

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



**ESTUDIO DE LA INTERACCION DEL RECEPTOR DE GLP – 1 CON LA GLP – 1 Y  
DIVERSOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL MAIZ MORADO MEDIANTE  
SIMULACION MOLECULAR**

Tesis presentada por el Bachiller:

**Rodriguez Soto, Johel Andree**

Para optar el Título Profesional de:

**Ingeniero Biotecnólogo**

Asesor:

**Dr. Gómez Valdez, Badhin**

**Arequipa – Perú**

**2023**

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**INGENIERIA BIOTECNOLOGICA**  
**TITULACIÓN CON TESIS**  
**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 18 de Abril del 2023

**Dictamen: 007221-C-EPIB-2023**

Visto el borrador del expediente 007221, presentado por:

**2017202491 - RODRIGUEZ SOTO JOHEL ANDREE**

Titulado:

**ESTUDIO DE LA INTERACCION DEL RECEPTOR DE GLP ? 1 CON LA GLP ? 1 Y DIVERSOS  
METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL MAIZ MORADO MEDIANTE SIMULACION MOLECULAR.**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

**42098888 - CORDOVA BARRIOS CINTHIA CAROL  
DICTAMINADOR**



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



**42671615 - CARPIO CARPIO JOSE MIGUEL  
DICTAMINADOR**



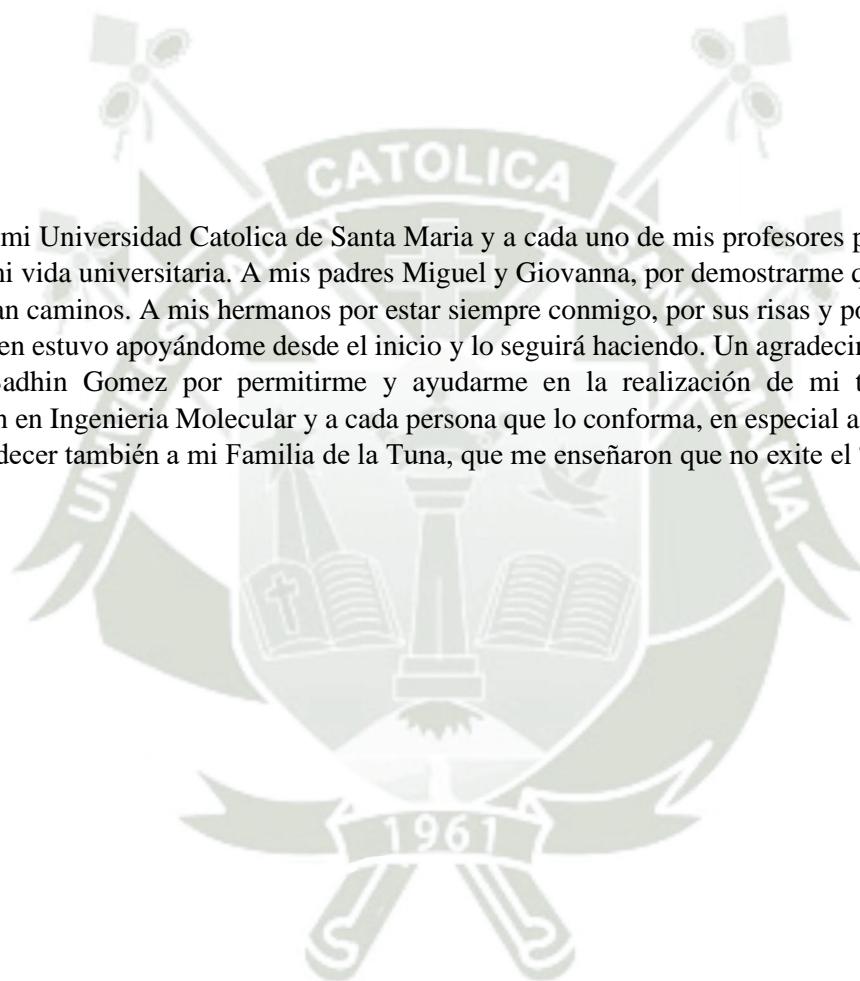


### **Dedicatoria**

Para todas las personas que pusieron un granito de arena en mi vida, no es necesario citarlas, porque si estan leyendo esta dedicatoria, son una de ellas.

## Agradecimientos

Agradecer a mi Universidad Católica de Santa María y a cada uno de mis profesores por sus enseñanzas a lo largo de mi vida universitaria. A mis padres Miguel y Giovanna, por demostrarme que con mano dura y amor se forjan caminos. A mis hermanos por estar siempre conmigo, por sus risas y por aguantarme. A mi Andreita quien estuvo apoyándome desde el inicio y lo seguirá haciendo. Un agradecimiento muy especial al Doctor Badhin Gomez por permitirme y ayudarme en la realización de mi tesis. Al Centro de Investigación en Ingeniería Molecular y a cada persona que lo conforma, en especial a mis amigos Brunito y Flor. Agradecer también a mi Familia de la Tuna, que me enseñaron que no existe el “no puedo”.



## RESUMEN

GLP – 1 es una hormona incretínica que tiene como tarea estimular la secreción de insulina dentro de las células  $\beta$  presentes en el páncreas, en el presente trabajo se realizó un estudio *in silico* investigando la interacción entre esta hormona, su receptor intermembranal y de diferentes metabolitos secundarios del maíz morado mediante dinámica molecular. Primero se realizó una dinámica molecular únicamente de la hormona a 100ns y del receptor intermembranal a 100ns, posteriormente un acoplamiento molecular entre GLP – 1 y su receptor, de la misma manera un acoplamiento molecular entre cada metabolito secundario del maíz morado y el receptor intermembranal de GLP – 1. Obteniendo como resultado 12 estructuras cuaternarias a las cuales se les realizaron dinámica molecular de 100ns cada una en condiciones fisiológicas. La evaluación de la energía libre de enlace se llevó a cabo mediante la mecánica molecular de área superficial de Poisson-Boltzmann (MM/PBSA). Este enfoque se empleó para analizar la variación en la afinidad del receptor de GLP-1 en relación con cada estructura acoplada.. Los resultados muestran que, de los 10 metabolitos secundarios utilizados en este trabajo, solo 8 presentaron energías favorables, dando a entender que hubo una unión espontánea, siendo el que presentaba mejor energía Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) - CDM. Para las hormonas GLP – 1 y GLP – 1 Amida, se encontraron energías de unión bastantes favorables, aunque CDM supero la energía de unión de GLP – 1 mas no de GLP – 1 Amida, siendo posible que estos 8 metabolitos y en especial CDM tengan potencial como análogos de GLP – 1.

**Palabras clave:** GLP – 1, metabolitos secundarios, maíz morado, dinámica molecular.

## ABSTRACT

GLP - 1 is an incretin hormone whose task is to stimulate insulin secretion within the  $\beta$  cells present in the pancreas, in the present work an *in silico* study was carried out investigating the interaction between this hormone, its intermembrane receptor and different metabolites. secondaries of purple corn by molecular dynamics. First, a molecular dynamics was carried out only of the hormone at 100ns and of the intermembranal receptor at 100ns, later a molecular coupling between GLP-1 and its receptor, in the same way a molecular coupling between each secondary metabolite of purple corn and the intermembranal receptor of GLP - 1. Obtaining as a result 12 quaternary structures to which molecular dynamics of 100ns each were performed under physiological conditions. The binding free energy was evaluated with Poisson-Boltzmann surface area molecular mechanics (MM/PBSA). This method was used to evaluate the variation of the affinity of the GLP-1 receptor with each coupled structure. The results show that, of the 10 secondary metabolites used in this work, only 8 presented favorable energies, implying that there was a spontaneous union, with Cyanidin-3-O(3,6-O-dimalonylglucoside) presenting the best energy. - CDM. For the hormones GLP - 1 and GLP - 1 Amide, quite favorable binding energies were found, although CDM exceeded the binding energy of GLP - 1 but not GLP - 1 Amide, it being possible that these 8 metabolites and especially CDM have potential as GLP-1 analogues.

**Keywords:** GLP - 1, secondary metabolites, purple corn, molecular dynamics.

## INDICE

Dedicatoria.....	iii
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
HIPÓTESIS.....	2
OBJETIVOS.....	3
CAPÍTULO 1.....	4
1. Marco teórico.....	5
1.1. Diabetes.....	5
1.1.1. Definición.....	5
1.1.2. Tipos de Diabetes.....	5
1.1.3. Diabetes Mellitus Tipo 2.....	5
1.2. GLP – 1.....	8
1.3. GLP – 1 Receptor.....	8
1.3.1. Vías de señalización.....	9
1.4. Maíz morado.....	11
1.4.1. Metabolitos Secundarios.....	13
1.5. Evidencia experimental.....	22
1.6. Biología computacional.....	24
1.6.1. Modelado de proteínas.....	24
1.6.2. Herramientas bioinformáticas.....	27
1.6.3. Dinámica molecular.....	27
1.6.4. Ensamble molecular.....	32
CAPÍTULO II.....	38
2. Metodología.....	39
2.1. Detalles computacionales.....	39
2.1.1. Hardware.....	39

2.1.2.	Base de datos .....	39
2.1.3.	Software.....	40
2.1.4.	Servidores .....	42
2.2.	Descriptores de estructura.....	42
2.2.1.	Diagrama De Ramachandran.....	42
2.3.	Metodología .....	43
2.3.1.	Obtención las estructuras terciaras de las proteínas y de los metabolitos secundarios presentes en el maíz morado. ....	43
2.3.2.	Obtención de las cargas de Hirshfeld para los metabolitos secundarios que interactuaran con el Receptor de la GLP – 1.....	44
2.3.3.	Simulación de dinámica molecular de estructuras terciarias de las proteínas .....	44
2.3.4.	Acoplamiento molecular.....	46
2.3.5.	Dinámica molecular de estructuras cuaternarias de las proteínas .....	46
2.3.6.	Análisis de los datos obtenidos a partir de las corridas de Simulación de las Dinámicas Moleculares. ....	47
CAPÍTULO III .....		49
3.	Resultados y Discusión .....	50
3.1.	Estructuras de las formas activas de la Hormona Similar al Glucagón tipo 1 .....	50
3.1.1.	GLP – 1.....	50
3.1.2.	Análisis de la estructura final obtenida.....	53
3.1.3.	GLP – 1 Amida.....	55
3.1.4.	Análisis de la estructura final obtenida.....	58
3.2.	Estructura del receptor intermenbranal de la hormona similar al glucagón tipo 1 .....	59
3.2.1.	GLP – 1R.....	59
3.2.2.	Análisis de la estructura final obtenida.....	66
3.3.	Minimización de las estructuras terciarias de las formas activas de la Hormona Similar al Glucagón Tipo 1 .....	68
3.3.1.	GLP – 1.....	68
3.3.2.	Análisis de la estructura minimizada obtenida.....	71
3.3.3.	GLP – 1 Amida.....	71

3.3.4.	Análisis de la estructura minimizada obtenida.....	75
3.4.	Minimización de la estructura terciaria de GLP – 1R .....	75
3.4.1.	GLP – 1R.....	75
3.4.2.	Análisis de la estructura minimizada obtenida.....	83
3.5.	Dinámica molecular de las formas activas de la hormona similar al glucagón tipo 1....	83
3.5.1.	GLP – 1.....	83
3.5.2.	GLP – 1 Amida.....	84
3.6.	Dinámica molecular del receptor intermenbranal GLP – 1R.....	91
3.6.1.	GLP – 1R.....	91
3.7.	Acoplamiento molecular.....	96
3.7.1.	Acoplamiento de GLP – 1 con GLP – 1R .....	97
3.7.2.	Acoplamiento de GLP – 1 Amida con GLP – 1R .....	99
3.7.3.	Acoplamiento de CDA con GLP – 1R .....	101
3.7.4.	Acoplamiento de CDM con GLP – 1R.....	103
3.7.5.	Acoplamiento de CGS con GLP – 1R.....	104
3.7.6.	Acoplamiento de PDA con GLP – 1R.....	106
3.7.7.	Acoplamiento de PDM con GLP – 1R.....	107
3.7.8.	Acoplamiento de PEG con GLP – 1R .....	109
3.7.9.	Acoplamiento de PEM con GLP – 1R .....	110
3.7.10.	Acoplamiento de PGG con GLP – 1R.....	112
3.7.11.	Acoplamiento de PMG con GLP – 1R.....	113
3.7.12.	Acoplamiento de POG con GLP – 1R.....	115
3.8.	Dinámica molecular de estructuras cuaternarias.....	116
3.8.1.	Dinámica molecular de CDA con GLP – 1R .....	117
3.8.2.	Dinamica molecular de CDM con GLP – 1R.....	119
3.8.3.	Dinamica molecular de CGS con GLP – 1R.....	121
3.8.4.	Dinámica molecular de PDA con GLP – 1R.....	123
3.8.5.	Dinámica molecular de PDM con GLP – 1R.....	125
3.8.6.	Dinámica molecular de PEG con GLP – 1R .....	127
3.8.7.	Dinámica molecular de PEM con GLP – 1R.....	129
3.8.8.	Dinámica molecular de PGG con GLP – 1R.....	131

3.8.9.	Dinámica molecular de PMG con GLP – 1R .....	133
3.8.10.	Dinámica molecular de POG con GLP – 1R.....	135
3.8.11.	Dinámica molecular de GLP – 1 con GLP – 1R .....	137
3.8.12.	Dinámica molecular de GLP – 1 Amida con GLP – 1R .....	140
3.9.	Estabilidad estructural de estructuras cuaternarias .....	143
3.9.1.	Estabilidad estructural del complejo metabolitos secundarios - receptor.....	143
3.9.2.	Estabilidad estructural del complejo hormona-proteína.....	148
3.10.	Cálculo de energía de afinidad en estructuras cuaternarias .....	151
3.10.1.	Energía de afinidad en el complejo CDA-GLP – 1R .....	151
3.10.2.	Energía de afinidad en el complejo CDM-GLP – 1R.....	153
3.10.3.	Energía de afinidad en el complejo CGS-GLP – 1R.....	155
3.10.4.	Energía de afinidad en el complejo PDA-GLP – 1R.....	158
3.10.5.	Energía de afinidad en el complejo PDM-GLP – 1R.....	161
3.10.6.	Energía de afinidad en el complejo PEG-GLP – 1R .....	163
3.10.7.	Energía de afinidad en el complejo PEM-GLP – 1R .....	165
3.10.8.	Energía de afinidad en el complejo PGG-GLP – 1R.....	167
3.10.9.	Energía de afinidad en el complejo PMG-GLP – 1R.....	169
3.10.10.	Energía de afinidad en el complejo POG-GLP – 1R.....	172
3.10.11.	Energía de afinidad en el complejo GLP – 1-GLP – 1R .....	174
3.10.12.	Energía de afinidad en el complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R .....	177
CONCLUSIONES.....		181
RECOMENDACIONES .....		184
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....		185

## INDICE DE TABLAS

Tabla 3.1 Hélices $\alpha$ presentes en GLP – 1.....	51
Tabla 3.2 Giros $\beta$ presentes en GLP – 1.....	51
Tabla 3.3 Giro $\gamma$ presente en GLP – 1.....	52
Tabla 3.4 Contactos defectuosos.....	54
Tabla 3.5 Hélices $\alpha$ presentes en GLP – 1 Amida.....	56
Tabla 3.6 Giros $\beta$ presentes en GLP – 1 Amida.....	56
Tabla 3.7 Giro $\gamma$ presente en GLP – 1 Amida.....	57
Tabla 3.8 Contactos Defectuosos.....	59
Tabla 3.9 Hélices $\alpha$ presentes en GLP – 1R.....	61
Tabla 3.10 Giros $\beta$ presentes en GLP – 1R.....	62
Tabla 3.11 Giro $\gamma$ presentes en GLP – 1R.....	63
Tabla 3.12 Hojas $\beta$ presentes en GLP – 1R.....	64
Tabla 3.13 $\beta$ strands que conforman las hojas $\beta$ presentes en GLP – 1R.....	64
Tabla 3.14 Puentes disulfuros presentes en GLP – 1R.....	65
Tabla 3.15: Estos contactos se dan entre dos residuos. En la tabla se visualiza el tipo de residuo, el átomo interactuante, el número de residuo y la interacción que se da entre estos dos pares de residuos. Hay dos tipos de contacto, la primera es cadena lateral con cadena lateral (S-S) y la segunda cadena lateral con cadena principal (S-M).....	67
Tabla 3.16: Se muestra la hélice $\alpha$ presente en la estructura de GLP – 1, se observa el residuo inicial y final de la hélice, su tipo, el número de residuos que las conforman y su secuencia aminoacídica.....	69
Tabla 3.17: Se visualiza el inicio y final de los giros $\beta$ , la secuencia de residuos, los ángulos $\phi$ , $\psi$ y $\xi$ del segundo y tercer residuo.....	69

Tabla 3.18: Se muestra las hélices $\alpha$ presentes en la estructura de GLP – 1 Amida, se observa el residuo inicial y final de la hélice, su tipo, el número de residuos que las conforman y su secuencia aminoacídica. ....	72
Tabla 3.19: Se visualiza el inicio y final de los giros $\beta$ , la secuencia de residuos, los ángulos $\phi$ , $\psi$ y $\xi$ del segundo y tercer residuo. ....	73
Tabla 3.20: Se visualiza el inicio y final de los giros $\gamma$ , la secuencia de residuos, los ángulos $\phi$ , $\psi$ y $\xi$ del segundo residuo. ....	73
Tabla 3.11: Estructura tridimensional de GLP – 1 Amida después de la minimización. ....	74
Tabla 3.21: Se muestra las hélices $\alpha$ presentes en la estructura de GLP – 1R, se observa el residuo inicial y final de la hélice, su tipo, el número de residuos que las conforman y su secuencia aminoacídica. ....	77
Tabla 3.22: Se visualiza el inicio y final de los giros $\beta$ , la secuencia de residuos, los ángulos $\phi$ , $\psi$ y $\xi$ del segundo y tercer residuo. ....	78
Tabla 3.23: hojas $\beta$ presentes en GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética .....	80
Tabla 3.24: $\beta$ strands que conforman las hojas $\beta$ presentes en GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética. ....	80
Tabla 3.25: Se visualiza el inicio y final de los giros $\gamma$ , la secuencia de residuos, los ángulos $\phi$ , $\psi$ y $\xi$ del segundo residuo. ....	81
Tabla 3.26: Se muestra el número hélices $\alpha$ , giro $\beta$ y giro $\gamma$ de GLP – 1 después de ser sometida a simulación de DM. Como referencia también se muestran los datos obtenidos de GLP – 1 después de la minimización. ....	85
Tabla 3.27: RMSD entre las estructuras minimizadas y la final después de someter las proteínas a Dinámica Molecular. Estos datos fueron obtenidos usando el software UCSF Chimera. ....	86
Tabla 3.28: Promedio del RMSD para cada proteína con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar. ....	88
Tabla 3.29: Promedios obtenidos de las DM a 100ns para cada proteína, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar. ....	90

