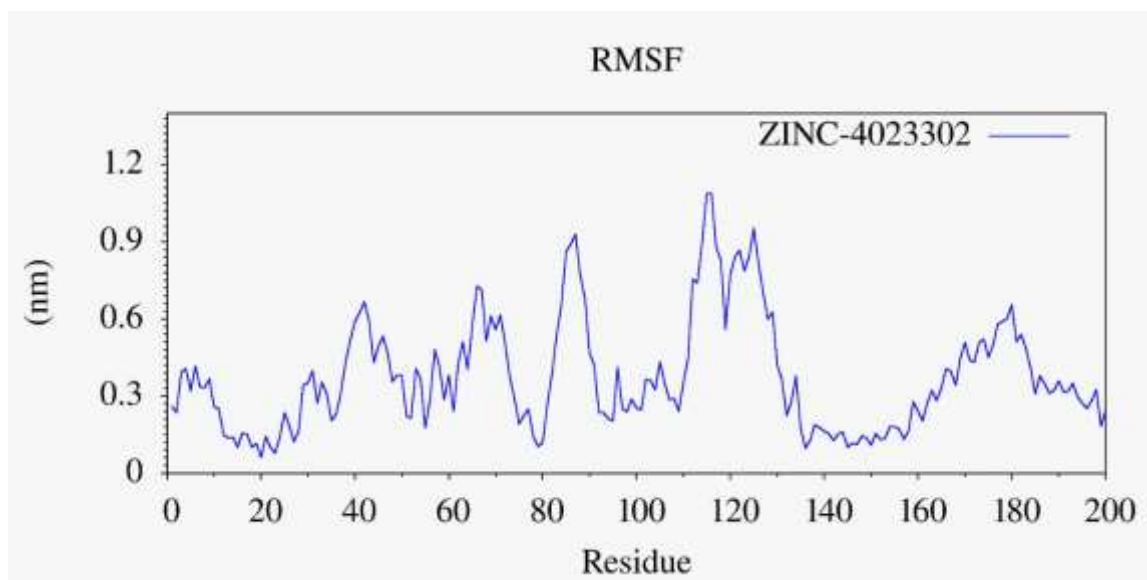
3.5.7.2. RMSF

Se realizó el cálculo de las fluctuaciones cuadráticas media del complejo, con el fin de evaluar el movimiento que hay en los residuos o aminoácidos a lo largo de la simulación de dinámica molecular. El complejo ligando químico y receptor fijó resultados que se analizaron con la herramienta Xmgrace de

Gromacs y se crearon graficas con la herramienta GNUplot el cual trabaja con los datos y el promedio resultante.

Figura 34:

Diagrama de RMSF del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302



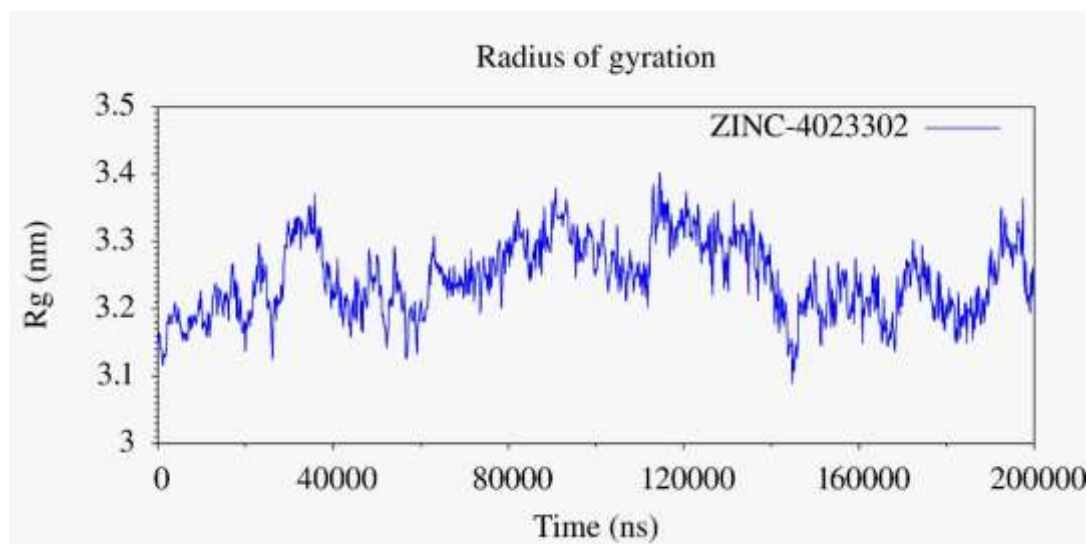
Fuente: Elaboración propia

La figura 34 es una gráfica de RMSF o Fluctuación de la Raíz cuadrática media durante la simulación de la dinámica molecular del complejo, el cual mide las fluctuaciones residuo por residuo a lo largo de la simulación dando una idea de la flexibilidad local de los diferentes componentes de la estructura proteica. Las áreas con picos altos en la gráfica representan a regiones que experimentan mayor flexibilidad y movimiento durante la simulación, lo que podría corresponder a regiones de bucles o extremos N-terminales o C-terminales. Igualmente, las zonas con picos reducidos o de valores más bajos indican regiones del receptor que se consideran rígidas y estables durante la simulación, posiblemente por ser estructuras como hélices alfa o laminas beta.

3.5.7.3. Radio de giro

Figura 35:

Diagrama de Radio de Giro del complejo o estructura cuaternaria del receptor de GLP-1 y el ligando ZINC-4023302



Fuente: Elaboración propia

En la figura 35 se muestra la gráfica de radio de giro de la estructura del complejo durante los 200 ns en la dinámica molecular, el cual describe la compactación de la estructura molecular, en este caso el complejo muestra fluctuaciones entre 3.1 y 3.5 nm a lo largo de la simulación. La fluctuación indica compactación de la estructura del complejo varía con el tiempo y refleja ajustes conformacionales como también cambios en la interacción entre el receptor y el ligando. Aunque existen fluctuaciones, el radio de giro se mantiene en un rango relativamente estrecho, lo que sugiere que el complejo no experimenta cambios drásticos en la compactación y mantiene una estabilidad global mientras se permite la flexibilidad local.

3.5.8. Cálculo de la energía de afinidad en estructuras cuaternarias mediante MM/PBSA

3.5.8.1. Energía de afinidad en el complejo GLP-1R - ZINC-4023302.

El cálculo de las energías de afinidad en el complejo se realizó mediante la herramienta de MMPBSA de Python juntamente con Gromacs. Después de someter los resultados de la dinámica molecular del complejo se estableció una energía de unión de -326.652 ± 38.849 kJ/mol, el cual es considerable como un valor de energía favorable que permite dar indicios de una unión espontánea entre el ligando y el receptor.