Tabla 3.30: Se muestra el número hélices $\alpha$ , giros $\beta$ y giros $\gamma$ de GLP – 1R después de ser sometida a simulación de DM. Como referencia también se muestran los datos obtenidos de GLP – 1R después de la minimización. ....	92
Tabla 3.31: RMSD entre las estructuras minimizadas y la final después de someter las proteínas a Dinámica Molecular. Estos datos fueron obtenidos usando el software UCSF Chimera.....	93
Tabla 3.32: Promedio del RMSD para la proteína con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar.....	94
Tabla 3.33: Promedio obtenido de la DM a 100ns para la proteína, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar.....	96
Tabla 3.33: Energía de Afinidad generada entre el ligando GLP – 1 y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.....	98
Tabla 3.34: Contactos entre GLP – 1 Y GLP – 1R después de ser sometida a acoplamiento molecular.....	99
Tabla 3.35: Energía de Afinidad generada entre el ligando GLP – 1 Amida y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.....	101
Tabla 3.36: Contactos entre GLP – 1 Amida Y GLP – 1R después de ser sometida a acoplamiento molecular.....	101
Tabla 3.37: Energía de Afinidad generada entre el ligando CDA y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.....	102
Tabla 3.38: Contactos entre CDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.....	103
Tabla 3.39: Energía de Afinidad generada entre el ligando CDM y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.....	104
Tabla 3.40: Contactos entre CDM Y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.....	104
Tabla 3.41: Energía de Afinidad generada entre el ligando CGS y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.....	105

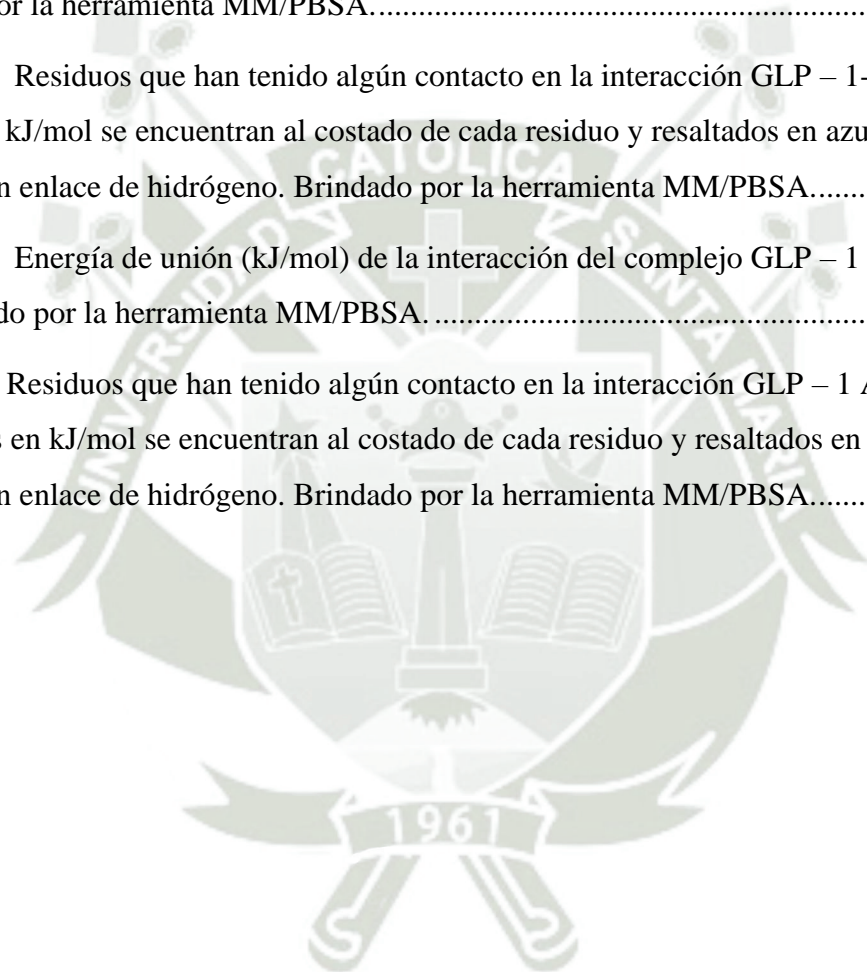
Tabla 3.42: Contactos entre CGS Y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	106
Tabla 3.43: Energía de Afinidad generada entre el ligando PDA y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	107
Tabla 3.44: Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	107
Tabla 3.45: Energía de Afinidad generada entre el ligando PDM y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	108
Tabla 3.46: Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	109
Tabla 3.47: Energía de Afinidad generada entre el ligando PEG y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	110
Tabla 3.48: Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	110
Tabla 3.49: Energía de Afinidad generada entre el ligando PEM y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	111
Tabla 3.50: Contactos entre PEM y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	112
Tabla 3.51: Energía de Afinidad generada entre el ligando PGG y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	113
Tabla 3.52: Contactos entre PGG y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	113
Tabla 3.53: Energía de Afinidad generada entre el ligando PMG y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	114
Tabla 3.54: Contactos entre PMG y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	115

Tabla 3.55: Energía de Afinidad generada entre el ligando POG y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina. ....	116
Tabla 3.56: Contactos entre POG y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular. ....	116
Tabla 3.57: Contactos entre CDA y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	118
Tabla 3.58: Contactos entre CDM y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	120
Tabla 3.59: Contactos entre CGS y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	122
Tabla 3.60: Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	124
Tabla 3.61: Contactos entre PDM y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	126
Tabla 3.61: Contactos entre PEG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	128
Tabla 3.62: Contactos entre PEM y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	130
Tabla 3.63: Contactos entre PGG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	132
Tabla 3.64: Contactos entre PMG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	134
Tabla 3.65: Contactos entre POG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	136
Tabla 3.65: Contactos entre GLP – 1 y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	139

Tabla 3.66: Contactos entre GLP – 1 Amida y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular. ....	142
Tabla 3.67: Promedio del RMSD para cada complejo con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar. ....	145
Tabla 3.68: Promedios obtenidos de las DM a 100ns para los complejos, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar. ....	147
Tabla 3.69: Promedio del RMSD para cada proteína con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar. ....	149
Tabla 3.70: Promedios obtenidos de las DM a 100ns para cada proteína, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar. ....	151
Tabla 3.71: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo CDA-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	151
Tabla 3.72: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción CDA-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	153
Tabla 3.73: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo CDM-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	153
Tabla 3.74: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción CDM-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	155
Tabla 3.75: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo CGS-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	156
Tabla 3.76: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción CGS-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	158
Tabla 3.77: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PDA-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	159

Tabla 3.78: No se encontraron residuos de GLP – 1R que tengan alguna interacción con el metabolito secundario, debido a que PDA se alejó de la proteína. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	161
Tabla 3.79: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PDM-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	161
Tabla 3.80: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PDM-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	163
Tabla 3.81: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PEG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	163
Tabla 3.82: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PEG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	165
Tabla 3.83: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PEM-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	165
Tabla 3.84: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PEM-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	167
Tabla 3.85: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PGG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	167
Tabla 3.86: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PGG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	169
Tabla 3.87: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PMG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	170
Tabla 3.88: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PMG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	172

Tabla 3.89: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo POG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	172
Tabla 3.90: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción POG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	174
Tabla 3.91: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo GLP – 1-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	175
Tabla 3.92: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción GLP – 1-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	177
Tabla 3.93: Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA. ....	178
Tabla 3.93: Residuos que han tenido algún contacto en la interacción GLP – 1 Amida-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.....	180



## INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Valores de las pruebas para el diagnóstico de Diabetes tomado.....	6
Figura 1.2: Estructura terciaria de GLP – 1R incrustada en una Membrana Fosfolipidica.....	9
Figura 1.3 Esquema del mecanismo de acción de la interacción de GLP – 1 con su receptor intermenbranal presente en las células tipo $\beta$ del páncreas páncreas. ....	11
Figura 1.4 Representación de la Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) en su forma esquelética y tridimensional. ....	13
Figura 1.5 Representación de la Cianidina-3-O-glucosido en su forma esquelética y tridimensional. ....	14
Figura 1.6 Representación de la Cianidina-diacetil en su forma esquelética y tridimensional. ....	15
Figura 1.7 Representación de la Pelargonidina 3-glucósido en su forma esquelética y tridimensional. ....	16
Figura 1.8 Representación de la Pelargonidina-3-O-(3-O-6-O-di-malonil) glucosido en su forma esquelética y tridimensional. ....	17
Figura 1.9 Representación de la Pelargonidina 3-O-(6-O-malonil) glucósido en su forma esquelética y tridimensional. ....	18
Figura 1.9 Representación de la Peonidina 3-O-(3-O-6-O-dimalonil-glicósido) en su forma esquelética y tridimensional. ....	19
Figura 1.10 Representación de la Peonidina 3-(6-malonil-glucósido) en su forma esquelética y tridimensional. ....	20
Figura 1.11 Representación de la Peonidina-di-acetil en su forma esquelética y tridimensional. ....	21
Figura 1.12 Representación de la Peonidina-3-O-glucósido en su forma esquelética y tridimensional. ....	22
Figura 1.13 Efecto de antocianinas del maíz morado en el nivel de glucosa en sangre en ayunas, OGTT, HbA1c y nivel de insulina en ratones db/db. (A) Los pesos corporales se midieron cada semana. (B) Los niveles de glucosa en sangre se midieron cada semana. (C) Se realizó OGTT (prueba de tolerancia oral a la glucosa) en la última semana de tratamiento. (D) HbA1C se midió	

en la primera y última semana de tratamiento. “Cont” representa el control. “Glim” representa glimepirida. “PCA” representa antocianinas de maíz morado. ....	23
Figura 1.14 Representación gráfica de modelos $\alpha$ -hélices, en la primera imagen se observa la representación dextrógira y como los enlaces peptídicos son paralelos al eje longitudinal de la hélice, seguidamente se observa una $\alpha$ -hélice dextrógira y las interacciones de los enlaces de hidrogeno, muestra la representación de una vuelta de hélice por 3.6 residuos o 5.4 A. ....	25
Figura 1.15 Conformación de Hojas $\beta$ en cadenas polipeptídicas.....	26
Figura 1.16 Esquema de las interacciones enlazantes y no enlazantes que se presentan en un campo de fuerzas de MM. ....	29
Figura 3.1 Estructura secundaria de GLP – 1, H representa las $\alpha$ hélices, $\gamma$ y $\beta$ los giros respectivos. ....	50
Figura 3.2 Estructura de GLP – 1 .....	53
Figura 3.3 Estructura secundaria de GLP – 1 Amida, H representa las $\alpha$ hélices, $\gamma$ y $\beta$ los giros respectivos. ....	55
Figura 3.4 Estructura de GLP – 1 Amida .....	58
Figura 3.5 Estructura secundaria de GLP – 1R, H representa las $\alpha$ hélices, $\gamma$ y $\beta$ los giros respectivos. ....	60
Figura 3.6 Estructura de GLP – 1R obtenida en Protein Data Bank .....	66
Figura 3.7: Estructura secundaria de GLP – 1 luego de la minimización energética, las hélices $\alpha$ son representadas por letras H, los giros $\beta$ representados con su respectiva letra griega. La figura fue obtenida del servidor PDBsum.....	68
Figura 3.8: Comparación mediante un alineamiento de la estructura terciaria inicial y la obtenida después de la minimización. En azul se aprecia la estructura inicial y en color caqui la obtenida después de la minimización.....	70
Figura 3.9: Estructura tridimensional de GLP – 1 después de la minimización. ....	70

Figura 3.10: Estructura secundaria de GLP – 1 Amida luego de la minimización energética, las hélices  $\alpha$  son representadas por letras H, los giros  $\gamma$  y  $\beta$  representados con su respectiva letra griega. La figura fue obtenida del servidor PDBsum. ....71

Figura 3.10: Comparación mediante un alineamiento de la estructura terciaria inicial y la obtenida después de la minimización. En azul se aprecia la estructura inicial y en color caqui la obtenida después de la minimización. ....74

Figura 3.12: Estructura secundaria de GLP – 1R luego de la minimización energética, las hélices  $\alpha$  son representadas por letras H, los giros  $\gamma$  y  $\beta$  representados con su respectiva letra griega. La figura fue obtenida del servidor PDBsum .....76

Figura 3.13: Comparación mediante un alineamiento de la estructura terciaria inicial y la obtenida después de la minimización. En azul se aprecia la estructura inicial y en color caqui la obtenida después de la minimización. ....82

Figura 3.14: Estructura tridimensional de GLP – 1R incrustada en una membrana fosfolipídica después de la minimización.....82

Figura 3.15: A la izquierda se encuentra la representación de la estructura secundaria de GLP – 1 luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura secundaria de GLP – 1 luego de haber realizado su dinámica molecular. Obtenido del servidor PDBsum.....84

Figura 3.16: A la izquierda se encuentra la representación de la estructura secundaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura secundaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado su dinámica molecular. Obtenido del servidor PDBsum.....85

Figura 3.17: A la izquierda se encuentra la representación de la estructura terciaria de GLP – 1 luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura terciaria de GLP – 1 luego de haber realizado su dinámica molecular. ....86

Figura 3.18: A la izquierda se encuentra la representación de la estructura terciaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura terciaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado su dinámica molecular.....87

Figura 3.19: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.....88

Figura 3.20: En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida. ....89

Figura 3.21: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100 ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.....90

Figura 3.22: A la izquierda se encuentra la representación de la estructura secundaria de GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura secundaria de GLP – 1R luego de haber realizado su dinámica molecular. Obtenido del servidor PDBsum.....91

Figura 3.23: A la izquierda se encuentra la representación de la estructura terciaria de GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura terciaria de GLP – 1R luego de haber realizado su dinámica molecular.....93

Figura 3.24: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. La proteína está representada por el color azul para GLP – 1R. ....94

Figura 3.25: En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. La proteína está representada por el color azul para GLP – 1R. ....95

Figura 3.26: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. La proteína está representada por el color azul para GLP – 1R.....96

Figura 3.27: Representación gráfica de la zona donde se realizará el acoplamiento molecular en GLP – 1R.....97

Figura 3.28: Acoplamiento molecular de GLP – 1 con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1.....98

Figura 3.29: Acoplamiento molecular de GLP – 1 Amida con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1 Amida. .... 100

Figura 3.30: Acoplamiento molecular de CDA con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 102

Figura 3.31: Acoplamiento molecular de CDM con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 103

Figura 3.32: Acoplamiento molecular de CGS con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 105

Figura 3.33: Acoplamiento molecular de PDA con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 106

Figura 3.34: Acoplamiento molecular de PDM con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 108

Figura 3.35: Acoplamiento molecular de PEG con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 109

Figura 3.36: Acoplamiento molecular de PEM con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 111

Figura 3.37: Acoplamiento molecular de PEM con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. .... 112

Figura 3.38: Acoplamiento molecular de PMG con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....114

Figura 3.39: Acoplamiento molecular de POG con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....115

Figura 3.40: Dinamica molecular de CDA con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representacion grafica de la interaccion del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....118

Figura 3.41: A la izquierda se presenta la superficie electroestatica de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo CDA - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....119

Figura 3.42: Dinamica molecular de CDM con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representacion grafica de la interaccion del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....120

Figura 3.43: A la izquierda se presenta la superficie electroestatica de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo CDM - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....121

Figura 3.44: Dinamica molecular de CGS con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representacion grafica de la interaccion del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....122

Figura 3.45: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo CGS - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....123

Figura 3.46: Dinámica molecular de PDA con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....124

Figura 3.47: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PDA - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....125

Figura 3.48: Dinámica molecular de PDM con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....126

Figura 3.49: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PDM - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....127

Figura 3.50: Dinámica molecular de PEG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación grafica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....128

Figura 3.51: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PEG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS. ....129

Figura 3.52: Dinámica molecular de PEM con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....130

Figura 3.53: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PEM - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....131

Figura 3.54: Dinámica molecular de PGG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....132

Figura 3.55: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PGG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....133

Figura 3.56: Dinámica molecular de PMG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....134

Figura 3.57: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PMG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....135

Figura 3.58: Dinámica molecular de POG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación grafica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R. ....136

Figura 3.59: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo POG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....137

Figura 3.60: Dinámica molecular de GLP – 1 con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación grafica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1. ....138

Figura 3.61: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo GLP – 1 - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.....140

Figura 3.62: Dinámica molecular de GLP – 1 Amida con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1 Amida. ....141

Figura 3.63: A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo GLP – 1 Amida - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS. ....143

Figura 3.64: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. Cada complejo está representado por un color para CDA; verde, CDM;

amarillo, CGS; rojo, PDA; azul, PDM; morado, PEG; café, PEM; plomo, PGG; rosado, PMG; negro y POG; naranja. .... 144

Figura 3.65: En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. Cada complejo está representado por un color para CDA; verde, CDM; amarillo, CGS; rojo, PDA; azul, PDM; morado, PEG; café, PEM; plomo, PGG; rosado, PMG; negro y POG; naranja..... 146

Figura 3.66: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. Cada complejo está representado por un color para CDA; verde, CDM; amarillo, CGS; rojo, PDA; azul, PDM; morado, PEG; café, PEM; plomo, PGG; rosado, PMG; negro y POG; naranja. .... 147

Figura 3.67: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida. .... 148

Figura 3.68: En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida. .... 149

Figura 3.69: En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100 ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida..... 150

Figura 3.70: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción CDA-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías. .... 152

Figura 3.71: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción CDM-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías. .... 154

Figura 3.72: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción CGS-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías. .... 157

Figura 3.72: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PDA-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.  
.....160

Figura 3.73: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PDM-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.  
.....162

Figura 3.74: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PEG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.  
.....164

Figura 3.75: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PEM-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.  
.....166

Figura 3.77: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PMG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.....171

Figura 3.78: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción POG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.  
.....173

Figura 3.79: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción GLP – 1-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.  
.....176

Figura 3.80: Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción GLP – 1 Amida-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.....179

## INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus es una enfermedad caracterizada por un alto nivel de glucosa en la sangre (1). En el año 2015, 415 millones de personas fueron afectadas y se estima que para el año 2040 se alcance 642 millones de personas con esta enfermedad (2). En Perú en el año 2014 la Federación Internacional de Diabetes estimó que la prevalencia de diabetes en adultos es del 6.1%. El Instituto Nacional de Demografía y Salud Familiar realizó una encuesta en el año 2014 a una muestra nacional de 29941 viviendas y 27633 personas, dando como resultados que la prevalencia de diabetes es de un 3.2%. Además, siendo la prevalencia de diabetes mayor en una zona urbana (3.5%) que en una zona rural (2.0%) (3). La Diabetes Mellitus tipo 2 se caracteriza por una insuficiencia relativa de la secreción de insulina (4). Las morbilidades más comunes causadas por este tipo de diabetes son: Insuficiencia renal, Amputación de miembros inferiores, Ceguera, Enfermedades cardiovasculares, Pie diabético (Charcot) y Osteomielitis (2).

El Péptido Similar al Glucagón tipo 1 o también conocida como GLP - 1 es una hormona incretina secretada por las células tipo L intestinales (5), cuya función es estimular a las células  $\beta$  pancreáticas para la secreción de insulina, además de que estimulan crecimiento, regeneración y la prevención de la apoptosis de células  $\beta$  pancreáticas (6).

El Maíz Morado (*Zea Mays L.*) es un cultivo originario de Perú que es utilizado en diferentes preparaciones, como por ejemplo la bebida chicha morada o mazamorra morada, en el maíz morado están presentes una amplia gama de metabolitos secundarios (7).

En este trabajo de Tesis se presentan resultados obtenidos de estudios *In Silico* sobre la Interacción Molecular entre la Hormona GLP - 1 y su Receptor Intermembranal además del Acoplamiento e Interacción Molecular entre Metabolitos Secundarios del Maíz Morado y el Receptor Intermembranal de la GLP - 1

## HIPÓTESIS

Mediante el uso de Técnicas de Biología computacional es factible determinar la naturaleza de la Interacción entre GLP – 1 y su Receptor, así como de Metabolitos Secundarios presentes en el Maíz Morado para mejorar el Entendimiento de sus Procesos de Interacción



## OBJETIVOS

### Objetivo General

- Estudiar la Interacción de GLP – 1 con el Receptor de GLP – 1 y diversos Metabolitos Secundarios en el Maíz Morado mediante Simulación Molecular.

### Objetivos Específicos

- Obtener las estructuras en formatos PDB completos de la GLP – 1, GLP – 1 Receptor y las Estructuras de los Metabolitos Secundarios presentes en el Maíz Morado, así como minimizar las Estructuras elegidas para el presente estudio, mediante el uso del algoritmo Steepest Descent.
- Obtener las cargas de Hirshfeld para los Metabolitos Secundarios que Interactuaron con el Receptor de la GLP-1, luego construir los archivos de topología necesarios para la Interacción Receptor - Sustrato.
- Generar una corrida de Simulación de dinámica Molecular en un ensamble NVT, para alcanzar la zona de equilibrio de los sistemas GLP-1 y Receptor de la GLP-1, luego correr una Simulación de Dinámica Molecular en un ensamble NPT por un tiempo de 100ns, para los sistemas GLP-1 y Receptor de GLP-1.
- Ensamblar los Sistemas Interactuantes GLP – 1-receptor GLP – 1 y Metabolitos Secundarios – receptor GLP-1, seguidamente proceder a una Simulación de Dinámica Molecular para todos los complejos.
- Realizar los análisis de los datos obtenidos a partir de las corridas de Simulación de las Dinámicas Moleculares.



## 1. Marco teórico

### 1.1. Diabetes

#### 1.1.1. Definición

La Diabetes Mellitus es una alteración metabólica que se produce por la deficiencia en la acción o secreción de la insulina (8), se caracteriza por la presencia de hiperglicemia crónica en sangre u orina (9). La Diabetes está presente en cada parte del mundo y en todas las regiones, la OMS estima que había 422 millones de personas adultas con diabetes en todo el mundo en 2014 (10).

#### 1.1.2. Tipos de Diabetes

##### 1.1.2.1. Diabetes tipo 1

La cualidad distintiva de este tipo de diabetes es la aniquilación autoinmune de las células  $\beta$  pancreáticas lo que produce la carencia total de insulina y la tendencia a cetoacidosis (11). Esta destrucción es mediada inmunológicamente apareciendo marcadores serológicos que son detectables como Anticuerpos frente a células del islote (ICAs), Anticuerpos frente a la insulina (IAAs), Anticuerpos frente al ácido glutámico decarboxilasa (GAD 65) y Anticuerpos frente a fosfatasa de tiroxina (IA-2 y IA-2b). Las personas que tienen presentes los alelos DQA y DQB en el complejo de histocompatibilidad (11).

##### 1.1.2.2. Diabetes tipo 2

La diabetes tipo 2 o también llamada no insulín dependiente es la más común, caracterizada por una deficiencia de insulina en lugar de la falta total de esta y una resistencia en su acción además de ser asociada a la obesidad y sobrepeso (12).

##### 1.1.2.3. Diabetes gestacional

La diabetes mellitus gestacional se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o reconocimiento por primera vez durante el embarazo (13).

#### 1.1.3. Diabetes Mellitus Tipo 2

La Diabetes Mellitus tipo 2 es la más común, siendo esta entre el 80-90% de personas que presentan esta enfermedad (9). Este tipo de diabetes es caracterizada por una

insuficiencia relativa en la secreción de la insulina (14), y resistencia a esta misma, ambos mecanismos están basados a una asociación de diferentes polimorfismos y componentes ambientales, tales como la obesidad y sedentarismo. Incluso existen diferentes cambios hormonales, como la reducción de hormonas incretínicas y el aumento de la secreción del glucagón (15). Los síntomas particulares de personas que presentan esta enfermedad son: Poliuria, Polidipsia y Polifagia (16).

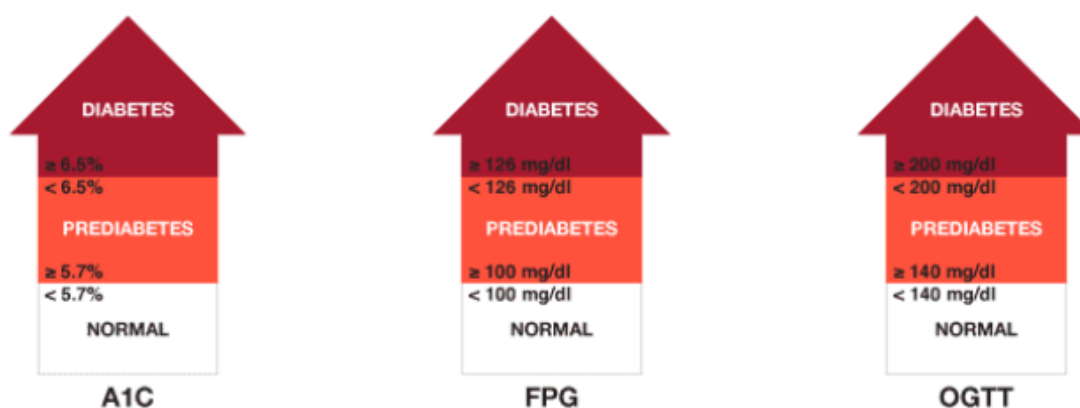
El diagnóstico se hace mediante 3 pruebas según la Asociación Americana de Diabetes. Siendo la primera prueba la A1c que mide el nivel de glucosa en sangre promedio durante los dos o tres meses, para esta prueba no es necesario el ayuno. Considerándose diabetes si el valor es de 6.5% a más.

La segunda prueba es la Glucosa Plasmática en Ayunas (FPG) que mide el nivel de azúcar en sangre en ayunas, esto por lo menos durante 8 horas antes de la prueba considerándose diabetes si el valor es mayor a 126mg/dl a más.

La tercera prueba es la Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa(OGTT), es una prueba de dos horas que analiza los niveles de glucosa antes y después de ingerir alimentos, se considera diabetes si los valores de glucosa con mayores a 200mg/dl (17).

**Figura 1.1**

**Valores de las pruebas para el diagnóstico de Diabetes tomado.**



**Fuente: American Diabetes Association, (17)**

### 1.1.3.1. Epidemiología

La diabetes mellitus es una epidemia a nivel mundial, acercándose a 415 millones adultos que presentan diabetes y que para el año 2040 llegarían a 642 millones de personas (18). La Encuesta Nacional Demográfica y de Salud Familiar (ENDES 2014) que se realizó de marzo a diciembre del año 2014, sobre una muestra de 29.941 viviendas y 27.633 personas, se encontró una tasa de prevalencia de diabetes diagnosticada de 3,2%, con 3,6% en mujeres y 2,9% en hombres. La mayor prevalencia se encontró en la ciudad de Lima 4,6%, seguida de la región costa, 3,4%; la selva, 2,5%; y la región andina, 2,0% (19).

El Estudio PeruDiab 2012 calculo la incidencia de diabetes en una población nacional que fueron seleccionadas por muestreo aleatorio por conglomerados de 1677 personas de edades mayores a 25 años en una población total de 10.860.000. El diagnóstico de diabetes se basó en una glucosa plasmática en ayunas, está siendo mayor a 126 mg/dL. En este estudio se encontró una prevalencia de diabetes del 7,0 %, que afecta a 763 000 personas, con un 4,2 % de diabetes diagnosticada y un 2,8 % de casos nuevos de diabetes. La prevalencia fue mayor en la región de la costa (8,2 %) que en la región andina (4,5 %) o la selva (3,5 %) (20).

### 1.1.3.2. Tratamiento

Para el tratamiento de diabetes tipo 2 inicia con metformina que reduce el HbA1c de 1 a 2%, en caso de hiperglucemia postprandial se recomiendan los inhibidores de alfa glucosidasa y las glindas. La acarbosa reduce la HbA1c en 0.5 a 1%, la replaglinida es casi tan eficiente como la metformina para disminuir en 1.5% los niveles de hemoglobina glicosilada. Además de tratamientos farmacológicos también existen los cambios nutricionales que se deben seguir tal cuales son las dietas con contenido de fibra de 20 a 30 g, además de la reducción en la ingesta de grasa, reducir los hidratos de carbono y consumirlos a lo largo del día para facilitar el control glucémico (21). Existen tratamientos con acción incretina, en los cuales participan análogos de GLP – 1, estos son resistentes a la acción de DPP4, el primero llamado exenatida que es de uso subcutáneo cada 12 horas y liraglutida que

es de uso diario y subcutáneo también, estos pueden llegar a reducir el HbA1c de 0.8 a 2% (15).

## 1.2. GLP – 1

El tracto gastrointestinal cuya función principal es la digestión y la absorción de nutrientes, también es el órgano endocrino más grande del cuerpo ya que casi el 1% de las células del epitelio intestinal son células endocrinas. Dentro de estas células se encuentran las células K que son encargadas de la secreción de la hormona polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) y las células tipo L responsables de la secreción del péptido similar al glucagón (GLP – 1). Las células tipo L se encuentran a lo largo de tracto gastrointestinal y aumentan su población hacia el colon, pero el número de células L no se correlaciona con el contenido de GLP - 1 en el intestino, que tiene una mayor secreción en el intestino delgado superior y menor secreción en el colon (22). GIP Y GLP – 1 son hormonas incretínicas, que son liberadas en respuesta a la ingestión de nutrientes principalmente glucosa y grasas, estas hormonas estimulan la secreción de insulina en el páncreas (23). La GLP – 1 proviene del gen Proglucagon que está ubicado en el brazo largo del cromosoma 2, este comprende 6 exones y 5 intrones, GLP – 1 está ubicado en el exón 4, este gen es expresado en las células tipo L del intestino que gracias a la enzima prohormona convertasa 1 y 3 (PC 1/3) en su procesamiento postraduccional hace que se libere Glicentina, Oxitomodulina, Péptido Intermedio 2, GLP - 1 y GLP - 2. La hormona GLP - 1 presenta dos formas activas biológicamente que son GLP – 1 (7 - 37) y GLP – 1 (7 - 36 Amida), de esta última, el grupo Amida esta mediado gracias a la enzima Peptidilglicina - Amidante de la Monooxigenasa y su tiempo de vida media dentro del cuerpo humano es de 2 minutos ya que está presente la enzima Dipeptidilpeptidasa 4 (DPP4) la cual degrada a las formas activas de GLP – 1 cortando su secuencia aminoacídica, quitándoles la biodisponibilidad y haciéndolas formas inactivas (24).

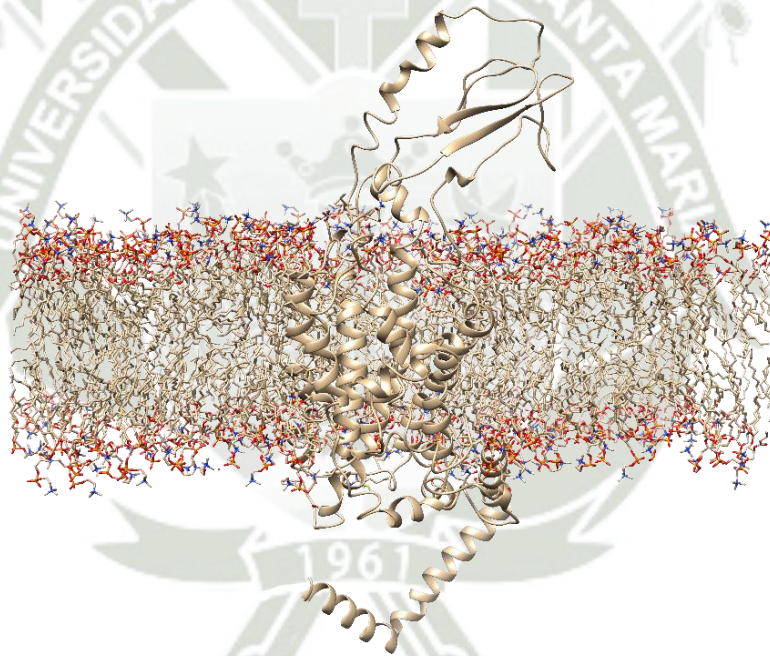
## 1.3. GLP – 1 Receptor

GLP – 1 Receptor pertenece a la familia de los receptores acoplados a proteína G y presenta 7 dominios transmembranales, estos son expresados principalmente en los islotes pancreáticos, los receptores de GLP – 1 son abundantes en las células  $\beta$  del páncreas donde estimulan la secreción de insulina, pero también están presentes en las células  $\alpha$  donde

median la inhibición en la secreción del glucagón (25). El receptor muestra un dominio extracelular hidrofílico en la posición N-terminal, las siete hélices transmembrales están conectadas por bucles intracelulares, extracelulares y un dominio C-terminal. El dominio N-terminal tiene una secuencia líder que es crucial para la correcta biosíntesis del receptor. En el proceso de maduración de la proteína, el receptor ingresa al Retículo Endoplasmático gracias a la secuencia líder N-terminal, que es primordial para su expresión en la superficie celular. En el RE, el GLP – 1R experimenta N-glicosilación en residuos de aminoácidos específicos, la falta de N-glicosilación se ha asociado con una expresión reducida de GLP – 1R en la membrana plasmática (26).

**Figura 1.2:**

**Estructura terciaria de GLP – 1R incrustada en una Membrana Fosfolipídica.**



**Fuente: Elaboración propia.**

### **1.3.1. Vías de señalización**

#### **1.3.1.1. Vías de Señalización de Producción de AMPc**

El AMPc es el principal mediador de la secreción de insulina en la célula  $\beta$ . AMPc es un sistema de segundo mensajero, la comprensión de la regulación específica de la formación y degradación de cAMP dentro de las células  $\beta$  es importante para

examinar los efectos posteriores de esta vía en la función de las células  $\beta$ . La producción de cAMP está estrictamente regulada por el equilibrio entre la actividad de AC que cataliza la hidrólisis de cAMP. El AMPc activa otras vías de señalización como lo son la PKA dependiente de AMPc y Epac (27).

### **1.3.1.2. Activación de la Proteína Quinasa A**

El aumento de cAMP como consecuencia de la activación del receptor acoplado a proteína G da como resultado una regulación positiva significativa de la actividad de PKA, una enzima fosforiladora de serina/treonina ubicua. La PKA es un componente clave en la regulación de la secreción de insulina por cAMP. Interviene en muchas de las reacciones de fosforilación requeridas para la secreción por las células  $\beta$ . La inhibición de PKA en islotes aislados y líneas celulares de insulinoma disminuye la secreción de insulina mediada por GLP – 1 (27).

#### **1.3.1.2.1. Factores de intercambio de nucleótidos de guanina regulados por AMPc**

En los islotes, 40–50 % de la secreción de insulina es estimulada por GLP – 1, lo que implica la existencia de una segunda vía activada por AMPc en la cascada de señalización de GLP – 1R. Ahora es evidente que esta porción independiente de PKA se debe a la cascada cAMP GEF, también conocida como proteínas de intercambio directamente asociadas con cAMP (EPAC). Hay 2 variantes de Epac que exhiben una alta especificidad para la activación por cAMP sobre otros nucleótidos cíclicos y se conocen como Epac 1 y Epac 2. También se ha descubierto que Epac está involucrado en la liberación de  $Ca^{2+}$  desde el RE y sus productos son importantes en la exocitosis de las vesículas secretoras de insulina (27).

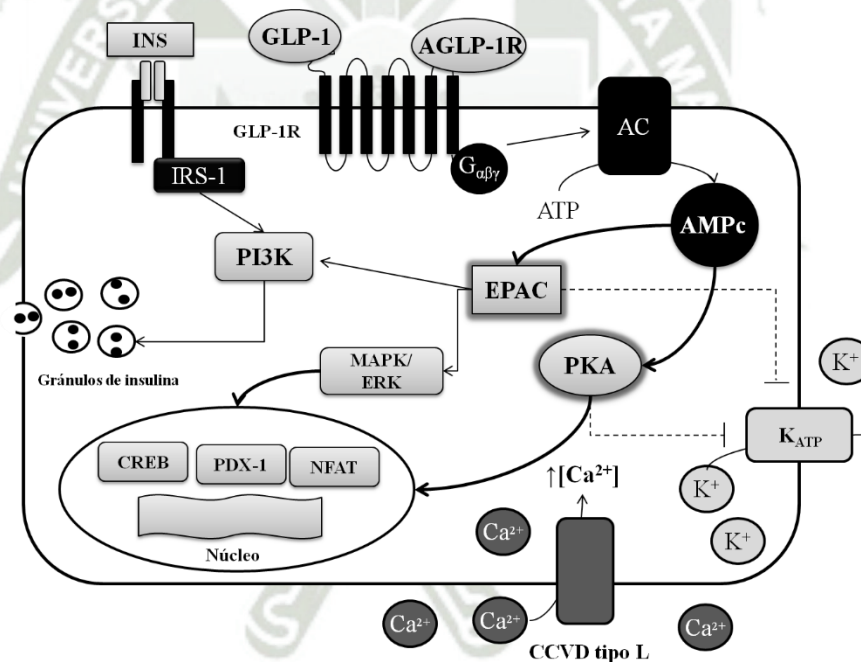
### **1.3.1.3. Vía de Señalización de la Fosfoinositida 3 Quinasa**

Las quinasas PI3 están implicadas en múltiples eventos de células  $\beta$  que van desde el crecimiento, la supervivencia y el metabolismo, La pérdida de esta proteína provoca un defecto secretor de insulina, Por lo tanto, la activación de la cinasa PI3 por GLP – 1 es compleja y está regulada por múltiples vías integradas. La actividad de la quinasa PI3 se ha registrado en varios tipos de células  $\beta$ . su vez, la quinasa PI3

recluta la serina treonina quinasas (quinasa 1 dependiente de fosfoinositido, PDK1) y la proteína quinasa B (PKB). Se sabe que PKB es fundamental para la proliferación y supervivencia de las células  $\beta$ . PKB desactivará FoxO1 que, En su estado fosforilado, FoxO1 es citoplasmático, a su vez, facilitará la translocación nuclear aguda de PDX-1 existente y la síntesis de más PDX-1 al desplazar este inhibidor de la transcripción de PDX-1 de la región promotora del factor de transcripción del homeodominio. PDX-1 es un efector clave para las vías de respuesta de GLP-1R y es fundamental para los efectos positivos de GLP – 1R en la diferenciación, proliferación, supervivencia y función de la célula  $\beta$  (27).