Tabla 30:

Lista de las energías de las interacciones involucradas en la simulación de dinámica molecular entre el GLP-1R y el ligando ZINC-4023302

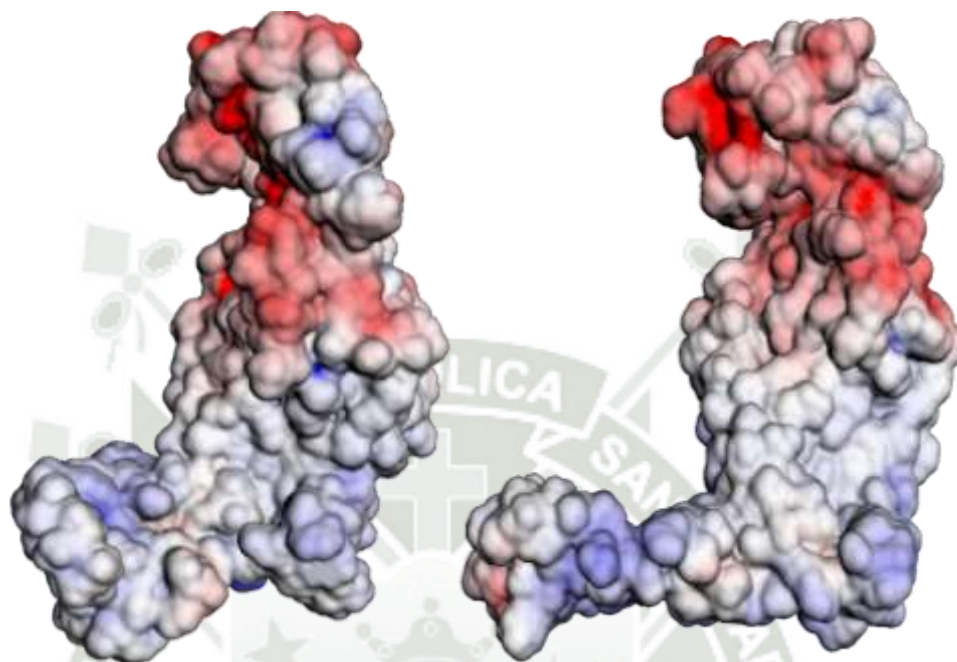
Tipo de Energía	Valor (kJ/mol)	Desviación Estándar (kJ/mol)
Energía van der Waals	-144.272	26.658
Energía electrostática	-15.701	12.593
Energía de solvatación polar	59.804	16.193
Energía de solvatación no polar (SASA)	-17.978	2.041
Energía de solvatación no polar (SAV)	-157.265	35.392
Energía de WCA	0	0
Energía libre de unión total	-275.412	51.269

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 30 se muestran las energías de las interacciones involucradas en la dinámica del complejo GLP-1R y ZINC-4023302 mediante MM/PBSA. Al observar los valores de Van der Waals y la energía electrostática se sugiere que la estructura es estable posterior a la simulación, de igual forma se mantiene una compactación del receptor y una estabilidad mediante la formación de interacciones cargadas, debido a las energías mencionadas. La solvatación polar y la no polar indican que las regiones hidrofóbicas se hallan bien ubicadas.

Figura 36:

Visualización de las superficies electrostáticas del complejo GLP-1R - ZINC-4023302 antes y después de la dinámica molecular.



Fuente: Elaboración propia

La figura 36 es la visualización de las superficies electrostáticas del complejo con ligando de origen natural en ambos momentos, antes de la dinámica molecular y al finalizar, analizado por las herramientas del servidor APBS. En la primera imagen se observa el receptor de GLP-1R acoplado al ligando de origen natural antes de iniciar la dinámica y se muestra diferentes regiones coloreadas, como el color rojo que representa las cargas negativas y la zona azul como las cargas positivas, igualmente la estructura parece de mayor rigidez y menos adaptada con una superficie relativamente uniforme sin deformaciones. La siguiente figura representa a la estructura del receptor acoplado al ligando de origen natural posterior a la dinámica molecular con un gran cambio en las regiones positivas y negativas, lo que sugiere un ajuste en las interacciones electrostáticas, igualmente presenta un cambio conformacional en la estructura del complejo mostrando una conformación más ajustada estable, adaptada y energéticamente favorable, además la superficie muestra irregularidades y deformaciones sugiriendo una especificidad en la interacción receptor-ligando.

CONCLUSIONES

Conclusión general

La combinación de técnicas de MMPBSA y cribado virtual permitió identificar y caracterizar compuestos, tanto de origen natural como sintético, con alta afinidad y estabilidad en su interacción con el receptor GLP-1R. Entre los compuestos evaluados, SID-22404666 y ZINC-4023302 demostraron un potencial significativo como agonistas o moduladores alostéricos positivos de GLP-1R. El compuesto SID-22404666, en particular, mostró la mayor energía libre de enlace y la interacción más estable, lo que lo posiciona como el candidato más prometedor para el desarrollo de nuevas terapias dirigidas a GLP-1R, con aplicaciones potenciales en el tratamiento de la diabetes tipo 2. Estos resultados subrayan la eficacia de las metodologías *in silico* aplicadas para la identificación y optimización de nuevos agentes terapéuticos.

Objetivo Específico: Determinar los potenciales sitios de interacción del receptor GLP-1:

- **Conclusión específica:** Se identificaron nueve sitios de interacción clave en la estructura del receptor GLP-1R utilizando herramientas bioinformáticas y de dinámica molecular. Estos sitios, denominados *Pockets*, fueron evaluados en términos de su volumen y accesibilidad, destacando el Pocket_2 como el de mayor volumen y potencial para interacciones con ligandos.

Objetivo Específico: Hallar mediante virtual screening potenciales agonistas y ortogonistas de la GLP-1R de origen natural y sintético:

- **Conclusión específica:** A través del cribado virtual de una librería extensa de compuestos, se identificaron 121 compuestos de origen natural y 115 de origen sintético con alta afinidad por el receptor GLP-1R. Estos compuestos mostraron puntajes de acoplamiento significativos, lo que sugiere su potencial como agonistas o ortogonistas del receptor.

Objetivo Específico: Seleccionar por criterios estocásticos los mejores agentes agonistas y ortogonistas:

- **Conclusión específica:** Utilizando criterios estocásticos basados en la afinidad de acoplamiento y otras propiedades fisicoquímicas, se seleccionaron los compuestos o

los candidatos más prometedores para avanzar en estudios más detallados debido a su alta estabilidad y afinidad por GLP-1R.

Objetivo Específico: Determinar por ensamblaje agentes interactuantes en las zonas drogables:

- **Conclusión específica:** El análisis de ensamblaje molecular confirmó que los compuestos seleccionados se acoplan eficazmente a los sitios de interacción identificados (principalmente en el Pocket_2), lo que valida su capacidad para interactuar con el receptor de manera estable y específica, destacando su potencial como moduladores alostéricos o agonistas.