**Figura 1.3**

**Esquema del mecanismo de acción de la interacción de GLP – 1 con su receptor intermenbranal presente en las células tipo  $\beta$  del páncreas páncreas.**

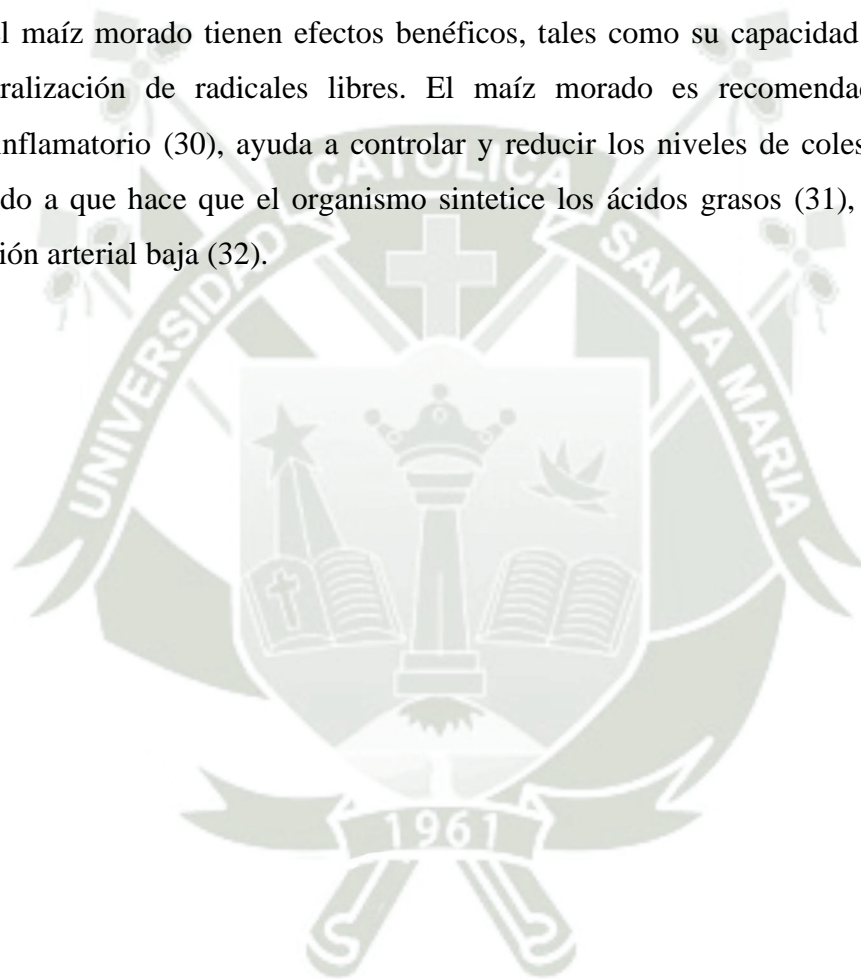


**Fuente: Duran, A. L. C., et al. (28).**

#### 1.4. Maíz morado

El Maíz Morado (*Zea mays L*) raza kculli, es una selección especial del maíz amiláceo, de granos y de cáscara morada con alto contenido de almidón, cuya tusa o coronta contiene como principio activo las antocianinas, que son pigmentos vegetales utilizados por la industria alimenticia y farmacéutica mundial. La Dirección General de Competitividad

Agraria del Ministerio de Agricultura, señala que las regiones que tienen mayor producción de maíz morado son: Lima con 24,69 %, Arequipa con 22,39 %, Cajamarca con 21,07 % y Huánuco con 16,46 % (29). El color está relacionado a las antocianinas o pigmentos naturales hidrosolubles del grupo de los flavonoides glucósidos de las antocianidinas, presentes en las vacuolas de células vegetales, que otorgan el color rojo, púrpura o azul. Se han identificado seis tipos de antocianinas: Cianidina 3-O-b-Glucósido que es responsable del 70% de la intensidad del color, Pelargonidina y Peonidina. Los fitoquímicos presentes en el maíz morado tienen efectos benéficos, tales como su capacidad antioxidante o de neutralización de radicales libres. El maíz morado es recomendado por su efecto antiinflamatorio (30), ayuda a controlar y reducir los niveles de colesterol en la sangre debido a que hace que el organismo sintetice los ácidos grasos (31), y a mantener una presión arterial baja (32).



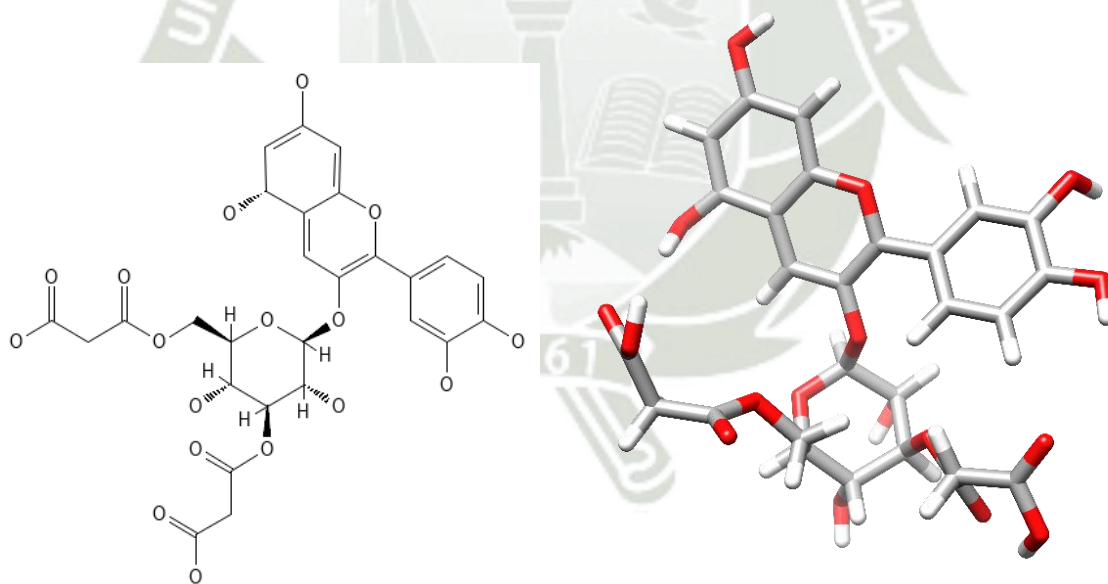
### 1.4.1. Metabolitos Secundarios

#### 1.4.1.1. Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) – CDM

La Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como antocianidina-5-O-glucósidos. Estos son compuestos fenólicos que contienen un resto de antocianidina que está unido O-glucosídicamente a un resto de carbohidrato en la posición C5. La Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) es un compuesto básico extremadamente débil, esencialmente neutro. Pertenece a la super clase de fenilpropanoides y policetidos, a la familia de los flavonoides, su ubicación biológica es extracelular en el citoplasma (33).

Figura 1.4

Representación de la Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) en su forma esquelética y tridimensional.



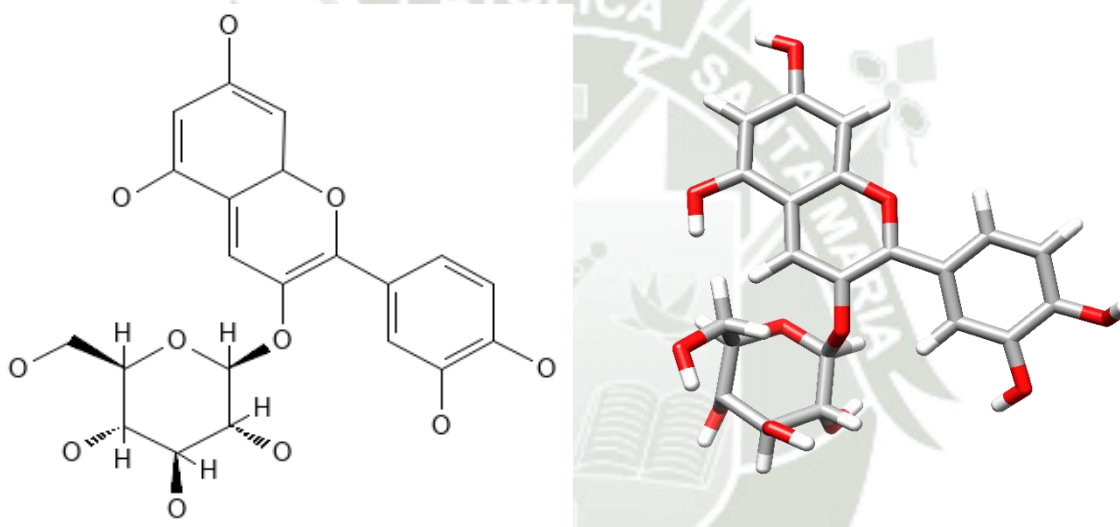
Fuente: PubChem (34).

### 1.4.1.2. Cianidina-3-O-glucosido – CGS

La Cianidina-3-O-glucosido pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como piranonas y derivados. Las piranonas y sus derivados son compuestos que contienen un anillo de pirano que lleva una cetona. La cianidina 3-glucósido es un compuesto básico extremadamente débil (esencialmente neutro). Pertenece a la super clase de fenilpropanoides y policetidos, a la familia de los flavonoides (33).

**Figura 1.5**

**Representación de la Cianidina-3-O-glucosido en su forma esquelética y tridimensional.**



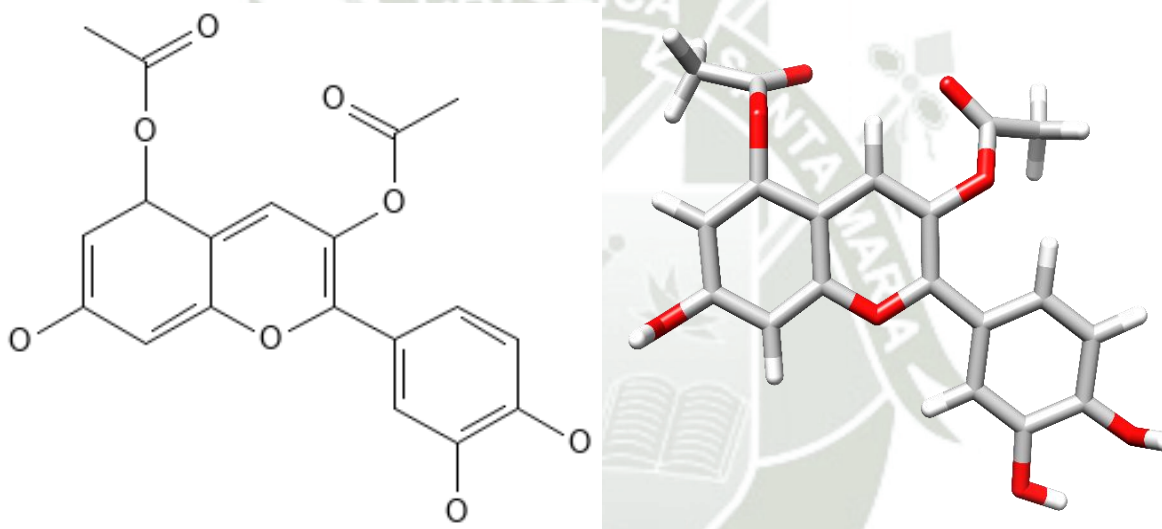
**Fuente: PubChem (35).**

### 1.4.1.3. Cianidina-diacetil – CDA

Cianidina-diacetil contiene en su estructura básica es el núcleo flavan que consiste en 15 carbonos arreglados en 3 anillos denominados A, B Y C. El flavonoide cianidina pertenece al grupo de las sales de flavillium, se caracteriza por el grupo catecol, el grupo resorcinol y el grupo 3-OH, carece del grupo ceto y el doble enlace lo presente entre C3 y C4 del anillo C (36).

**Figura 1.6**

**Representación de la Cianidina-diacetil en su forma esquelética y tridimensional.**



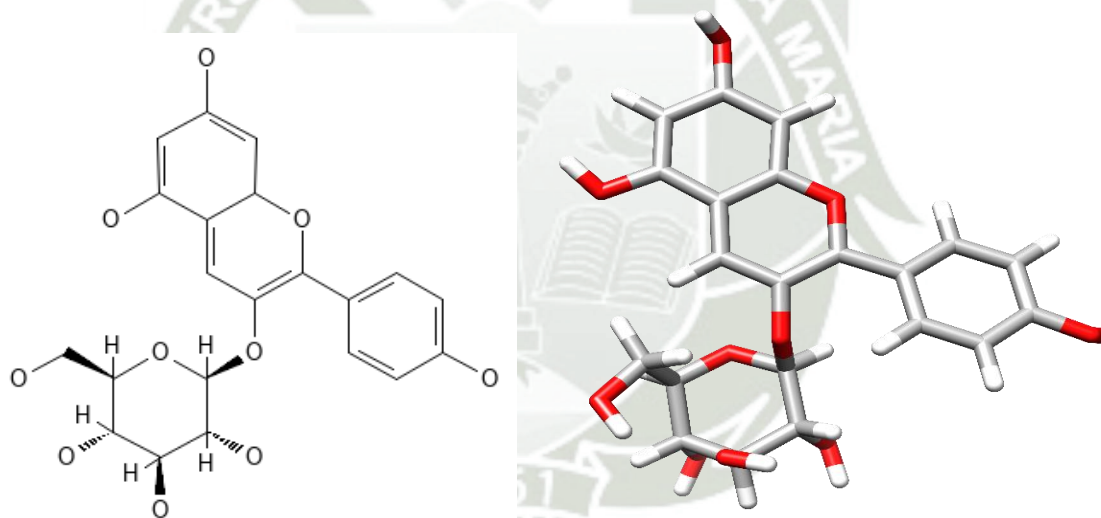
**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.4. Pelargonidina-3-glucosido – PGG

La Pelargonidina 3-glucósido, también conocida como calistefina, pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como flavanonas. Las flavanonas son compuestos que contienen un resto flavan-3-ona, con una estructura caracterizada por un 2-fenil-3,4-dihidro-2H-1-benzopirano que lleva una cetona en el carbono C3. Por lo tanto, la pelargonidina 3-glucósido se considera un flavonoide. La pelargonidina 3-glucósido es un metabolito primario. Los metabolitos primarios son metabolitos metabólica o fisiológicamente esenciales. Están directamente involucrados en el crecimiento, desarrollo o reproducción de un organismo (37).

**Figura 1.7**

**Representación de la Pelargonidina 3-glucosido en su forma esquelética y tridimensional.**



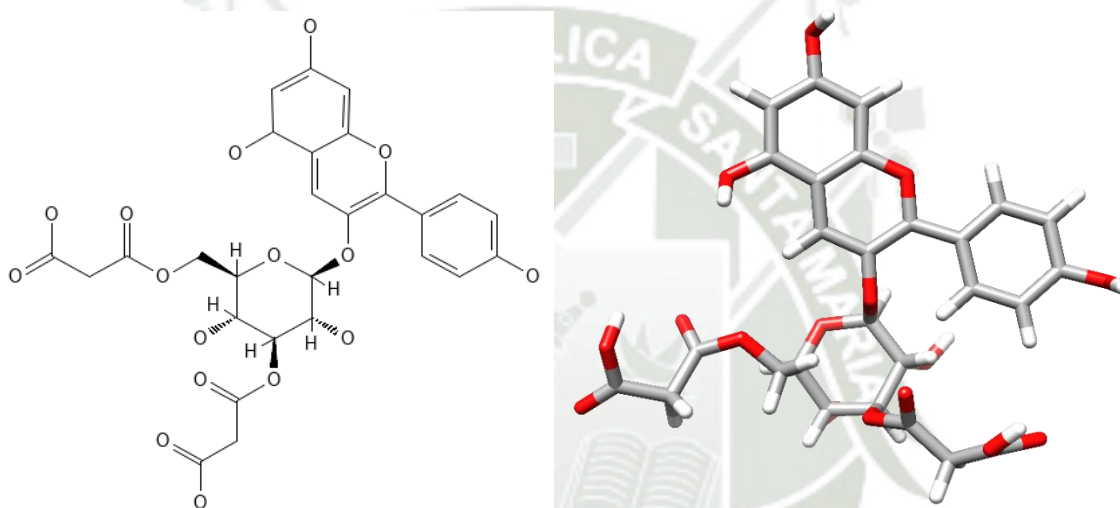
**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.5. Pelargonidina-3-O-(3-O-6-O-di-malonil) glucósido – PDM

La Pelargonidina-3-O-(3-O-6-O-di-malonil) glucósido es una antocianidina, se caracteriza por ser encargada de la coloración naranja en vegetales, es hidrosoluble, en estado puro toma una coloración roja a marrón, y la adición de azúcar en el carbono 3 y 6 le confieren mejor estabilidad (37).

**Figura 1.8**

**Representación de la Pelargonidina-3-O-(3-O-6-O-di-malonil) glucosido en su forma esquelética y tridimensional.**



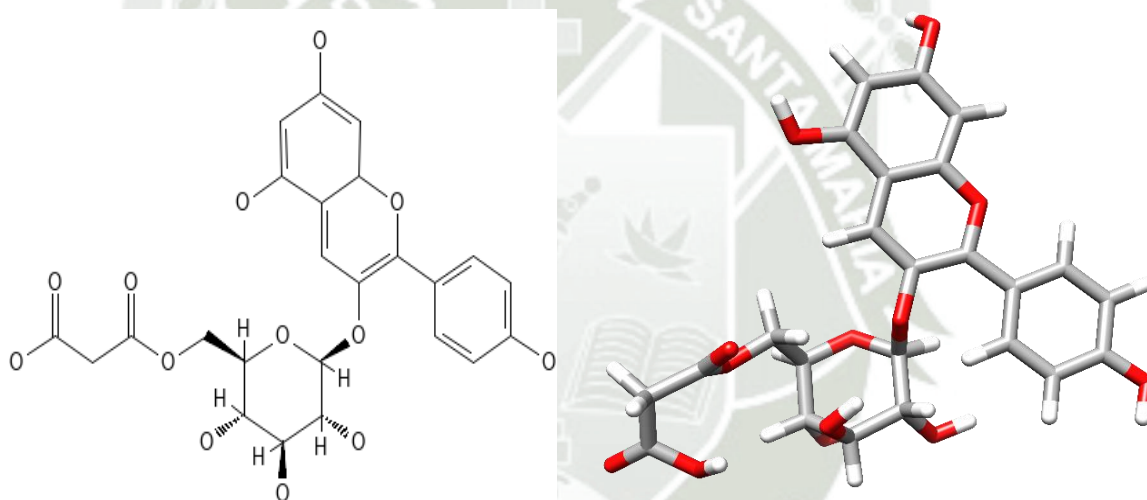
**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.6. Pelargonidina-3-O-(6-O-malonil) glucósido – PMG

La Pelargonidina 3-O-(6-O-malonil) glucósido es un catión de antocianina que consta de pelargonidina que tiene un residuo 6-O-malonil-beta-D-glucosilo unido en la posición 3-hidroxi. Es un catión de antocianina y un beta-D-glucósido. Está relacionado funcionalmente con una pelargonidina, es una antocianina que pertenece a la familia de los flavonoides (39).