Objetivo Específico: Simular trayectorias de 100 ns para los agentes seleccionados:

- **Conclusión específica:** Las simulaciones de dinámica molecular de 100 ns realizadas para los compuestos SID-22404666 y ZINC-4023302 mostraron que ambos agentes mantienen una estabilidad estructural constante en su interacción con el GLP-1R. Las fluctuaciones y los radios de giro fueron mínimos, indicando un acoplamiento robusto y eficaz.

Objetivo Específico: Analizar los resultados de la dinámica molecular:

- **Conclusión específica:** El análisis detallado de las simulaciones de dinámica molecular reveló que el compuesto SID-22404666 presentó una energía libre de enlace más favorable que ZINC-4023302, sugiriendo una interacción más fuerte y estable con el receptor GLP-1R. Este resultado destaca a SID-22404666 como un candidato más viable para el desarrollo de terapias basadas en GLP-1R.

RECOMENDACIONES

- Primera** Se recomienda a los futuros investigadores que exploren la optimización de los compuestos identificados, especialmente SID-22404666, mediante modificaciones estructurales y análisis de toxicidad in silico. Esto se recomienda para refinar aún más el potencial de estos compuestos como fármacos efectivos y seguros para el tratamiento de la diabetes tipo 2, mejorando su afinidad y reduciendo posibles efectos adversos.
- Segunda** Se recomienda a los laboratorios farmacéuticos que realicen estudios in vitro e in vivo utilizando los compuestos seleccionados, en particular SID-22404666, para validar los resultados obtenidos en este estudio in silico. Esto se recomienda para avanzar en la fase de desarrollo preclínico de nuevos medicamentos basados en agonistas del GLP-1R, con el objetivo de ofrecer tratamientos innovadores y más eficaces para la diabetes tipo 2.
- Tercera** Se recomienda a las instituciones académicas que incluyan estudios de dinámica molecular y cribado virtual en sus programas de posgrado y cursos especializados. Esto se recomienda para capacitar a los futuros biotecnólogos y farmacólogos en técnicas avanzadas de biología computacional, fomentando la innovación en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos basados en el conocimiento profundo de las interacciones moléculas-receptor.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singh S, Kriti M, K.S. A, Sarma DK, Verma V, Nagpal R, et al. Deciphering the complex interplay of risk factors in type 2 diabetes mellitus: A comprehensive review. *Metabol Open* [Internet]. el 1 de junio de 2024 [citado el 2 de agosto de 2024];22:100287. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2589936824000197>
2. Hammoud R, Drucker DJ. Beyond the pancreas: contrasting cardiometabolic actions of GIP and GLP1. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. el 1 de abril de 2023 [citado el 2 de agosto de 2024];19(4):201–16. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36509857>
3. Santos J, Pujols J, Pallarès I, Iglesias V, Ventura S. Computational prediction of protein aggregation: Advances in proteomics, conformation-specific algorithms and biotechnological applications. *Comput Struct Biotechnol J* [Internet]. el 1 de enero de 2020 [citado el 2 de agosto de 2024];18:1403–13. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32637039>
4. Association AD. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* [Internet]. el 1 de enero de 2010 [citado el 1 de agosto de 2024];33(Supplement_1):S62–9. Disponible en: https://diabetesjournals.org/care/article/33/Supplement_1/S62/25777/Diagnosis-and-Classification-of-Diabetes-Mellitus
5. Hu G. Diabetes Mellitus, Prevention. En: *Encyclopedia of Exercise Medicine in Health and Disease* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2012 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 243–5. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-29807-6_55
6. Kaul K, Tarr JM, Ahmad SI, Kohner EM, Chibber R. Introduction to diabetes mellitus. Ahmad SI, editor. *Adv Exp Med Biol* [Internet]. el 1 de agosto de 2012 [citado el 1 de agosto de 2024];771:1–11. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23393665>
7. van Wilpe R, Hulst AH, Siegelaar SarahE, DeVries JH, Preckel B, Hermanides J. Type 1 and other types of diabetes mellitus in the perioperative period. What the anaesthetist should know. *J Clin Anesth* [Internet]. el 1 de febrero de 2023 [citado el

- 1 de agosto de 2024];84:111012. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0952818022003701>
8. Rokne B, Graue M. Type I Diabetes Mellitus and Quality of Life. En: Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research [Internet]. Dordrecht: Springer Netherlands; 2014 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 6756–8. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-0753-5_3071
 9. Metze D, Nguyen T, Haack B, Leung AKC, Miyake N, Matsumoto N, et al. Diabetes Mellitus Type 1. En: Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 521–2. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-29676-8_3416
 10. Gregory GA, Robinson TIG, Linklater SE, Wang F, Colagiuri S, de Beaufort C, et al. Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: a modelling study. Lancet Diabetes Endocrinol [Internet]. el 1 de octubre de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];10(10):741–60. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213858722002182>
 11. Ogle GD, James S, Dabelea D, Pihoker C, Svensson J, Maniam J, et al. Global estimates of incidence of type 1 diabetes in children and adolescents: Results from the International Diabetes Federation Atlas, 10th edition. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. el 1 de enero de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];183:109083. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822721004423>
 12. Direct Relief and International Diabetes Federation provide vital access to health care through global diabetes partnership. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. el 1 de enero de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];195:110226. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36529301>
 13. Diabetes Type 2. En: Encyclopedia of Cancer [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2008 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 861–861. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-47648-1_1602
 14. Ojo OA, Ibrahim HS, Rotimi DE, Ogunlakin AD, Ojo AB. Diabetes mellitus: From molecular mechanism to pathophysiology and pharmacology. Med Nov Technol Devices [Internet]. el 1 de septiembre de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];19:100247. Disponible en:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590093523000425>

15. Metze D, Nguyen T, Haack B, Leung AKC, Miyake N, Matsumoto N, et al. Diabetes Mellitus Type 2. En: Encyclopedia of Molecular Mechanisms of Disease [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 522–3. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-29676-8_478
16. Seguí Díaz M, Pérez Unanua MP, Peral Martínez I, López Serrano A, Aguirre Rodríguez JC. La diabetes tipo 3c. Abordaje desde el médico del primer nivel. Medicina de Familia SEMERGEN [Internet]. el 1 de noviembre de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];49(8):102074. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1138359323001545>
17. Goksen D, Evin F, Isik E, Ozen S, Atik T, Ozkinay F, et al. Molecular diagnosis in patients with monogenic diabetes mellitus, and detection of a novel candidate gene. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. el 1 de noviembre de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];205:110953. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822723007167>
18. Fathallah N, Slim R, Larif S, Hmouda H, Ben Salem C. Drug-Induced Hyperglycaemia and Diabetes. Drug Saf [Internet]. el 14 de diciembre de 2015 [citado el 1 de agosto de 2024];38(12):1153–68. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s40264-015-0339-z>
19. Beyh YS, Narayan KMV. Diabetes mellitus: Etiology and epidemiology. En: Encyclopedia of Human Nutrition [Internet]. Elsevier; 2023 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 252–62. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128218488000068>
20. Blériot C, Dalmas É, Ginhoux F, Venteclef N. Inflammatory and immune etiology of type 2 diabetes. Trends Immunol [Internet]. el 1 de febrero de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];44(2):101–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490622002617>
21. Smushkin G, Vella A. What is type 2 diabetes? Medicine [Internet]. el 1 de noviembre de 2010 [citado el 1 de agosto de 2024];38(11):597–601. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357303910002094>
22. Mannucci E, Targher G, Nreu B, Pintaudi B, Candido R, Giaccari A, et al. Effects of insulin on cardiovascular events and all-cause mortality in patients with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized controlled trials. Nutrition, Metabolism and

- Cardiovascular Diseases [Internet]. el 1 de junio de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];32(6):1353–60. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939475322001296>
23. Pradeepa R, Mohan V. Epidemiology of type 2 diabetes in India. Indian J Ophthalmol [Internet]. el 1 de noviembre de 2021 [citado el 1 de agosto de 2024];69(11):2932–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34708726>
24. IDF and WOF release new policy brief to address obesity and type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. el 1 de abril de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];186:109864. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822722006775>
25. Fan Y, Lau ESH, Wu H, Yang A, Chow E, Kong APS, et al. Higher incidence of cardiovascular-kidney complications in Chinese with youth-onset type 2 diabetes versus youth-onset type 1 diabetes attenuated by control of cardio-metabolic risk factors: A population-based prospective cohort study in Hong Kong. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. el 1 de agosto de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];202:110728. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822723004916>
26. Wu H, Patterson CC, Zhang X, Ghani RBA, Magliano DJ, Boyko EJ, et al. Worldwide estimates of incidence of type 2 diabetes in children and adolescents in 2021. Diabetes Res Clin Pract [Internet]. el 1 de marzo de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];185:109785. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168822722005976>
27. Carrillo-Larco RM, Bernabé-Ortiz A. Diabetes mellitus tipo 2 en Perú: una revisión sistemática sobre la prevalencia e incidencia en población general. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. el 8 de marzo de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];36(1):26. Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/4027>
28. Instituto Nacional de Estadística e Informática [Internet]. [citado el 1 de agosto de 2024]. Disponible en: <https://m.inei.gob.pe/prensa/noticias/el-608-de-la-poblacion-de-60-y-mas-anos-de-edad-presento-al-menos-una-comorbilidad-en-el-ano-2022-14399/>

29. Chatterjee S, Khunti K, Davies MJ. Type 2 diabetes. The Lancet [Internet]. el 3 de junio de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];389(10085):2239–51. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673617300582>
30. Torrades Oliva S. Diabetes mellitus tipo 2: una nueva epidemia. Offarm: farmacia y sociedad, ISSN 0212-047X, ISSN-e 1578-1569, Vol 25, N° 5 (MAY), 2006, págs 96-101 [Internet]. 2006 [citado el 1 de agosto de 2024];25(5):96–101. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5324693>
31. Andrés Reyes Sanamé F, Luisa Pérez Álvarez M, Alfonso Figueredo E, Ramírez Estupiñan M, Jiménez Rizo Y, Luis Fernández Hernández Baquero Moa Holguín Cuba G. Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. [citado el 1 de agosto de 2024]; Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812016000100009&nrm=iso
32. Xu L, Li Y, Dai Y, Peng J. Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. Pharmacol Res [Internet]. el 1 de abril de 2018 [citado el 1 de agosto de 2024];130:451–65. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661817315190>
33. Otsuka M, Huang J, Tanaka T, Sakata I. Identification of glucagon like peptide-1 (GLP-1) in mice stomach. Biochem Biophys Res Commun [Internet]. el 16 de abril de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];704:149708. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38417346>
34. Hwang JI, Yun S, Moon MJ, Park CR, Seong JY. MOLECULAR EVOLUTION OF GPCRS: GLP1/GLP1 receptors. J Mol Endocrinol [Internet]. el 1 de junio de 2014 [citado el 1 de agosto de 2024];52(3):T15–27. Disponible en: <https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/52/3/T15.xml>
35. Alicic RZ, Cox EJ, Neumiller JJ, Tuttle KR. Glucagon-like Peptide-1 Receptor Agonists (GLP1-RA). Diabetes and Kidney Disease, Second Edition [Internet]. el 1 de enero de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];563–82. Disponible en: https://ezproxy.ucsm.edu.pe:2178/chapter/10.1007/978-3-030-86020-2_26
36. Ren W, Chen J, Wang W, Li Q, Yin X, Zhuang G, et al. Sympathetic nerve-enteroendocrine L cell communication modulates GLP-1 release, brain glucose utilization, and cognitive function. Neuron [Internet]. el 20 de marzo de 2024 [citado

- el 1 de agosto de 2024];112(6):972-990.e8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627323009716>
37. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* [Internet]. el 1 de mayo de 2007 [citado el 1 de agosto de 2024];132(6):2131–57. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S001650850700580X>
38. Knihš VM, Filippin-Monteiro FB. GLP1R (glucagon-like-peptide-1 incretin receptor), diabetes and obesity phenotypes: An in silico approach revealed new pathogenic variants. *Diabetes Metab Syndr* [Internet]. el 1 de febrero de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];18(2):102956. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/38364583>
39. Kang S, Kim NH, Yu YG. Identification of novel positive allosteric modulators of GLP1R that stimulate its interaction with ligands and G α subunits. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. el 30 de octubre de 2021 [citado el 1 de agosto de 2024];583:162–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34739856>
40. Gao W, Liu L, Huh E, Gbahou F, Cecon E, Oshima M, et al. Human GLP1R variants affecting GLP1R cell surface expression are associated with impaired glucose control and increased adiposity. *Nat Metab* [Internet]. el 14 de octubre de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];5(10):1673–84. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/37709961>
41. Zaccolo M. Spatial control of cAMP signalling in health and disease. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. el 1 de diciembre de 2011 [citado el 1 de agosto de 2024];11(6):649–55. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471489211001810>
42. Tomas A, Jones B, Leech C. New Insights into Beta-Cell GLP-1 Receptor and cAMP Signaling. *J Mol Biol* [Internet]. el 6 de marzo de 2020 [citado el 1 de agosto de 2024];432(5):1347–66. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283619305182>
43. Holz GG, Chepurny OG. Diabetes outfoxed by GLP-1? *Sci STKE* [Internet]. el 25 de enero de 2005 [citado el 1 de agosto de 2024];2005(268):pe2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15671479>