**Figura 1.9**

**Representación de la Pelargonidina 3-O-(6-O-malonil) glucósido en su forma esquelética y tridimensional.**



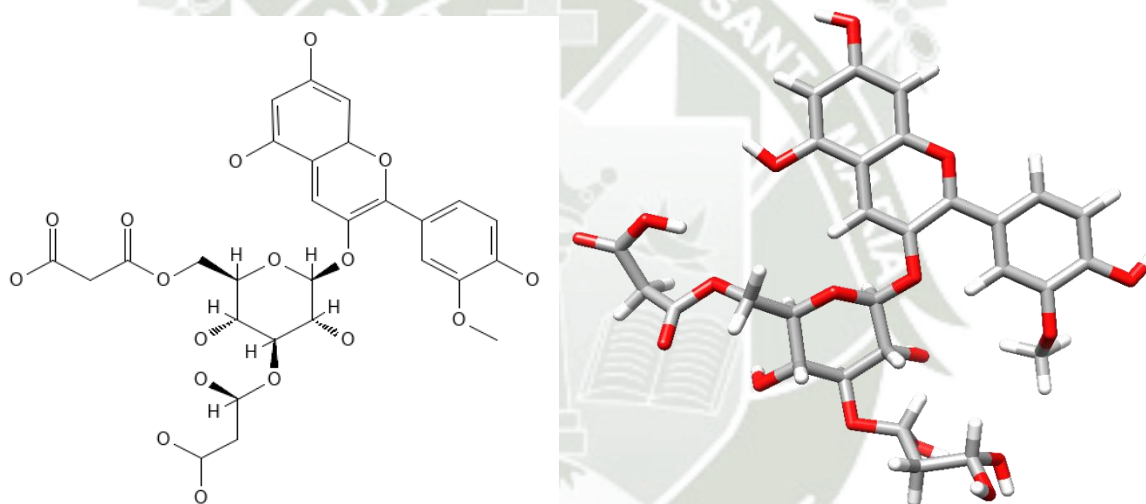
**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.7. Peonidina-3-O-(3-O-6-O-dimalonil-glicosido) – PEG

La Peonidina 3-O-(3-O-6-O-dimalonil-glicósido) pertenece a los compuestos fenólicos que contienen un resto de antocianidina que está unido O-glucosídicamente a un resto de carbohidrato en la posición C3 y C6. Pertenece a la familia de los flavonoides, es hidrosoluble, presenta propiedades antioxidantes y se caracteriza por brindar el color naranja a rojo (39).

**Figura 1.9**

**Representación de la Peonidina 3-O-(3-O-6-O-dimalonil-glicósido) en su forma esquelética y tridimensional.**



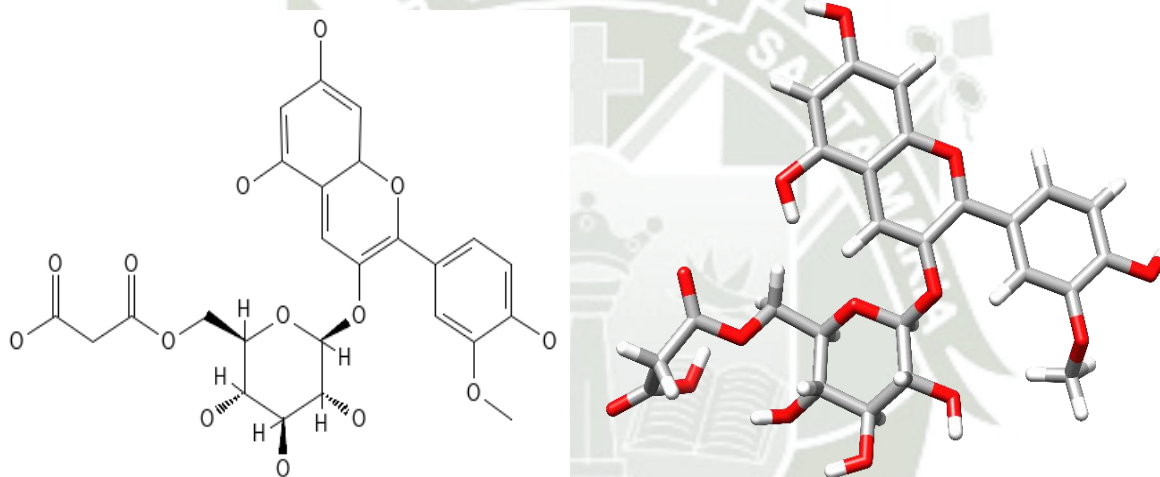
**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.8. Peonidina-3(6-malonilglucósido) – PEM

La Peonidina 3-(6-malonil-glucósido) pertenece a la clase de compuestos orgánicos conocidos como antocianidina-3-o-glucósidos. Estos son compuestos fenólicos que contienen un resto de antocianidina que está unido O-glucosídicamente a un resto de carbohidrato en la posición C3. Pertenecen a la familia de los flavonoides (40).

**Figura 1.10**

**Representación de la Peonidina 3-(6-malonil-glucósido) en su forma esquelética y tridimensional.**



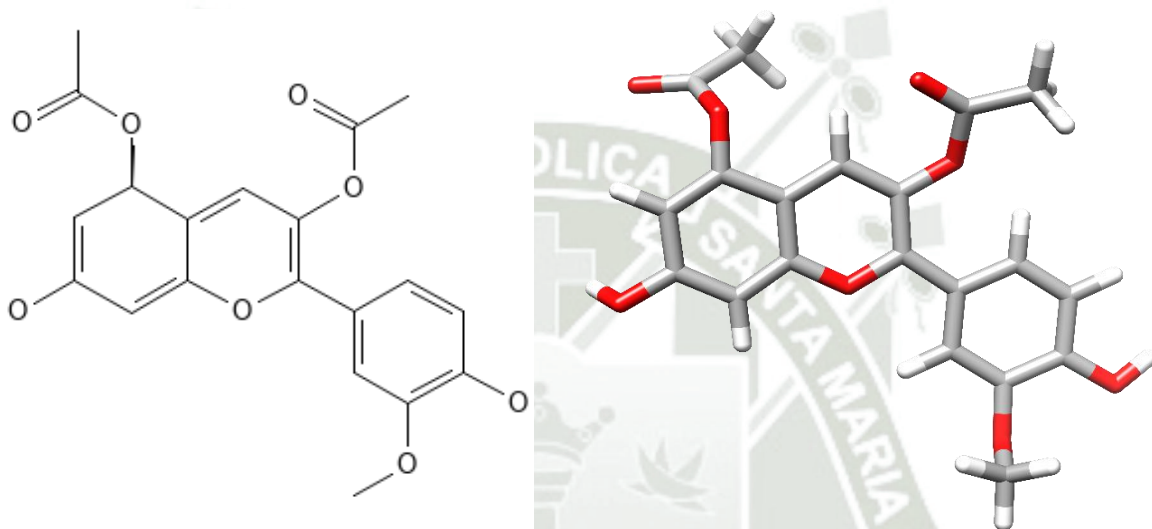
**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.9. Peonidin-di-acetil – PDA

La Peonidina-di-acetil es un fitoquímico que se encarga de producir los colores en plantas, principalmente rojos y morados, es una antocianina, pertenece a la familia de los flavonoides, presenta grupos acetilos en los carbonos c1 y carbono 6 (43).

**Figura 1.11**

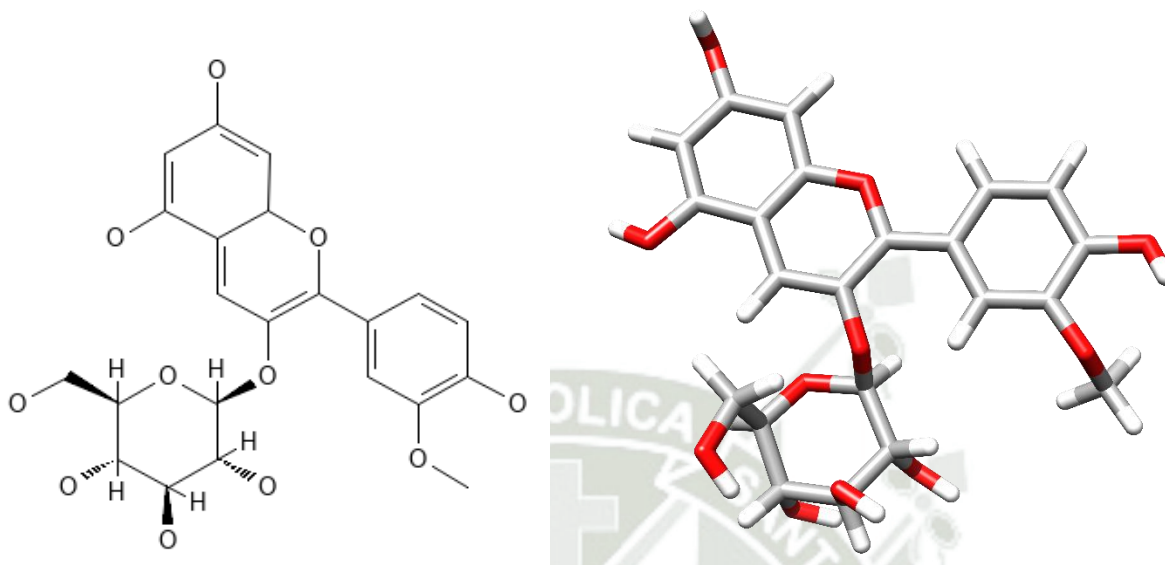
**Representación de la Peonidina-di-acetil en su forma esquelética y tridimensional.**



**Fuente: PubChem, (43).**

#### 1.4.1.10. Peonidina-3-O-glucosido – POG

La Peonidina-3-O-glucósido es un catión de antocianina que es el 3-O-beta-D-glucósido de la peonidina (metilcianidina). Tiene un papel como antioxidante y metabolito vegetal. Es un catión de antocianina, un beta-D-glucósido y un derivado de monosacárido. Está relacionado funcionalmente con una peonidina. Es un ácido conjugado de una peonidina 3-O-beta-D-glucósido betaína (42).

**Figura 1.12****Representación de la Peonidina-3-O-glucósido en su forma esquelética y tridimensional.****Fuente: PubChem, (43).**

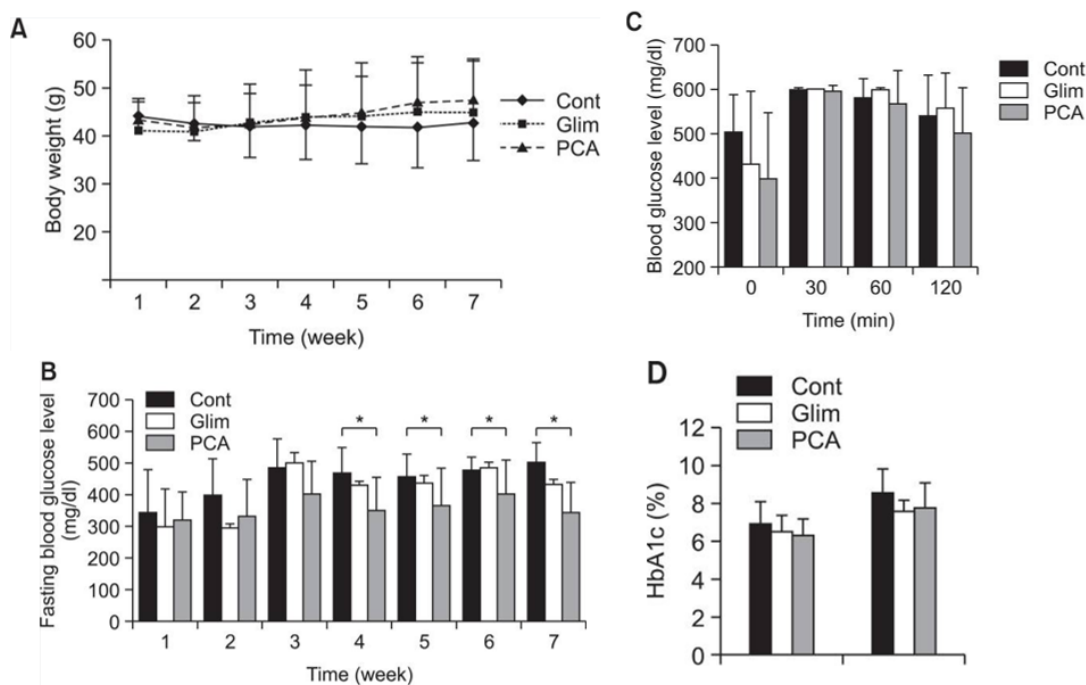
### 1.5. Evidencia experimental

En el estudio de Hong SH, se evaluaron las actividades antidiabéticas de antocianinas de maíz morado en ratones db/db, obteniendo una excelente actividad antihiper glucémica, esto demostrado en los niveles de glucosa en sangre y OGTT, además de una actividad reductora de HbA1c en comparación con glimepirida que es una sulfonurea. Los extractos de antocianinas de maíz morado así como los ratones db/db fueron comprados en Zana Export y Orient Bio respectivamente. Para el test de tolerancia a la glucosa (OGTT) en ratones db/db, se les hizo ayunar durante 12 horas y se les administró antocianinas del maíz morado por vía oral 30 minutos antes de la exposición a glucosa, se les administró glucosa por vía oral y se les extrajo sangre en intervalos de 30 minutos desde 0 a 120 minutos. Se procedió a hacer la evaluación de glucosa con el Accu-check Active, Roche. Para la comparación con glimepirida con las antocianinas del maíz morado se dividieron aleatoriamente 4 grupos conformados por 8 ratones cada uno, siendo 1 grupo de control diabético, y 3 grupos de tratamiento. Se les dio extractos de antocianinas de maíz morado disueltos en agua durante 7 semanas. Como control positivo se añadió glimepirida, una sulfonilurea al agua de bebida. Como control negativo no se añadió ni antocianinas de maíz morado ni

glimpepirida al agua. Se midieron los valores del peso corporal y los valores de glucosa en sangre de manera semanal y se midieron los valores de OGTT y HbA1c el primer día y último día del experimento. Se obtuvieron los siguientes resultados (43).

**Figura 1.13**

**Efecto de antocianinas del maíz morado en el nivel de glucosa en sangre en ayunas, OGTT, HbA1c y nivel de insulina en ratones db/db. (A) Los pesos corporales se midieron cada semana. (B) Los niveles de glucosa en sangre se midieron cada semana. (C) Se realizó OGTT (prueba de tolerancia oral a la glucosa) en la última semana de tratamiento. (D) HbA1C se midió en la primera y última semana de tratamiento. “Cont” representa el control. “Glim” representa glimepirida. “PCA” representa antocianinas de maíz morado.**



**Fuente: Hong et al, (43).**

El grupo de antocianinas del maíz morado (PCA) mostró una disminución del nivel de glucosa en sangre de 500 mg/dl a los 120 min, pero el grupo de control negativo y glimepirida mantuvo el nivel de glucosa en sangre a 550 mg/dl a los 120 min, lo que sugiere que las antocianinas de maíz morado presentan una excelente actividad antihiper glucémica a corto plazo. El nivel de HbA1c aumentó a 8,3 en el grupo de control negativo, pero a 7,7-7,8 en el grupo de glimepirida y antocianinas del maíz morado en la semana 7, lo que

indica que la exposición a largo plazo de la hemoglobina a niveles altos de glucosa en sangre también disminuyó en el grupo de glimepirida y antocianinas del maíz morado. El resultado indica que los ratones db/db tratados con antocianinas del maíz morado mostraron un control eficaz de la glucosa en sangre a corto y largo plazo (43).

## **1.6. Biología computacional**

La Biología Computacional es una rama de las ciencias naturales que es interdisciplinaria, que conlleva conceptos de física, biología, química, etc. Nos ayuda mediante herramientas informáticas a entender los sistemas biológicos complejos. Sus objetivos pueden ir desde el estudio de sistemas macromoleculares hasta el estudio de proteínas. La bioinformática es un campo de la biología computacional que se centra en la investigación, desarrollo y aplicación de diferentes herramientas computacionales para la adquisición, almacenamiento, análisis y visualización de sistemas biológicos (44).

### **1.6.1. Modelado de proteínas**

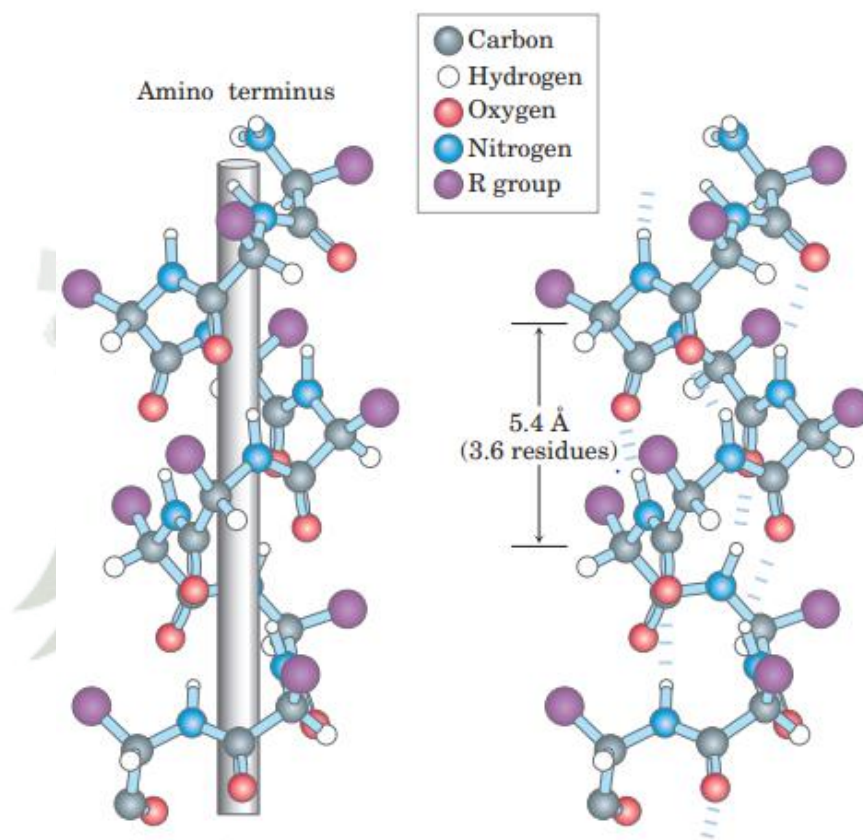
En el estudio computacional la herramienta mayormente utilizada es la visualización de moléculas biológicas, esto para tener una mejor comprensión y entendimiento de los complejos proteínicos moleculares y sus interacciones. En los complejos proteicos las estructuras más conocidas son (44).