44. Torgersen KM, Vang T, Abrahamsen H, Yaqub S, Taskén K. Molecular mechanisms for protein kinase A-mediated modulation of immune function. *Cell Signal* [Internet]. el 1 de enero de 2002 [citado el 1 de agosto de 2024];14(1):1–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0898656801002145>
45. Smith NK, Hackett TA, Galli A, Flynn CR. GLP-1: Molecular mechanisms and outcomes of a complex signaling system. *Neurochem Int* [Internet]. el 1 de septiembre de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];128:94–105. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0197018619300993>
46. Xiao Q, Wang D, Li D, Huang J, Ma F, Zhang H, et al. Protein kinase C: A potential therapeutic target for endothelial dysfunction in diabetes. *J Diabetes Complications* [Internet]. el 1 de septiembre de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];37(9):108565. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1056872723001630>
47. Lester LB, Langeberg LK, Scott JD. Anchoring of protein kinase A facilitates hormone-mediated insulin secretion. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. el 23 de diciembre de 1997 [citado el 1 de agosto de 2024];94(26):14942–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9405718>
48. Pinzon CE, Serrano ML, Sanabria MC. Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. [citado el 1 de agosto de 2024]; Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-72732009000200007
49. Zhang W, Wu N, Wang H, Mao G, Yan X, Zhang F, et al. Sulfated fuco-mannoglucuronogalactan alleviates pancreatic beta cell senescence via PI3K/AKT/FoxO1 pathway. *Int J Biol Macromol* [Internet]. el 1 de mayo de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];236:123846. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36863675>
50. Hayes MR, Leichner TM, Zhao S, Lee GS, Chowansky A, Zimmer D, et al. Intracellular Signals Mediating the Food Intake-Suppressive Effects of Hindbrain Glucagon-like Peptide-1 Receptor Activation. *Cell Metab* [Internet]. el 2 de marzo de 2011 [citado el 1 de agosto de 2024];13(3):320–30. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413111000453>
51. Samson SL, Garber AJ. Prevention of type 2 Diabetes Mellitus: Potential of pharmacological agents. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* [Internet]. el 1 de

- junio de 2016 [citado el 1 de agosto de 2024];30(3):357–71. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521690X16300227>
52. Ojo OA, Ibrahim HS, Rotimi DE, Ogunlakin AD, Ojo AB. Diabetes mellitus: From molecular mechanism to pathophysiology and pharmacology. *Med Nov Technol Devices*. el 1 de septiembre de 2023;19:100247.
53. Ghusn W, Hurtado MD, Acosta A. Weight-centric treatment of type 2 diabetes mellitus. *Obesity Pillars* [Internet]. el 1 de diciembre de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];4:100045. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2667368122000365>
54. Fain JA, Miller DK. Pharmacologic Interventions for Type 1 and Type 2 Diabetes. *Nursing Clinics of North America* [Internet]. el 1 de diciembre de 2006 [citado el 1 de agosto de 2024];41(4):589–604. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0029646506000557>
55. Wright JJ, Tylee TS. Pharmacologic Therapy of Type 2 Diabetes. *Medical Clinics of North America* [Internet]. el 1 de julio de 2016 [citado el 1 de agosto de 2024];100(4):647–63. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025712516000444>
56. Long B, Pelletier J, Koyfman A, Bridwell RE. GLP-1 agonists: A review for emergency clinicians. *Am J Emerg Med* [Internet]. el 1 de abril de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];78:89–94. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735675724000111>
57. Dever M. Updates for treatments for youth with type 2 diabetes mellitus and obesity. *J Pediatr Nurs* [Internet]. el 1 de marzo de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];75:224–5. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882596324000320>
58. López-Jaramillo P, Velandia C, Castillo G, Sánchez T, Álvarez J. Análogos de incretina e inhibidores de la DPP-4: ¿qué papel desempeñan en la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares? *Revista Colombiana de Cardiología* [Internet]. el 1 de septiembre de 2013 [citado el 1 de agosto de 2024];20(5):287–99. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S012056331370072X>

59. Gupta A, Jelinek HF, Al-Aubaidy H. Glucagon like peptide-1 and its receptor agonists: Their roles in management of Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* [Internet]. el 1 de julio de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];11(3):225–30. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871402116302028>
60. Sachinidis A, Nikolic D, Stoian AP, Papanas N, Tarar O, Rizvi AA, et al. Cardiovascular outcomes trials with incretin-based medications: a critical review of data available on GLP-1 receptor agonists and DPP-4 inhibitors. *Metabolism* [Internet]. el 1 de octubre de 2020 [citado el 1 de agosto de 2024];111:154343. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0026049520302079>
61. Singh AK, Singh R, Misra A. Oral semaglutide in type 2 diabetes mellitus: Comprehensive review, critical appraisal and clinical consideration of its use in India. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* [Internet]. el 1 de marzo de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];16(3):102436. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871402122000509>
62. Singh AK, Singh R, Singh A, Misra A. Efficacy and safety of oral semaglutide in type 2 diabetes: A systematic review of real-world evidence. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews* [Internet]. el 1 de mayo de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];18(5):103024. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1871402124000857>
63. Xu L, Li Y, Dai Y, Peng J. Natural products for the treatment of type 2 diabetes mellitus: Pharmacology and mechanisms. *Pharmacol Res* [Internet]. el 1 de abril de 2018 [citado el 1 de agosto de 2024];130:451–65. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043661817315190>
64. Redij T, Ma J, Li Z, Hua X, Li Z. Discovery of a potential positive allosteric modulator of glucagon-like peptide 1 receptor through virtual screening and experimental study. *J Comput Aided Mol Des* [Internet]. el 1 de noviembre de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];33(11):973–81. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31758355>
65. Gainza-Cirauqui P, Correia BE. Computational protein design — the next generation tool to expand synthetic biology applications. *Curr Opin Biotechnol* [Internet]. el 1

- de agosto de 2018 [citado el 1 de agosto de 2024];52:145–52. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958166917302355>
66. Mészáros B, Park E, Malinverni D, Sejdiu BI, Immadisetty K, Sandhu M, et al. Recent breakthroughs in computational structural biology harnessing the power of sequences and structures. *Curr Opin Struct Biol* [Internet]. el 1 de junio de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];80:102608. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959440X23000829>
67. Soni N, Madhusudhan MS. Computational modeling of protein assemblies. *Curr Opin Struct Biol*. el 1 de junio de 2017;44:179–89.
68. Khan FI, Wei DQ, Gu KR, Hassan MI, Tabrez S. Current updates on computer aided protein modeling and designing. *Int J Biol Macromol*. el 1 de abril de 2016;85:48–62.
69. Khakshoor O, Nowick JS. Artificial β -sheets: chemical models of β -sheets. *Curr Opin Chem Biol* [Internet]. el 1 de diciembre de 2008 [citado el 1 de agosto de 2024];12(6):722–9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136759310800121X>
70. Bittrich S, Bhikadiya C, Bi C, Chao H, Duarte JM, Dutta S, et al. RCSB Protein Data Bank: Efficient Searching and Simultaneous Access to One Million Computed Structure Models Alongside the PDB Structures Enabled by Architectural Advances. *J Mol Biol* [Internet]. el 15 de julio de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];435(14):167994. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283623000505>
71. Burley SK, Piehl DW, Vallat B, Zardecki C. RCSB Protein Data Bank: supporting research and education worldwide through explorations of experimentally determined and computationally predicted atomic level 3D biostructures. *IUCrJ* [Internet]. el 1 de mayo de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];11(3):279–86. Disponible en: <https://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S2052252524002604>
72. Paiva V de A, Gomes I de S, Monteiro CR, Mendonça MV, Martins PM, Santana CA, et al. Protein structural bioinformatics: An overview. *Comput Biol Med*. el 1 de agosto de 2022;147:105695.

73. Dubbeldam D, Vreede J, Vlugt TJ, Calero S. Highlights of (bio-)chemical tools and visualization software for computational science. *Curr Opin Chem Eng.* el 1 de marzo de 2019;23:1–13.
74. Lozano-Aponte J, Scior T. ¿Qué sabe Ud. Acerca de... Dinámica Molecular? *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas* [Internet]. 2014 [citado el 1 de agosto de 2024];45(1):86–8. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952014000100010&lng=es&nrm=iso&tlng=es
75. Yu D, Li H, Liu Y, Yang X, Yang W, Fu Y, et al. Application of the molecular dynamics simulation GROMACS in food science. *Food Research International* [Internet]. el 1 de agosto de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];190:114653. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996924007233>
76. Bao G. Mechanics of biomolecules. *J Mech Phys Solids* [Internet]. el 1 de noviembre de 2002 [citado el 1 de agosto de 2024];50(11):2237–74. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022509602000352>
77. Sant’Anna CMR. Molecular modeling methods in the study and design of bioactive compounds: An introduction. *Revista Virtual de Química* [Internet]. 2009 [citado el 1 de agosto de 2024];1(1):49–57. Disponible en: https://rvq.s bq.org.br/audiencia_pdf.asp?aid2=624&nomeArquivo=v1n1a07.pdf
78. Sakae Y, Okamoto Y. Optimization of protein force-field parameters with the Protein Data Bank. *Chem Phys Lett* [Internet]. el 15 de diciembre de 2003 [citado el 1 de agosto de 2024];382(5–6):626–36. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009261403018207>
79. Huang J, MacKerell AD. Force field development and simulations of intrinsically disordered proteins. *Curr Opin Struct Biol* [Internet]. el 1 de febrero de 2018 [citado el 1 de agosto de 2024];48:40–8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959440X17301148>
80. Aldeghi M, Biggin PC. Advances in Molecular Simulation. En: *Comprehensive Medicinal Chemistry III* [Internet]. Elsevier; 2017 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 14–33. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780124095472123431>

81. Hollingsworth SA, Dror RO. Molecular Dynamics Simulation for All. *Neuron* [Internet]. el 19 de septiembre de 2018 [citado el 1 de agosto de 2024];99(6):1129–43. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896627318306846>
82. Tidor B. Molecular dynamics simulations. *Current Biology* [Internet]. el 1 de septiembre de 1997 [citado el 1 de agosto de 2024];7(9):R525–7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960982206002697>
83. Binder K, Horbach J, Kob W, Paul W, Varnik F. Molecular dynamics simulations. *Journal of Physics: Condensed Matter* [Internet]. el 11 de febrero de 2004 [citado el 1 de agosto de 2024];16(5):S429–53. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0953-8984/16/5/006>
84. Roe DR, Brooks BR. A protocol for preparing explicitly solvated systems for stable molecular dynamics simulations. *J Chem Phys* [Internet]. el 7 de agosto de 2020 [citado el 1 de agosto de 2024];153(5):054123. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32770927>
85. De Vivo M, Masetti M, Bottegoni G, Cavalli A. Role of Molecular Dynamics and Related Methods in Drug Discovery. *J Med Chem* [Internet]. el 12 de mayo de 2016 [citado el 1 de agosto de 2024];59(9):4035–61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26807648>
86. Knapp B, Frantal S, Cibena M, Schreiner W, Bauer P. Is an intuitive convergence definition of molecular dynamics simulations solely based on the root mean square deviation possible? *J Comput Biol* [Internet]. el 1 de agosto de 2011 [citado el 1 de agosto de 2024];18(8):997–1005. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21702691>
87. Farmer J, Kanwal F, Nikulsin N, Tsilimigras M, Jacobs D. Statistical Measures to Quantify Similarity between Molecular Dynamics Simulation Trajectories. *Entropy* [Internet]. el 29 de noviembre de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];19(12):646. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1099-4300/19/12/646>
88. Coutsiias EA, Wester MJ. RMSD and Symmetry. *J Comput Chem* [Internet]. el 5 de junio de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];40(15):1496–508. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcc.25802>

89. Martínez L. Automatic Identification of Mobile and Rigid Substructures in Molecular Dynamics Simulations and Fractional Structural Fluctuation Analysis. *PLoS One* [Internet]. el 27 de marzo de 2015 [citado el 1 de agosto de 2024];10(3):e0119264. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0119264>
90. Kuzmanic A, Zagrovic B. Determination of ensemble-average pairwise root mean-square deviation from experimental B-factors. *Biophys J* [Internet]. el 3 de marzo de 2010 [citado el 1 de agosto de 2024];98(5):861–71. Disponible en: <http://www.cell.com/article/S000634950901738X/fulltext>
91. Tanner JJ. Empirical power laws for the radii of gyration of protein oligomers. *Acta Crystallogr D Struct Biol* [Internet]. el 1 de octubre de 2016 [citado el 1 de agosto de 2024];72(Pt 10):1119–29. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27710933>
92. Bagewadi ZK, Yunus Khan TM, Gangadharappa B, Kamalapurkar A, Mohamed Shamsudeen S, Yaraguppi DA. Molecular dynamics and simulation analysis against superoxide dismutase (SOD) target of *Micrococcus luteus* with secondary metabolites from *Bacillus licheniformis* recognized by genome mining approach. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. el 1 de septiembre de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];30(9):103753. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1319562X23001985>
93. Fan J, Fu A, Zhang L. Progress in molecular docking. *Quantitative Biology* [Internet]. el 1 de junio de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];7(2):83–9. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1007/s40484-019-0172-y>
94. Pagadala NS, Syed K, Tuszynski J. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev* [Internet]. el 16 de abril de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];9(2):91–102. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/s12551-016-0247-1>
95. Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci* [Internet]. el 4 de septiembre de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];20(18):4331. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4331>
96. Wang E, Sun H, Wang J, Wang Z, Liu H, Zhang JZH, et al. End-Point Binding Free Energy Calculation with MM/PBSA and MM/GBSA: Strategies and Applications in Drug Design. *Chem Rev* [Internet]. el 28 de agosto de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];19(18):11173–11203. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00311>