#### **1.6.1.1. Alfa-hélices**

Esta estructura logra mantenerse gracias a los enlaces de hidrógeno integrados entre el grupo amino de un enlace peptídico y el grupo carboxilo del cuarto aminoácido que le sigue. El sentido del giro de las  $\alpha$ -hélices son levógiro o dextrógiro, pero esta última es más favorable debido a la menor cantidad de choques estéricos en la estructura entre las cadenas laterales y la cadena principal. Cada vuelta de la hélice tiene un paso de rosca de 0,54 nm (45).

**Figura 1.14**

Representación gráfica de modelos  $\alpha$ -hélices, en la primera imagen se observa la representación dextrógira y como los enlaces peptídicos son paralelos al eje longitudinal de la hélice, seguidamente se observa una  $\alpha$ -hélice dextrógira y las interacciones de los enlaces de hidrógeno, muestra la representación de una vuelta de hélice por 3.6 residuos o 5.4 Å.

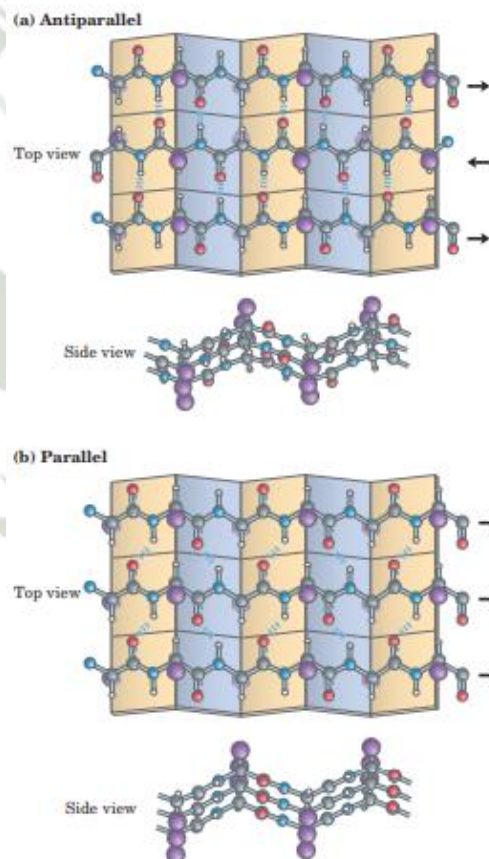


Fuente: Nelson D.L., et al. (46).

### 1.6.1.2. Hoja $\beta$

Una hoja  $\beta$ , está conformada de dos a tres  $\beta$  stands o hebras, unidas por enlaces de hidrógeno. Estructuralmente, está extendida en lugar de estar enrollada con fuerza, como en las  $\alpha$  hélices, además de que las cadenas laterales apuntan en direcciones opuestas. Tienen dos conformaciones: antiparalela, cuyas hebras corren en direcciones opuestas, en la cual los átomos de los grupos  $-\text{CO}$  y  $-\text{NH}$  se unen de forma alineada. La otra conformación es del tipo paralelo y es cuando las hebras corren en la misma dirección. En esta conformación, los grupos  $-\text{NH}$  y  $-\text{CO}$  se enlazan con la hebra vecina de forma diagonal (46).

**Figura 1.15**  
**Conformación de Hojas  $\beta$  en cadenas polipeptídicas.**



Fuente: Nelson D.L., et al. (46).

## 1.6.2. Herramientas bioinformáticas

### 1.6.2.1. Protein Data Bank

Es un centro de datos de estructura 3D para moléculas biológicas grandes, que son, por ejemplo: Proteínas, ADN y ARN que son esenciales para la investigación y la educación en biología fundamental, salud, energía y biotecnología. El Protein Data Bank (PDB) es el primer centro de datos digitales que acceso libre. En la actualidad es un recurso global para la obtención de datos experimentales para los estudios científicos. Conocer la estructura 3D de moléculas biológicas es primordial para entender su función en la salud y en enfermedades humanas, animales, o su función en plantas, producción de alimentos y energía. En su página es posible obtener los archivos de las coordenadas atómicas e información relevante adicional que describe a las proteínas cuyas estructuras tridimensionales se han determinado por cristalografía de rayos X, espectroscopia RMN o crio-microscopía electrónica de transmisión en el espacio (47).

### 1.6.2.2. Visualizadores de estructuras tridimensionales

Las estructuras tridimensionales de moléculas se pueden ver con programas informáticos libres o de licencia comercial. Se pueden mencionar PyMOL (48), Visual Molecular Dynamics (VMD) (49), UCSF Chimera (50), DeepView (Swiss-Pdb Viewer) (51), Jmol (52), RasMol (53).

Estos programas nos permiten visualizar estructuras moleculares si conocemos sus coordenadas atómicas (generalmente en un archivo de formato texto). Estos visualizadores por ordenador pueden funcionar independientemente de las páginas web (54).

## 1.6.3. Dinámica molecular

Las simulaciones de dinámica molecular (MD) monitorean los movimientos de macromoléculas resueltos en el tiempo. La visualización de trayectorias permite una comprensión instantánea e intuitiva de la dinámica y función. Las simulaciones de dinámica molecular son herramientas importantes para comprender la base física de la estructura y función de las macromoléculas biológicas. La visión inicial de las

proteínas como estructuras relativamente rígidas ha sido reemplazada por un modelo dinámico en el que los movimientos internos y los cambios conformacionales resultantes juegan un papel esencial en su función (55).

### 1.6.3.1. Mecánica molecular

La mecánica molecular se basa en las aproximaciones de Born-Oppenheimer que separa los movimientos del núcleo y de los electrones, esto debido a que la masa del núcleo es mucho mayor a los electrones, estos pueden adaptarse rápidamente a cualquier cambio en las posiciones de los núcleos. Por lo tanto, la energía de una molécula en su estado base puede considerarse como una función de coordenadas de los núcleos atómicos, también denominada campos de fuerza o Force Fields. Los cambios que se producen en la energía potencial de un sistema pueden representarse como una superficie llamada superficie de energía potencial (55).

### 1.6.3.2. Campo de fuerza

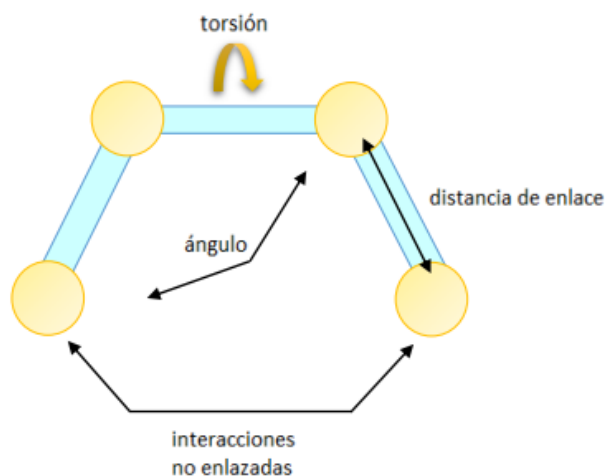
Los campos de fuerza están conformados por la función de la energía potencial y por los parámetros empíricos usados por cada uno de los términos. Una característica importante de un campo de fuerza es su capacidad de ser transferido, o sea, una misma serie de parámetros puede ser empleada para el estudio de distintas moléculas relacionadas entre sí. La mayoría de los campos de fuerzas empleados para sistemas moleculares se pueden definir mediante una ecuación con dos componentes principales que describen las interacciones enlazantes y no enlazantes del sistema:

$$E_{total} = (E_{elec} + E_{vdw}) + (E_{enlace} + E_{angulos} + E_{torsionales})$$

Los términos no enlazantes se definen por un término de atracción y repulsión de tipo Lennard-Jones para las fuerzas de Van der Waals y un término coulombico para las interacciones electroestáticas, para los términos enlazantes incluyen contribuciones debidas a los enlaces covalentes, ángulos de valencia y ángulos torsionales propios e impropios (55).

**Figura 1.16**

**Esquema de las interacciones enlazantes y no enlazantes que se presentan en un campo de fuerzas de MM.**



**Fuente: Sebastián Yagüe, Á., et al., (55).**

### 1.6.3.3. Simulación de dinámica molecular

Los métodos de simulación molecular son capaces de obtener una muestra representativa de las configuraciones de estos sistemas macroscópicos a una determinada temperatura, existen dos grandes técnicas de simulación molecular. El método de Monte Carlo que se basa en analizar la energía en distintas coordenadas generadas de manera aleatoria. El otro método son las simulaciones de Dinámica Molecular que genera una trayectoria de puntos que se desarrollan con el tiempo siguiendo la segunda ecuación de Newton. Este método es determinista, en otras palabras, el estado de un punto de la trayectoria permite predecir el estado del siguiente punto (55).

Dada la fuerza en todos los átomos, las coordenadas se actualizan para el siguiente paso. Para minimizar la energía, el algoritmo de descenso más pronunciado simplemente mueve cada átomo una corta distancia en dirección de la energía decreciente (la fuerza es el gradiente negativo de energía), mientras que la dinámica molecular se realiza al integrar las ecuaciones de movimiento de Newton (56,57).

$$F_i = -\frac{\partial V(r_1, \dots, r_N)}{\partial R_i} \quad m_i \frac{\partial^2 r_i}{\partial t^2} = F_i$$

donde  $F_i$  es la fuerza del átomo  $i$ ;  $V$ , representa la energía potencial del sistema debida a las posiciones de todas las partículas;  $R_i$ , son los vectores de posición;  $m_i$ , es la masa de los átomos y  $t$  representa al tiempo. Las coordenadas actualizadas se utilizan para evaluar nuevamente la energía potencial (57).

#### 1.6.3.4. Preparación y realización de una dinámica molecular

Las simulaciones de Dinámica Molecular tienen 2 fases, una fase de equilibrio cuyo objetivo es llevar al sistema a una fase de equilibrio a partir de la configuración inicial del sistema que pueden originarse de datos experimentales (Cristalografía de rayos X, Resonancia Magnética Nuclear, Etc.), de modelos teóricos o una combinación entre ambos. En esta fase se monitorean varios parámetros como la densidad, la temperatura y la energía potencial hasta que llegan a estabilizarse. Luego es necesario asignar velocidades iniciales a cada uno de los átomos que participaran de la dinámica molecular, esto se realiza aleatoriamente mediante una distribución de Maxwell-Boltzmann a una determinada temperatura. Por último, es imprescindible mantener constantes algunas condiciones en la simulación molecular que son: Energía total del Sistema(E), Presión(P), Temperatura(T), Volumen(V) y Numero de Partículas(N). Al combinarlas se obtienen simulaciones Isotermico-Isobaricas(NPT) y simulaciones Canonicas(NVT). Siendo estas dos las más utilizadas para proteínas y ácidos nucleicos. Para conseguir que el sistema llegue a un equilibrio óptimo se debe aplicar en ciertas ocasiones restricciones al sistema, liberándolas lentamente para permitir su adaptación a condiciones deseadas. Este proceso suele durar 200 a 500 picosegundos, aunque en ciertos casos conviene equilibrar el sistema durante varios nanosegundos (57).

Después del correcto equilibrado del sistema empieza la fase de producción en la cual se permite la evolución del sistema obteniendo una trayectoria, cuanto mayor sea el tiempo de simulación serán más precisos los resultados debido a que se explorara más espacio conformacional. En general se estima que el tiempo de

simulación debería ser al menos 10 veces más largo que la escala temporal del proceso a estudiar (55).

Existen herramientas que nos ayudan a evaluar el equilibrio estructural del sistema, que pueden ser:

### **1. Raíz de la Desviación Cuadrática Media**

Es necesario e importante evaluar si la proteína es estable y cercana a la estructura experimental, es por eso que para la medición de esto se utiliza el Desplazamiento Cuadrático Medio de todos los átomos (pesados o incluyendo a los hidrógenos), con respecto a la estructura experimental. Se usa para verificar la similitud de dos proteínas al mismo tiempo, para la predicción de la estructura. Con un RMSD es necesario la estructura experimental para considerar que la predicción es buena. También es posible calcular un RMSD con respecto a una estructura de referencia. Sus aplicaciones son diversas e incluyen monitorear cambios estructurales en simulaciones de plegamiento y dinámica de proteínas, evaluar la calidad de esquemas de predicción de estructuras, comparando la diversidad de estructuras modelo derivadas de experimentos, evaluando las propiedades de los enfoques de modelado a diferentes niveles de resolución y definiendo formas de polímeros de alta resolución (58).

### **2. Fluctuación de Raíz Cuadrada Media**

Las vibraciones alrededor del equilibrio no son aleatorias, sino que dependen de la flexibilidad de la estructura local. La Fluctuación de la Raíz Cuadrada Media (RMSF) de cada residuo es fácil de calcular a lo largo de la trayectoria, pero lo más importante es que se pueden convertir en factores de temperatura que también están presentes para cada átomo en un archivo PDB.

Para obtener información sobre la flexibilidad estructural local, la estabilidad térmica y la heterogeneidad de las macromoléculas, a menudo se estudian las fluctuaciones cuadráticas medias (RMSF). Lo que es más importante, RMSF se puede obtener a través de Debye-Waller o factores de temperatura (factores B)

en experimentos de rayos X, donde los factores B generalmente se definen como una medida de las fluctuaciones espaciales de los átomos alrededor de su posición promedio y donde su movimiento se describe como una distribución gaussiana isotrópica de desplazamientos sobre la posición media. La inversa de esta ecuación se ha utilizado a menudo en la literatura para calcular los factores B de varios modelos (la mayoría de las veces simulaciones de dinámica molecular o modelos de redes gaussianas) y compararlos con valores experimentales

Los factores B también se han utilizado en una variedad de estudios para predecir la flexibilidad de las proteínas, evaluar su estabilidad térmica, probar los errores en las estructuras de las proteínas, analizar los sitios activos y los bolsillos de unión y estudiar la dinámica de las proteínas (59).

### **3. Radio de giro y enlaces de hidrogeno**

El radio de giro, una medida que se usa a menudo para describir las dimensiones de los biopolímeros como las proteínas, se puede calcular analíticamente de dos maneras: una usando las distancias por pares entre los monómeros y el otro utilizando las distancias entre cada monómero y su centro de masa, es decir, la posición promedio de todos los monómeros si tienen la misma masa. Además, se consideran que los enlaces de hidrógeno juegan un papel vital en el reconocimiento molecular y la estabilidad general de la estructura de la proteína (60).

#### **1.6.4. Ensamble molecular**

Los sistemas biológicos se comunican mediante interacciones que se dan entre distintas moléculas como ácidos nucleicos, proteínas o también moléculas más pequeñas llamados ligandos. Varias enfermedades se dan por el mal funcionamiento de estas interacciones.

En los métodos teóricos cuando están bien fundamentados logran seleccionar a partir de quimiotecas, que son colecciones de millones de moléculas aquellos que tiene una mayor probabilidad de interactuar con una diana terapéutica. Este seleccionado

conjunto de moléculas que logran interactuar son llamados hits, que pueden optimizarse hasta alcanzar los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos para convertirse en leads.

Existe dentro de la perspectiva teórica cuatro escenarios, el más favorable es cuando tenemos información estructural de la proteína diana y del ligando entonces se procede a hacer docking y cribado virtual, luego dos casos intermedios donde se conoce la estructura o de los ligandos o bien de la proteína diana, entonces se usan los llamados farmacóforos. El caso más desfavorable se caracteriza por la ausencia o falta de cualquier información estructural, es necesario llevar un estudio experimental que nos dé idea sobre el tipo de estructuras involucradas en la interacción para así poder aplicar algún método teórico (55).

#### 1.6.4.1. Docking molecular

Para la realización de interacciones moleculares se utiliza la herramienta llamada docking molecular, para esta técnica son necesarios 2 ítems.

1. Obtener la estructura tridimensional de la diana de interés, pudiendo ser esta, una proteína
2. Obtener la estructura tridimensional de un ligando, este será acoplado a la diana de interés para así obtener una interacción proteína-ligando.

El ligando puede obtener diversas posiciones dentro del sitio de unión de la proteína, pero la herramienta del docking tiene antes que nada de un método de muestreo llamado también componente estructural, el cual es encargado de enumerar todas las configuraciones o posiciones posibles del ligando-receptor, y seguidamente una función matemática, llamada función de puntuación que evalúa que tan buena son las interacciones que existen entre la proteína y el ligando en cada pose (61).

#### 1.6.4.2. Componente Estructural

Para el método del docking también conocido como métodos basados en la estructura, es necesario conocer la estructura tridimensional de la diana que puede llegar a obtenerse experimentalmente con Resonancia Magnética Nuclear, Cristalografía de Rayos X, así como también por métodos teóricos, también es necesario conocer la estructura tridimensional de los ligandos, que pueden ser encontrados de quimiotecas o contruidos en programas de modelado molecular. En la página del Protein Data Bank se pueden obtener estructuras tridimensionales de proteínas diana, así como de complejos receptor-ligando (62).

En el docking molecular la parte con más interés de la proteína diana es la zona de unión del ligando, conocida como Centro o Sitio Activo, Bolsillo o Pocket, Cavity de Unión, etc. La unión del ligando en el centro activo de la proteína diana desencadena una modificación, activación o inhibición de esta. Si se conoce dónde está el centro activo se puede guiar a la herramienta del docking a una región particular de la proteína, para no buscar el sitio activo en toda la proteína (61).

#### 1.6.4.3. Componente energético

Cuando se produce una interacción ligando-receptor se dan una serie de interacciones específicas que son las encargadas de la estabilidad del complejo, el éxito de la herramienta del docking se da principalmente gracias a un conocimiento profundo y a una implementación apropiada de las fuerzas directrices que rigen la unión de proteína-ligando. Los principales tipos de interacción molecular que se consideran fundamentales para entender y racionalizar la unión de proteína-ligando son las Interacciones de Van der Waals, Interacciones Electroestáticas, Interacciones por Enlaces de Hidrógeno, Interacciones con el Disolvente, Interacciones Hidrofóbicas y Contribuciones Entrópicas (61).

## 1. Interacción de Van der Waals

Cuando dos moléculas se acercan y su contacto está próximo, las interacciones de Van der Waals se activan y se presentan 2 tipos de fuerza.

- a) Repulsión: La cual actúa a corta distancia debido al solapamiento o superposición de las nubes electrónicas de los átomos que se acercan.
- b) Atracción: La cual actúa a larga distancia y es debida a la correlación entre los electrones de los diferentes átomos (fuerzas de dispersión de London), y se debe más a la forma (o volumen) que propiamente al contenido electrostático

## 2. Interacciones Electroestáticas

Las interacciones electrostáticas están presentes en la mayor parte de los procesos de unión ya sea Interacciones Carga-Carga, Enlaces de Hidrógeno, Interacciones Hidrofóbicas, de Solvatación, etc (61).

### 1.6.4.4. Aproximación de Poisson-Boltzmann en el cálculo de energías libres (MM/PBSA)

La Mecánica Molecular-Poisson Boltzmann Enfoque de área de superficie (MM-PBSA) es un procedimiento rentable consiste en realizar una estimación más preciso de las afinidades de unión ligando-proteína, calculando la energía libre de unión asociada a la formación de los complejos ligando-proteína generados por acoplamiento ya que combina cálculos energéticos basados en mecánica con cálculos de energía libre basados en modelos solventes implícitos.