- 2024];119(16):9478–508. Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31244000>
97. Kumari R, Kumar R, Open Source Drug Discovery Consortium, Lynn A. g_mmpbsa-a GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J Chem Inf Model* [Internet]. el 28 de julio de 2014 [citado el 1 de agosto de 2024];54(7):1951–62. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24850022>
98. Genheden S, Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin Drug Discov* [Internet]. el 4 de mayo de 2015 [citado el 1 de agosto de 2024];10(5):449–61. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17460441.2015.1032936>
99. Tabassum M, Mathew K. Software evolution analysis of linux (Ubuntu) OS. En: 2014 International Conference on Computational Science and Technology (ICCST) [Internet]. IEEE; 2014 [citado el 1 de agosto de 2024]. p. 1–7. Disponible en: <http://ieeexplore.ieee.org/document/7045194/>
100. Bianco AM, Marcuzzi A, Zanin V, Girardelli M, Vuch J, Crovella S. Database tools in genetic diseases research. *Genomics* [Internet]. el 1 de febrero de 2013 [citado el 1 de agosto de 2024];101(2):75–85. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0888754312002091>
101. Westbrook JD, Burley SK. How Structural Biologists and the Protein Data Bank Contributed to Recent FDA New Drug Approvals. *Structure* [Internet]. el 5 de febrero de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];27(2):211–7. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096921261830426X>
102. Dutta S, Berman HM. Large macromolecular complexes in the Protein Data Bank: a status report. *Structure* [Internet]. el 1 de marzo de 2005 [citado el 1 de agosto de 2024];13(3):381–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15766539>
103. Cheng T, Pan Y, Hao M, Wang Y, Bryant SH. PubChem applications in drug discovery: a bibliometric analysis. *Drug Discov Today* [Internet]. el 1 de noviembre de 2014 [citado el 1 de agosto de 2024];19(11):1751–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25168772>
104. Kim S, Cheng T, He S, Thiessen PA, Li Q, Gindulyte A, et al. PubChem Protein, Gene, Pathway, and Taxonomy Data Collections: Bridging Biology and Chemistry

- through Target-Centric Views of PubChem Data. *J Mol Biol* [Internet]. el 15 de junio de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];434(11):167514. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283622000882>
105. Irwin JJ, Tang KG, Young J, Dandarchuluun C, Wong BR, Khurelbaatar M, et al. ZINC20-A Free Ultralarge-Scale Chemical Database for Ligand Discovery. *J Chem Inf Model* [Internet]. el 28 de diciembre de 2020 [citado el 1 de agosto de 2024];60(12):6065–73. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33118813>
106. Yang Z, Lasker K, Schneidman-Duhovny D, Webb B, Huang CC, Pettersen EF, et al. UCSF Chimera, MODELLER, and IMP: an integrated modeling system. *J Struct Biol* [Internet]. el 1 de septiembre de 2012 [citado el 1 de agosto de 2024];179(3):269–78. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21963794>
107. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, et al. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *J Comput Chem* [Internet]. el 1 de octubre de 2004 [citado el 1 de agosto de 2024];25(13):1605–12. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15264254>
108. Goddard TD, Huang CC, Ferrin TE. Visualizing density maps with UCSF Chimera. *J Struct Biol* [Internet]. el 1 de enero de 2007 [citado el 1 de agosto de 2024];157(1):281–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16963278>
109. Dubbeldam D, Vreede J, Vlugt TJ, Calero S. Highlights of (bio-)chemical tools and visualization software for computational science. *Curr Opin Chem Eng* [Internet]. el 1 de marzo de 2019 [citado el 1 de agosto de 2024];23:1–13. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211339818300728>
110. Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Eng* [Internet]. el 1 de febrero de 1995 [citado el 1 de agosto de 2024];8(2):127–34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7630882>
111. Laskowski RA, Swindells MB. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J Chem Inf Model* [Internet]. el 24 de octubre de 2011 [citado el 1 de agosto de 2024];51(10):2778–86. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21919503>

112. O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open Babel: An open chemical toolbox. *J Cheminform* [Internet]. el 7 de octubre de 2011 [citado el 1 de agosto de 2024];3(10):33. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21982300>
113. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem* [Internet]. el 30 de enero de 2010 [citado el 1 de agosto de 2024];31(2):455–61. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19499576>
114. Sarkar A, Concilio S, Sessa L, Marrafino F, Piotto S. Advancements and novel approaches in modified AutoDock Vina algorithms for enhanced molecular docking. *Results Chem* [Internet]. el 1 de enero de 2024 [citado el 1 de agosto de 2024];7:101319. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211715624000158>
115. Dodda LS, Vilseck JZ, Tirado-Rives J, Jorgensen WL. 1.14*CM1A-LBCC: Localized Bond-Charge Corrected CM1A Charges for Condensed-Phase Simulations. *J Phys Chem B* [Internet]. el 20 de abril de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];121(15):3864–70. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28224794>
116. Sonibare K, Rathnayaka L, Zhang L. Comparison of CHARMM and OPLS-aa forcefield predictions for components in one model asphalt mixture. *Constr Build Mater* [Internet]. el 10 de marzo de 2020 [citado el 1 de agosto de 2024];236:117577. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0950061819330296>
117. MTiOpenScreen [Internet]. [citado el 1 de agosto de 2024]. Disponible en: <https://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/services/MTiOpenScreen/#overview>
118. Schöning-Stierand K, Diedrich K, Ehrt C, Flachsenberg F, Graef J, Sieg J, et al. ProteinsPlus: a comprehensive collection of web-based molecular modeling tools. *Nucleic Acids Res* [Internet]. el 5 de julio de 2022 [citado el 1 de agosto de 2024];50(W1):W611–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35489057>
119. Fährrolfes R, Bietz S, Flachsenberg F, Meyder A, Nittinger E, Otto T, et al. ProteinsPlus: a web portal for structure analysis of macromolecules. *Nucleic Acids*

- Res [Internet]. el 3 de julio de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];45(W1):W337–43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28472372>
120. Dodda LS, Cabeza de Vaca I, Tirado-Rives J, Jorgensen WL. LigParGen web server: an automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. *Nucleic Acids Res* [Internet]. el 3 de julio de 2017 [citado el 1 de agosto de 2024];45(W1):W331–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28444340>
121. Laskowski RA, Jabłońska J, Pravda L, Vařeková RS, Thornton JM. PDBsum: Structural summaries of PDB entries. *Protein Sci* [Internet]. el 1 de enero de 2018 [citado el 1 de agosto de 2024];27(1):129–34. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28875543>
122. Laskowski RA. PDBsum: summaries and analyses of PDB structures. *Nucleic Acids Res* [Internet]. el 1 de enero de 2001 [citado el 1 de agosto de 2024];29(1):221–2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11125097>
123. Park SW, Lee BH, Song SH, Kim MK. Revisiting the Ramachandran plot based on statistical analysis of static and dynamic characteristics of protein structures. *J Struct Biol* [Internet]. el 1 de marzo de 2023 [citado el 1 de agosto de 2024];215(1):107939. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/36707040>
124. Sobolev O V, Afonine P V, Moriarty NW, Hekkelman ML, Joosten RP, Perrakis A, et al. A Global Ramachandran Score Identifies Protein Structures with Unlikely Stereochemistry. *Structure* [Internet]. el 3 de noviembre de 2020 [citado el 1 de agosto de 2024];28(11):1249-1258.e2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32857966>

ANEXOS

Figura A.1: Secuencia aminoacídica del receptor GLP1R modelada.

```

1 MKT I I A L S Y I F C L V F A D Y K D D D D L E V L F Q G P A R P Q G A T V S L W E T V Q K W R E
51 Y R R Q C Q R S L T E D P P P A T D L F C N R T F D E Y A C W P D G E P G S F V N V S C P W Y L P W
101 A S S V P Q G X V Y R F C T A E G L W L Q K D N S S L P W R D L S E C E E S K R G E R S S P E E Q L
151 L F L Y I I Y T V G Y A L S F S A L V I A S A I L L G F R X L X C T R N Y I X L N L F A S F I L R A
201 L S V F I K D A A L K W M Y S T A A Q Q X Q W D G L L S Y Q D S L S C R L V F L L M Q Y C V A A N Y
251 Y W L L V E G V Y L Y T L L A F S V F S E Q W I F R L Y V S I G W G V P L L F V V P W G I V K Y L Y
301 E D E G C W T R N S N M N Y W L I I R L P I L F A I G V N F L I F V R V I C I V V S K L K A N L M C
351 K T D I K C R L A K S T L T L I P L L G T X E V I F A F V M D E X A R G T L R F I K L F T E L S F T
401 S F Q G L M V A I L Y C F V N N E V Q L E F R K S W E R W R L E H L H I Q R D S S M K P L K C P T S
451 S L S S G A T A G S S M Y T A T C Q A S C S P A G L E V L F Q G F H H H H H H H H
    
```

Esta figura muestra la secuencia completa de aminoácidos del receptor GLP1R. Las regiones resaltadas en amarillo y verde corresponden a posibles sitios clave funcionales o estructurales identificados a través del análisis computacional. Esta secuencia se observó mediante UCSF Chimera.

Figura A.2. Alineación de la secuencia del receptor GLP1R con una proteína homóloga en la base de datos UniProt.

Alineación de secuencia entre byu7(A) y UniProt seq:

UniProt:

```

secuencia PDB: MKTIIALS YIFCLVFADYKDDDDLEVL FQGP ARPQGATVSLWETVQKWREYRRQ
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
      10  20  30  40  50  60  70  80  90 100 110 120 130 140 150
CQRSLTEDPPPATDLFCNRTFDEYACWPDGEPGSFVNVS CPWYLPWASSVPQGHVYRFCTA EGLWLQKDNSS
+- -----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
      160 170 180 190 200 210 220 230 240 250 260 270 280 290 300 310 320 330
LPWRDLSECEESKRGERSSPEEQLLFLYIIYTVGYALSFSALVIASAILLGFRLHLCRNYIHLNLFASFI
-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+-----+
      340 350 360 370 380 390 400 410 420 430 440 450 460 470 480 490
    
```

Esta figura muestra la alineación entre la secuencia modelo del receptor GLP1R y su proteína homóloga en UniProt. Se destacan las coincidencias y divergencias en las regiones clave, lo que permite inferir la conservación funcional y estructural del receptor. Alineación proporcionada por el análisis en el servidor PDBsum.

Figura A.3: Secuencia nucleotídica del receptor GLP1R modelada

```

atgaaaaccattattgcgctgagctatattttttgacctggtggttgcggattataaagat
gatgatgatctggaagtgctgttttcagggcccgccgcccgcagggcgcgaccgtgagc
ctgtgggaaaccgtgcagaaatggcgcgaatatcgccgccagtgccagcgcagcctgacc
gaagatccgcccgcggcgaccgatctgttttgcaaccgcacctttgatgaatatgctgtgc
tggccggatggcgaaccgggcagctttgtgaacgtgagctgcccgtggatctgcccgtgg
gcgagcagcgtgcccgcagggcnnngtgtatcgcttttgcaccgcggaaggcctgtggctg
cagaaagataaacagcagcctgcccgtggcgcgatctgagcgaatgcgaagaaagcaaacgc
ggcgaacgcagcagcccggaagaacagctgctgtttctgtatattattataccgtgggc
tatgcgctgagctttagcgcgctgggtgattgcgagcgcgattctgctgggctttcgennn
ctgnntgcaaccgcaactatattnnctgaacctgtttgcgagctttattctgcgcgcg
ctgagcgtgtttattaaagatgcggcgctgaaatggatgtatagcaccgcggcgcagcag
nncagtgggatggcctgctgagctatcaggatagcctgagctgcccgcctgggtgtttctg
ctgatgcagatttgcgtggcggcgaactattattggctgctgggtggaaggcgtgtatctg
tataccctgctggcgttttagcgtgtttagcgaacagtggatttttgcctgtatgtgagc
attggctggggcgtgcccgtgctgtttgtgggtgcccgtggggcattgtgaaatatctgtat
gaagatgaaggctgctggaccgcgaacagcaacatgaactattggctgattattcgccctg
ccgattctgtttgcgattggcgtgaactttctgatttttgtgcgcgtgatttgcattgtg
gtgagcaaacctgaaagcgaacctgatgtgcaaaaccgatattaaatgccgcctggcgaaa
agcaccctgaccctgattccgctgctgggcaccnngaagtgatttttgcgtttgtgatg
gatgaannngcgcgcggcaccctgcccgtttattaaactgtttaccgaactgagctttacc
agctttcagggcctgatgggtggcgattctgtattgctttgtgaacaacgaagtgcagctg
gaatttcgcaaaaagctgggaacgctggcgcctggaacatctgcatattcagcgcgatagc
agcatgaaaccgctgaaatgcccgaccagcagcctgagcagcggcgcgaccgcgggcagc
agcatgtataccgcgacctgccagggcagctgcagccccggcgggctggaagtgcgtgtt
cagggctttcatcatcatcatcatcatcat
    
```

Esta figura presenta la posible secuencia de pares de bases que codifica el receptor GLP1R, obtenida mediante modelado computacional. Se incluye la información completa que corresponde al gen de este receptor. Propuesta presentada en base a la secuencia aminoacídica del Receptor de GLP1