Precisamente, el MM-PBSA estima la energía libre de unión de un complejo ligando-proteína como la diferencia entre la energía libre del complejo y las energías libres de los componentes libres (receptor y ligando). Para estimar la energía libre de cada componente, tanto los términos entrópicos como entálpicos son considerados y la energía libre de enlace total, se calcula como una suma de la interacción de la fase gaseosa energía entre ligando y proteína, la energía de solvatación asociada a la transición de la fase gaseosa al estado solvatado y el cambio en la entropía conformacional asociada con unión del ligando (63).

En términos generales, la energía libre de unión de la proteína con el ligando en el solvente se puede expresar como:

$$\Delta G_{union} = G_{complejo} - (G_{proteina} + G_{ligando})$$

donde  $G_{complejo}$  es la energía libre total del complejo proteína-ligando y  $G_{proteina}$  y  $G_{ligando}$  son las energías libres totales de la proteína aislada y el ligando en disolvente, respectivamente (64).

Además, la energía libre para cada entidad individual puede estar dada por

$$G_x = (E_{MM}) - TS + (G_{solvatacion})$$

donde  $G_x$  es la proteína o ligando o el complejo proteína-ligando.  $E_{MM}$  es la energía potencial promedio de la mecánica molecular en el vacío.  $TS$  se refiere a la contribución entrópica a la energía libre en el vacío, donde  $T$  y  $S$  denotan la temperatura y la entropía, respectivamente. El último término  $G_{solvatacion}$  es la energía libre de solvatación (64).

Los términos  $E_{MM}$  y  $G_{solvatacion}$  se detallan a continuación.

### 1. Energía potencial de la mecánica molecular

Este término incluye las energías debidas a las interacciones tanto enlazantes como no enlazantes, y se calcula con base en los parámetros del campo de fuerza de la mecánica molecular (MM). La ecuación para su cálculo es la siguiente:

$$E_{MM} = E_{enlazantes} + E_{noenlazantes} = E_{enlazantes} + (E_{vdW} + E_{elec})$$

donde  $E_{enlazantes}$  son las energías obtenidas por las interacciones de los átomos debidas a sus enlaces, ángulos, diedros y diedros impropios. El término  $E_{noenlazantes}$  incluye todas aquellas interacciones electrostáticas  $E_{elec}$  y de van der Waals  $E_{vdW}$  que se modelan utilizando las funciones de los potenciales de Coulomb y Lennard Jones (L J), respectivamente (64).

### 2. Energía libre de solvatación

Este término es la energía necesaria para transferir un soluto del vacío al disolvente. En el enfoque MM/PBSA, se calcula utilizando un modelo de

solvente implícito. La energía libre de solvatación se expresa como los siguientes dos términos:

$$G_{\text{solvatacion}} = G_{\text{polar}} + G_{\text{nopolar}}$$

donde  $G_{\text{polar}}$  y  $G_{\text{nopolar}}$  son las contribuciones electrostáticas y no electrostáticas a la energía libre de solvatación, respectivamente (64).





## 2. Metodología

### 2.1. Detalles computacionales

#### 2.1.1. Hardware

Para la realización de este trabajo, se utilizó una estación de servicio del Centro de Investigación en Ingeniería Molecular (CIIM). Este equipo trabaja sobre el sistema operativo UBUNTU de tipo 64 bits, que es un sistema operativo de código abierto y libre para computadores. UBUNTU es una distribución de Linux basada en Debian. El equipo cuenta con 80 GiB de memoria RAM y un procesador AMD® Ryzen 9 5950x 16-core processor  $\times$  32, dos unidades de procesamiento gráfico NVIDIA GeForce GTX 980 y NVIDIA GeForce RTX 3080 Ti además de un disco de 13,0 TB (57).

#### 2.1.2. Base de datos

##### 2.1.2.1. NCBI

El Centro Nacional de Información Biotecnológica promueve la ciencia y la salud al brindar acceso a información biomédica y genómica. La misión del NCBI es desarrollar nuevas tecnologías de la información para ayudar en la comprensión de los procesos moleculares y genéticos fundamentales que controlan la salud y la enfermedad. Se utilizó para encontrar las secuencias genómicas de GLP – 1 y de GLP – 1R (65).

##### 2.1.2.2. PDB

Es un centro de datos de estructura 3D para moléculas biológicas grandes, que son, por ejemplo, Proteínas, ADN, ARN, esenciales para la investigación y la educación en biología fundamental, salud, energía y biotecnología. El Protein Data Bank (PDB) es el primer centro de datos digitales que acceso libre. Mediante esta base de datos se hizo la búsqueda de la proteína 3IOL, obtenida por Difracción de Rayos X. Su relevancia se debe a que es una estructura tridimensional de GLP – 1, lo que nos permitió obtener su estructura para continuar con el estudio In Silico, se obtuvo también la estructura tridimensional de GLP – 1 Amida, con el código de 1D0R, este fue obtenido mediante Resonancia Magnética Nuclear y por último se realizó

la búsqueda de la proteína 7KI1, que se obtuvo con Microscopía Electrónica, esta es la estructura tridimensional de GLP – 1R (66).

### 2.1.2.3. **PubChem**

PubChem es una base de datos de química abierta en los Institutos Nacionales de Salud (NIH). PubChem contiene principalmente moléculas pequeñas, pero también moléculas más grandes como nucleótidos, carbohidratos, lípidos, péptidos y macromoléculas modificadas químicamente. Recopila información sobre estructuras químicas, identificadores, propiedades químicas y físicas, actividades biológicas, patentes, salud, seguridad, datos de toxicidad y muchos otros. De esta base de datos se obtuvo las estructuras de los metabolitos secundarios usados en este estudio (67).

## 2.1.3. **Software**

### 2.1.3.1. **GROMACS 2022.3**

GROMACS es un motor para realizar simulaciones de dinámica molecular y minimización de energía. Estas son dos de las muchas técnicas que pertenecen al ámbito de la química computacional y molecular modelado. La química computacional es solo un nombre para indicar el uso de técnicas computacionales en química, que va desde la mecánica cuántica de moléculas hasta la dinámica de moléculas complejas grandes agregados. El modelado molecular indica el proceso general de describir sistemas químicos complejos en términos de un modelo atómico realista, con el objetivo de comprender y predecir macroscópicos. propiedades basadas en conocimientos detallados a escala atómica (68,69).

### 2.1.3.2. **UCSF Chimera**

UCSF Chimera es un programa que sirve para la visualización y análisis interactivo de estructuras moleculares y datos relacionados que incluyen mapas de densidad, trayectorias, acoplamientos, alineaciones de secuencias y conjuntos conformacionales. Además que se pueden generar imágenes y animaciones de alta calidad (70).

### 2.1.3.3. VMD

VMD es un programa diseñado para el modelado, la visualización y el análisis de sistemas biológicos como proteínas, ácidos nucleicos, ensamblajes de bicapa lipídica, etc. La estructura contenida además proporciona una amplia variedad de métodos para representar y colorear una molécula (49).

### 2.1.3.4. LIGPLOT

El programa LIGPLOT genera automáticamente representaciones esquemáticas en 2D de complejos proteína-ligando a partir de archivos en formato PDB. El programa nos muestra interacciones intermoleculares y sus puntos fuertes incluidos los enlaces de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y la accesibilidad de los átomos. Se usó para observar las interacciones de cada metabolito secundario con el receptor de GLP – 1 y también para evaluar la interacción de GLP – 1 y GLP – 1 Amida con su receptor GLP – 1R (71).

### 2.1.3.5. Open Babel

Es un programa de herramientas químicas abierta con todas las funciones, diseñada para "hablar" de las muchas representaciones diferentes de datos químicos. Permite que cualquier persona busque, convierta, analice o almacene datos de modelado molecular, química, materiales de estado sólido, bioquímica o áreas relacionadas. Se usó este programa para obtener archivos en formato .mol y .smile (72).

### 2.1.3.6. AutoDock Vina

AutoDock Vina es un programa de código abierto para hacer acoplamiento molecular. Se utilizó este software para realizar acoplamiento entre los metabolitos secundarios del maíz morado y el receptor de la GLP – 1, así como de GLP – 1 y GLP – 1 Amida con su receptor GLP – 1 R (73).

#### 2.1.3.7. **Gaussian**

Gaussian es un programa para el estudio de estructuras electrónicas empleando un gran abanico de metodologías, desde ab initio a semiempíricas. Puede ser utilizado para el estudio de moléculas y reacciones y cálculo de propiedades bajo un amplio rango de condiciones, incluyendo tanto especies estables como compuestos que son casi imposibles de analizar experimentalmente, tales como intermedios de corta vida y estructuras de transición (75). Se utilizó este programa para la optimización de los metabolitos secundarios y para la obtención de las cargas de Hirshfeld.

#### 2.1.4. **Servidores**

##### 2.1.4.1. **LigParGen**

El servidor LigParGen se diseñó para proporcionar parámetros OPLS-AA para moléculas orgánicas. Los archivos de salida están formateados para usarse directamente en los populares programas MD de dinámica molecular como GROMACS. Se utilizó este servidor para la obtención del campo de fuerza de cada metabolito secundario (76) (77) (78).

##### 2.1.4.2. **PDBsum**

El PDBsum es una base de datos que proporciona una descripción general de cada estructura 3D depositada en el banco de datos de proteínas (PDB). Muestra las moléculas que componen la estructura (es decir, cadenas de proteínas, ADN, ligandos e iones metálicos) y diagramas esquemáticos de sus interacciones (79).

#### 2.2. **Descriptores de estructura**

##### 2.2.1. **Diagrama De Ramachandran**

El diagrama de Ramachandran es una representación de la distribución de los ángulos de torsión en la estructura de una proteína. Existen mayoritariamente dos zonas de ángulos  $\phi$ (phi) y  $\psi$ (psi) permitidos, y por tanto de la flexibilidad de una región para adoptar un determinado plegamiento. No todas las parejas de ángulos son posibles dentro de las estructuras de los péptidos y proteínas. Debido a los efectos estéricos entre los residuos (cadenas laterales) de los aminoácidos. Por tanto, el conocer los valores de los ángulos de torsión nos sirve como indicador de la calidad de la estructura 3D de

una proteína. Los ángulos de torsión son uno de los parámetros estructurales más importantes que controlan el plegamiento de una proteína (80).

El diagrama de Ramachandran del PDBsum está basado en 118 estructuras de resolución de al menos 2.0 ángstrom y un factor R no mayor a 20.0. Según estos parámetros, una proteína es considerada una estructura de buena calidad si el porcentaje de las regiones más favorecidas supera el 90% (79).

## 2.3. Metodología

### 2.3.1. Obtención las estructuras terciaras de las proteínas y de los metabolitos secundarios presentes en el maíz morado.

Para GLP – 1 se obtuvo su estructura terciaria de la base de datos del Protein Data Bank (PDB) con el código 3IOL, presenta 31 aminoácidos y fue obtenida mediante Difracción de Rayos X. Para GLP – 1 Amida, se obtuvo su estructura terciaria de la base de datos del Protein Data Bank con el código 1DOR, presenta 30 aminoácidos, se le añadió un grupo amida a la arginina terminal con la ayuda del programa UCSF Chimera. Para GLP – 1R se utilizó la base de datos Protein Data Bank buscando el código de 7KI1 el cual presenta 491 aminoácidos, que se obtuvo mediante Microscopia Electrónica, al momento de descargar la proteína y visualizarlo en UCSF Chimera, resultaba que tenía residuos faltantes, estos se completaron con comandos dentro del mismo UCSF Chimera para obtener la proteína en su totalidad. Para seleccionar los metabolitos secundarios del maíz morado, se realizó una revisión bibliográfica, obteniendo 10 metabolitos mencionados en Mazewski, Liang, & Gonzalez de Mejia, 2017 (81), Paulsmeyer, M., Chatham, L., Becker, T., West, M., West, L., & Juvik, J, 2017 (82), y Ramirez, LB; Salcedo, HER; Aulis, MFF; Lopez, MAR; Ocana, AN; Radillo, 2018 (83), estos fueron dibujados en el programa GaussView o encontrados en el servidor PubChem.

### **2.3.2. Obtención de las cargas de Hirshfeld para los metabolitos secundarios que interactuaran con el Receptor de la GLP – 1**

Las cargas de Hirshfeld plantean que es posible particionar la densidad electrónica para obtener cargas atómicas (84). Este método no requiere una referencia a conjuntos básicos o sus respectivas ubicaciones, pero se basa en un base física y matemática. Las cargas de Hirshfeld se obtuvieron mediante el uso del programa Gaussian, primero la estructura tridimensional de cada metabolito secundario se envió al servidor LigParGen para la obtención de su campo de fuerza en un archivo en formato .itp para luego obtener dichas cargas en el programa Gaussian utilizando diferentes funcionales, principalmente CAMB3LIP=pop(hirshfeld), si no se coloca esta funcional el programa nos brindara en su defecto las cargas de Mulliken. Luego de obtener estas cargas se colocan en el archivo .itp de cada metabolito secundario con los cuales ya se podrá hacer el acoplamiento molecular.

### **2.3.3. Simulación de dinámica molecular de estructuras terciarias de las proteínas**

Para las simulaciones de dinámica molecular se utilizaron las estructuras de las proteínas GLP – 1, GLP – 1 Amida y receptor de la GLP – 1, las cuales son el punto de partida para las simulaciones. Los cálculos se realizaron con el paquete GROMACS 2022.3. para las hormonas GLP – 1 y GLP – 1 Amida, se utilizó el campo de fuerza en su versión OPLS-AA/l. Para evitar la periodicidad se construyeron cajas de simulación en las que todos los átomos estuvieran por lo menos 1nm al borde la caja, se solvataron por moléculas de agua modelo TIP3 de 3 puntos, se añadieron iones necesarios para neutralizar la carga neta de la proteína, para que los sistemas no presentaran choques esféricos o geometrías inapropiadas se hizo un proceso de minimización energética donde las estructuras se relajan, la minimización se realiza usando el método Steepest Descent el cual se encarga de evaluar las fuerzas debidas a las posiciones atómicas modificando estas para alcanzar un mínimo de energía. Para la dinámica molecular se utilizó el acoplamiento de temperatura V-rescale y el acoplamiento de presión Parrinello-Rahman para mantener los sistemas en un entorno estable a una temperatura fisiológica de 309.65k° y a 1 bar de presión. Sus constantes de acoplamiento se establecieron a 0.1 para temperatura y 0.2 para presión. Se utilizo

el algoritmo Particle Mesh Ewald PME para evaluar las interacciones electroestáticas de largo alcance y de Van der Waalls, el radio de corte para las interacciones de Van der Waalls y Coulombicas se establecieron en 1.0nm. Se realizó la simulación de dinámica molecular de 100ns para cada proteína, las trayectorias se almacenaron cada 10ps y además se calcularon diferentes análisis de sus estructuras al finalizar cada simulación, como el RMSD (Desviación Cuadrática Media), RMSF (Fluctuaciones Cuadráticas Medias) y Radio de Giro (84).

Para la simulación de dinámica molecular de GLP – 1R se utilizó el paquete GROMACS 2022.3 y el campo de fuerza en su versión OPLSA-Lipid.ff. La proteína se incrustó en una bicapa de DPPC con 512 moléculas de lípidos por complejo, estas bicapas de membrana se construyeron utilizando 128-dppc, que son 64 lípidos en cada capa replicando 4 veces para obtener las 512 moléculas de lípidos, con la metodología de inflategRO. Una vez obtenido el sistema de proteína-membrana se colocó una caja para limitar el sistema, se solvato con moléculas de agua modelo TIP3 de 3 puntos y se procedió a utilizar el script perl water\_deleter.pl, el cual elimina las moléculas de agua dentro del núcleo hidrofóbico de la bicapa lipídica, se añadieron iones para neutralizar la carga de la proteína para luego realizar la minimización de energía con el método Steepest Descent el cual se encarga de evaluar las fuerzas debidas a las posiciones atómicas modificando estas para alcanzar un mínimo de energía, Para la dinámica molecular se utilizó el acoplamiento de temperatura V-rescale y el acoplamiento de presión Parrinello-Rahman para mantener los sistemas en un entorno estable a una temperatura fisiológica de 309.65K y a 1 bar de presión. Sus constantes de acoplamiento se establecieron a 0.1 para temperatura y 0.2 para presión. Se utilizó el algoritmo Particle Mesh Ewald PME para evaluar las interacciones electroestáticas de largo alcance y de Van der Waalls, el radio de corte para las interacciones de Van der Waalls y Coulombicas se establecieron en 1.0nm. Se realizó la simulación de dinámica molecular de 100ns para esta proteína, las trayectorias se almacenaron cada 10ps y además se calcularon diferentes análisis de sus estructuras al finalizar cada simulación, como el RMSD (Desviación Cuadrática Media), RMSF (Fluctuaciones Cuadráticas Medias) y Radio de Giro (85).

#### 2.3.4. Acoplamiento molecular

Todos los acoplamientos moleculares se realizaron utilizando como receptor diana a GLP – 1R, como ligandos a GLP – 1, GLP – 1 Amida y a los 10 metabolitos secundarios del maíz morado. Para el acoplamiento molecular se utilizó AutoDock Vina, que es una herramienta computacional que intenta predecir la unión no covalente de macromoléculas o más frecuentemente, de una macromolécula (receptor) y una molécula pequeña (ligando) de manera eficiente, a partir de sus estructuras no unidas. Para utilizar AutoDock Vina se necesitan archivos de entrada en formato .pdb y .pdbqt tanto como de la proteína y de cada ligando, además de una caja específica la cual será donde el programa hará interaccionar la proteína y cada ligando. Se realizaron 1000 interacciones para cada una de las estructuras cuaternarias, esto para elegir la mejor posición del ligando, ya que AutoDock Vina nos brinda energía de unión del ligando con la proteína. Lo que resultó en 12 estructuras cuaternarias que posteriormente se les realizó simulación de dinámica molecular y también su análisis de estructuras con RMSD, RMSF y Radio de Giro (86).

#### 2.3.5. Dinámica molecular de estructuras cuaternarias de las proteínas

Las 12 estructuras cuaternarias obtenidas del acoplamiento molecular, se sometieron a simulación de dinámica molecular, los cálculos se realizaron con el paquete GROMACS 2022.3 utilizando un campo de fuerza OPLSAA\_lipid.ff, para evitar la periodicidad se construyeron cajas de simulación en las que todos los átomos estuvieran por lo menos 1nm al borde de la caja, se solvataron por moléculas de agua modelo TIP3 de 3 puntos, se añadieron iones necesarios para neutralizar la carga neta del sistema, para que los sistemas no presentaran choques esféricos o geometrías inapropiadas se hizo un proceso de minimización energética donde las estructuras se relajan, la minimización se realiza usando el método Steepest Descent el cual se encarga de evaluar las fuerzas debidas a las posiciones atómicas modificando estas para alcanzar un mínimo de energía. Para la dinámica molecular se utilizó el acoplamiento de temperatura V-rescale y el acoplamiento de presión Parrinello-Rahman para mantener los sistemas en un entorno estable a una temperatura fisiológica de 309.65K y a 1 bar de presión. Sus constantes de acoplamiento se establecieron a

0.1 para temperatura y 0.2 para presión. Se utilizó el algoritmo Particle Mesh Ewald PME para evaluar las interacciones electroestáticas de largo alcance y de Van der Waals, el radio de corte para las interacciones de Van der Waals y Coulombicas se establecieron en 1.7nm. se realizó la simulación de dinámica molecular de 100ns para cada sistema, las trayectorias se almacenaron cada 10ps y se calcularon diferentes análisis de sus estructuras al finalizar cada simulación para evaluar la estabilidad de los complejos, estos fueron el RMSD (Desviación Cuadrática Media), RMSF (Fluctuaciones Cuadráticas Medias), Radio de Giro. Adicionalmente se hizo un estudio de los componentes de la energía libre de unión mediante el método MM/PBSA con la respectiva contribución energética de cada residuo. Esto con el fin de evaluar la interacción entre cada ligando y la GLP – 1R (85).

### **2.3.6. Análisis de los datos obtenidos a partir de las corridas de Simulación de las Dinámicas Moleculares.**

La energía de unión se estimó promediando las energías de enlace para las estructuras de cada frame obtenidas en un espacio de 0.5ns de las simulaciones de dinámica molecular para cada uno de los sistemas. Se obtuvieron tres componentes energéticos, energía potencial en el vacío, energía de solvatación polar y energía de solvatación no polar para cada uno de los sistemas interactuantes entre GLP – 1R-GLP – 1 y GLP – 1R-Metabolito Secundario. Con la metodología g\_mmpbsa que usa un script en lenguaje Python (MmPbSaStat.py) que nos brindara dos archivos de salida “full\_energy.dat” y “summary\_energy.dat”. Estos archivos contienen las desviaciones promedio y estándar de todos los componentes energéticos, incluyéndose la energía de enlazamiento

También se puede calcular la contribución promedio de cada residuo o aminoácido en las energías de enlazamiento. Se utiliza el script “MmPbSaDecomp.py” de Python con el cual se obtiene los archivos “final\_contrib\_energy.dat” y “energyMapIn.dat”, el primero nos brinda la energía de contribución de los tres términos energéticos y sus valores promedio junto a su error estándar, incluye la energía de enlace para cada residuo. El segundo nos permite graficar estas energías en formato XY con el programa XMgrace. Para visualizar en una forma tridimensional se utilizando archivos en

formato .pdb que son generados con los nombres complex.pdb, subunit\_1.pdb y subunit\_2.pdb, es necesario utilizar la herramienta energy2bfac. Donde subunit\_1.pdb y subunit\_2.pdb son los archivos de estructura pdb para la GLP -1R y el segundo para los ligandos. Finalmente se visualizaron estos archivos utilizando VMD (85).





### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Estructuras de las formas activas de la Hormona Similar al Glucagón tipo 1

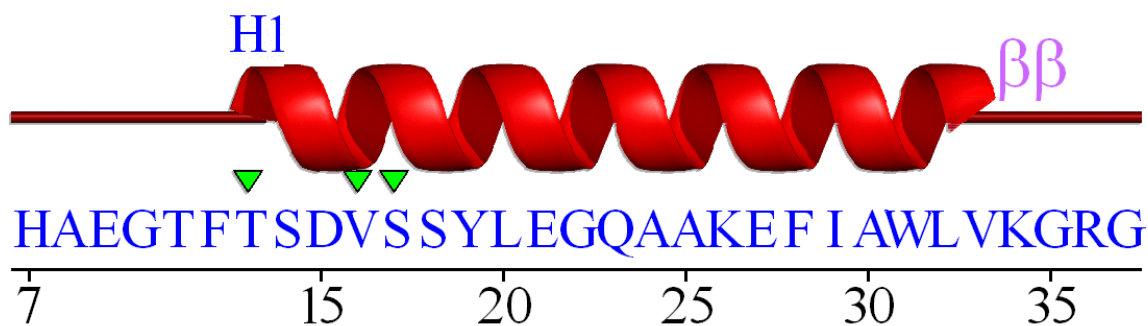
##### 3.1.1. GLP – 1

##### 3.1.1.1. Estructura secundaria

Las estructuras secundarias que contiene GLP – 1, son el resultado del plegamiento de la cadena aminoacídica y la estabilización debida a los enlaces de hidrógeno que permiten la formación de hélices  $\alpha$  y hojas  $\beta$ . En el caso de esta proteína, presenta 1 hélices  $\alpha$ , 2 giros  $\beta$  y 1 giro  $\gamma$ . las hélices están representadas con una letra H mayúscula, los giros  $\beta$  y  $\gamma$  con las letras griegas respectivas (86).

Figura 3.1

Estructura secundaria de GLP – 1, H representa las  $\alpha$  hélices,  $\gamma$  y  $\beta$  los giros respectivos.



Fuente: PDBsum, (87)

##### 3.1.1.1.1. Hélices $\alpha$

Las hélices  $\alpha$  mantienen su forma gracias a las interacciones del tipo enlace de hidrógeno entre los átomos de oxígeno del grupo carbonilo de un aminoácido y el átomo de hidrógeno del grupo amino de otro aminoácido situado a cuatro enlaces peptídicos de distancia en la cadena. Esta conformación se repite una vez en la proteína GLP – 1. En la tabla 3.1 se muestra el aminoácido inicial y final de la hélice  $\alpha$  también el número de aminoácidos que las constituyen y su secuencia aminoacídica (86).

**Tabla 3.1**  
**Hélices  $\alpha$  presentes en GLP – 1.**

N°	Inicio	Final	Tipo	Hélices $\alpha$	
				N° de Residuo	Secuencia
1.	Thr13	Val33	H	21	TSDVSSYLEGQAAKEFIAWLV

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.1.1.1.2. Giros $\beta$

Los giros  $\beta$  se forman por la interacción de enlace de hidrógeno entre los residuos  $i$  e  $i + 3$ . Son elementos de la estructura secundaria que causan un cambio en la dirección de la cadena polipeptídica lo que permite que la proteína se pliegue sobre sí misma. En la estructura de GLP – 1 se presentan 2 giros  $\beta$ . En la Tabla 3.2 podemos ver los residuos que conforman cada uno de los giros, su secuencia de residuos y la medida de los ángulos Psi ( $\psi$ ), Phi ( $\phi$ ) y Chi ( $\xi$ ), además de que se muestra si hay presencia de enlaces de hidrógeno (86).

**Tabla 3.2**  
**Giros  $\beta$  presentes en GLP – 1.**

N°	Giro	Secuencia	Giros $\beta$						Enlaces de Hidrogeno
			Residuo $i + 1$			Residuo $i + 2$			
			Phi	Psi	Chi	Phi	Psi	Chi	
1.	Val33-Arg36	VKGR	-101.4	79.5	-101.9	104.8	-23.5	-	Si
2.	Lys34-Gly37	KGRG	104.8	-23.5	-	-57	-47	-180	Si

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.1.1.1.3. Giros $\gamma$

Un giro  $\gamma$  es un elemento de la estructura secundaria presente en nuestra proteína, donde la cadena polipeptídica invierte su dirección general. En este giro se produce el enlace de hidrógeno entre los residuos  $i$  e  $i \pm 2$ . GLP – 1 solo presenta un giro  $\gamma$  dentro de toda la estructura, en la Tabla 3.3 se puede visualizar en donde comienza y termina el giro, la secuencia de aminoácidos y la medida de los ángulos  $\psi$ ,  $\phi$  y  $\xi$  (86).

**Tabla 3.3**

**Giro  $\gamma$  presente en GLP – 1.**

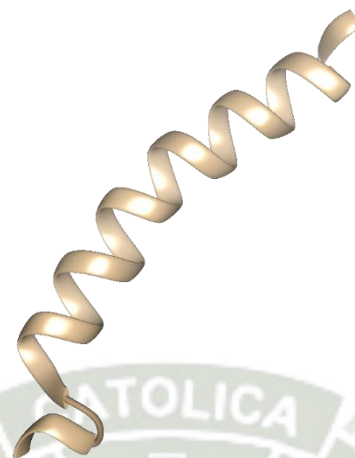
N°	Inicio	Final	Secuencia	Giros $\gamma$		
				Residuo $i+1$		
				Phi	Psi	Chi
1.	Val33	Gly35	VKG	-101.4	79.5	-101.9

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.1.1.2. Estructura terciaria

Se obtuvo la conformación tridimensional que forma la cadena aminoacídica, denominada estructura terciaria del Protein Data Bank con el código 3IOL. Cuenta con 31 aminoácidos, Como se visualiza en la Figura 3.2, GLP – 1 presenta una estructura donde predomina la formación de alfa hélices (86).

**Figura 3.2**  
**Estructura de GLP – 1**



**Fuente: Protein Data Bank, (87).**

### **3.1.2. Análisis de la estructura final obtenida**

#### **3.1.2.1. Diagrama de Ramachandran**

El servidor PDBsum arrojó los siguientes datos: de los 31 residuos, 25 estaban en las regiones favorecidas (A, B y L), estas regiones simbolizadas con letras mayúsculas, son regiones rojas que corresponden a las regiones centrales que representan las combinaciones más favorables para valores  $\phi$ - $\psi$ . Estos 25 residuos representan un 96.2 %. En las regiones permitidas (a, b, l, p) está presente 1 residuo que equivale a un 3.8 % del total. En las regiones permitidas generosamente y no permitidas, no se encontró ningún residuo. Este análisis fue basado en 118 estructuras de resolución de al menos 2.0 ángstrom y un factor R no mayor a 20.0. Según estos parámetros, es considerada una estructura de buena calidad si el porcentaje de las regiones más favorecidas (A, B y L) supera el 90 %, en este caso este porcentaje es superado. Entre los átomos de los residuos involucrados en los contactos defectuosos (así llamados a todo el par de átomos enlazados que se encuentren a una distancia menor de 2.6 ángstrom entre sí), encontramos a los átomos de los residuos His7, Ala8, Glu9, Gly 10, Phe12, Leu32, Val33, Arg36, estos datos están en la Tabla 3.4 (86).

**Tabla 3.4**  
**Contactos defectuosos**

Contactos defectuosos									
Residuo 1					Residuo 2				
N°	Cadena	Tipo	ATM	->	N°	Cadena	Tipo	ATM	Tipo de contacto
7	B	His	O	->	8	B	Ala	C	M-M
7	B	His	O	->	12	B	Phe	CE1	M-S
8	B	Ala	O	->	9	B	Glu	C	M-M
9	B	Glu	O	->	10	B	Gly	O	M-M
32	B	Leu	O	->	36	B	Arg	CB	M-S
33	B	Val	N	->	36	B	Arg	CB	M-S

**Fuente: Elaboración propia.**

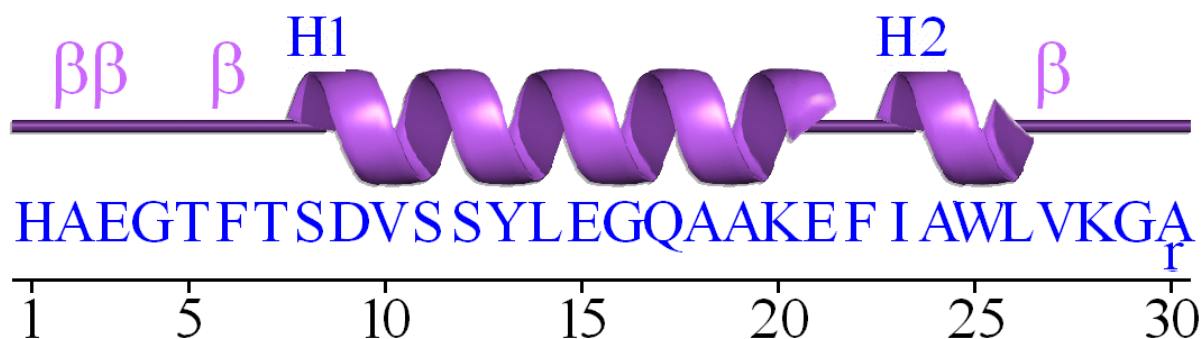
Estos contactos se dan entre dos residuos. En la tabla se visualiza el tipo de residuo, el átomo interactuante, el número de residuo y la interacción que se da entre estos dos pares de residuos. Hay dos tipos de contacto, la primera es cadena lateral con cadena lateral (S-S) y la segunda cadena lateral con cadena principal (S-M) (86).

### 3.1.3. GLP – 1 Amida

#### 3.1.3.1. Estructura secundaria

Las estructuras secundarias que contiene la GLP – 1 Amida, son el resultado del plegamiento de la cadena aminoacídica y la estabilización debida a los enlaces de hidrógeno que permiten la formación de hélices  $\alpha$  y hojas  $\beta$ . En el caso de esta proteína, presenta 2 hélices  $\alpha$ , 1 interacción helice-helice, 4 giros  $\beta$  y 1 giro  $\gamma$ . Las hélices están representadas con una letra H mayúscula, los giros  $\beta$  y  $\gamma$  con las letras griegas respectivas (86).

**Figura 3.3**  
Estructura secundaria de GLP – 1 Amida, H representa las  $\alpha$  hélices,  $\gamma$  y  $\beta$  los giros respectivos.



Fuente: PDBsum, (87).

#### 3.1.3.1.1. Hélices $\alpha$

Las hélices  $\alpha$  mantienen su forma gracias a las interacciones del tipo enlace de hidrógeno entre los átomos de oxígeno del grupo carbonilo de un aminoácido y el átomo de hidrógeno del grupo amino de otro aminoácido situado a cuatro enlaces peptídicos de distancia en la cadena. Esta conformación se repite dos veces en nuestra proteína. En la Tabla 3.5 se muestra los aminoácidos inicial y final de cada hélice  $\alpha$  así como el número de aminoácidos que las constituyen y su secuencia aminoacídica (86).

**Tabla 3.5**  
**Hélices  $\alpha$  presentes en GLP – 1 Amida.**

Hélices $\alpha$					
N°	Inicio	Final	Tipo	N° de Residuo	Secuencia
1.	Ser8	Glu21	H	14	SDVSSYLEGQAAKE
2.	Ile23	Leu26	H	4	IAWL

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.1.3.1.2. Giros $\beta$

Los giros  $\beta$  se forman por la interacción de enlace de hidrógeno entre los residuos  $i$  e  $i + 3$ . Son elementos de la estructura secundaria que causan un cambio en la dirección de la cadena polipeptídica lo que permite que la proteína se pliegue sobre sí misma. En la estructura de GLP – 1 Amida se presentan 4 giros  $\beta$ . En la Tabla 3.6 podemos ver los residuos que conforman cada uno de los giros, su secuencia de residuos y la medida de los ángulos Psi ( $\psi$ ), Phi ( $\phi$ ) y Chi ( $\xi$ ), además de que se muestra si hay presencia de enlaces de hidrógeno (86).

**Tabla 3.6**  
**Giros  $\beta$  presentes en GLP – 1 Amida.**

Giros $\beta$									
N°	Giro	Secuencia	Residuo $i + 1$			Residuo $i+2$			Enlaces de hidrogeno
			Phi	Psi	Chi	Phi	Psi	Chi	
1.	His1-Gly4	HAEG	-96.1	-46.9	-	-91.2	-47.4	-70.7	Si
2.	Ala2-Thr5	AEGT	-91.2	-47.4	-70.7	-97.7	86.0	-	Si
3.	Thr5-Ser8	TFTS	-64.6	55.1	-59.3	-142.3	-63.4	41.5	Si
4.	Leu26-Gly29	LVKG	-107.5	-35.7	-175.7	-113.8	20.2	-58.7	Si

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.1.3.1.3. Giro $\gamma$

Un giro  $\gamma$ , es un elemento de la estructura secundaria presente en nuestra proteína, donde la cadena polipeptídica invierte su dirección general. En este giro se produce el enlace de hidrógeno entre los residuos  $i$  e  $i \pm 2$ . GLP – 1 Amida solo presenta un giro  $\gamma$  dentro de toda la estructura, en la Tabla 3.7 se puede visualizar en donde comienza y termina el giro, la secuencia de aminoácidos y la medida de los ángulos  $\psi$ ,  $\phi$  y  $\xi$  (86).

**Tabla 3.7**  
**Giro  $\gamma$  presente en GLP – 1 Amida.**

N°	Inicio	Final	Secuencia	Giros $\gamma$		
				Residuo i+1		
				Phi	Psi	Chi
1.	Thr5	Thr7	TFT	-64.6	55.1	-59.3

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.1.3.2. Estructura terciaria

Se obtuvo la conformación tridimensional que forma la cadena aminoacídica, denominada estructura terciaria del Protein Data Bank con el código 1D0R, esta estructura cuenta con 30 aminoácidos y se le agregó el grupo Amida a la arginina terminal (86).

**Figura 3.4**  
**Estructura de GLP – 1 Amida**



**Fuente: Protein Data Bank, (87).**

### **3.1.4. Análisis de la estructura final obtenida**

#### **3.1.4.1. Diagrama de Ramachandran**

El servidor PDBsum arrojó los siguientes datos: de los 30 residuos, 16 estaban en las regiones favorecidas (A, B y L), estas regiones simbolizadas con letras mayúsculas son regiones rojas que corresponden a las regiones centrales que representan las combinaciones más favorables para valores  $\phi$ - $\psi$ . Estos 16 residuos representan un 64.0 %. En las regiones permitidas (a, b, l, p) están presentes 9 residuos que equivalen a un 36 % del total. En las regiones permitidas generosamente y no permitidas, no se encontró ningún residuo. Este análisis fue basado en 118 estructuras de resolución de al menos 2.0 ángstrom y un factor R no mayor a 20.0. Según estos parámetros, es considerada una estructura de buena calidad si el porcentaje de las regiones más favorecidas (A, B y L) supera el 90 %, en este caso este porcentaje no es superado debido a que los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  no son posibles entre los átomos de los residuos. Entre los átomos de los residuos involucrados en los contactos defectuosos (así llamados a todo el par de átomos enlazados que se encuentren a una distancia menor de 2.6 ángstrom entre sí), encontramos a los átomos de los residuos Ala19 e Ile23, estos datos están en la Tabla 3.8 (89).

**Tabla 3.8**  
**Contactos Defectuosos**

Contactos Defectuosos									
Residuo 1				Residuo 2				Tipo de contacto	
N°	Cadena	Tipo	ATM	N°	Cadena	Tipo	ATM		
19	A	Ala	O	->	23	A	Ile	CG1	M-S

**Fuente: Elaboración propia.**

Estos contactos se dan entre dos residuos. En la tabla se visualiza el tipo de residuo, el átomo interactuante, el número de residuo y la interacción que se da entre estos dos pares de residuos. El contacto que se dio fue de la segunda cadena principal con la cadena lateral (S-M) (89).

### 3.2. Estructura del receptor intermenbranar de la hormona similar al glucagón tipo 1

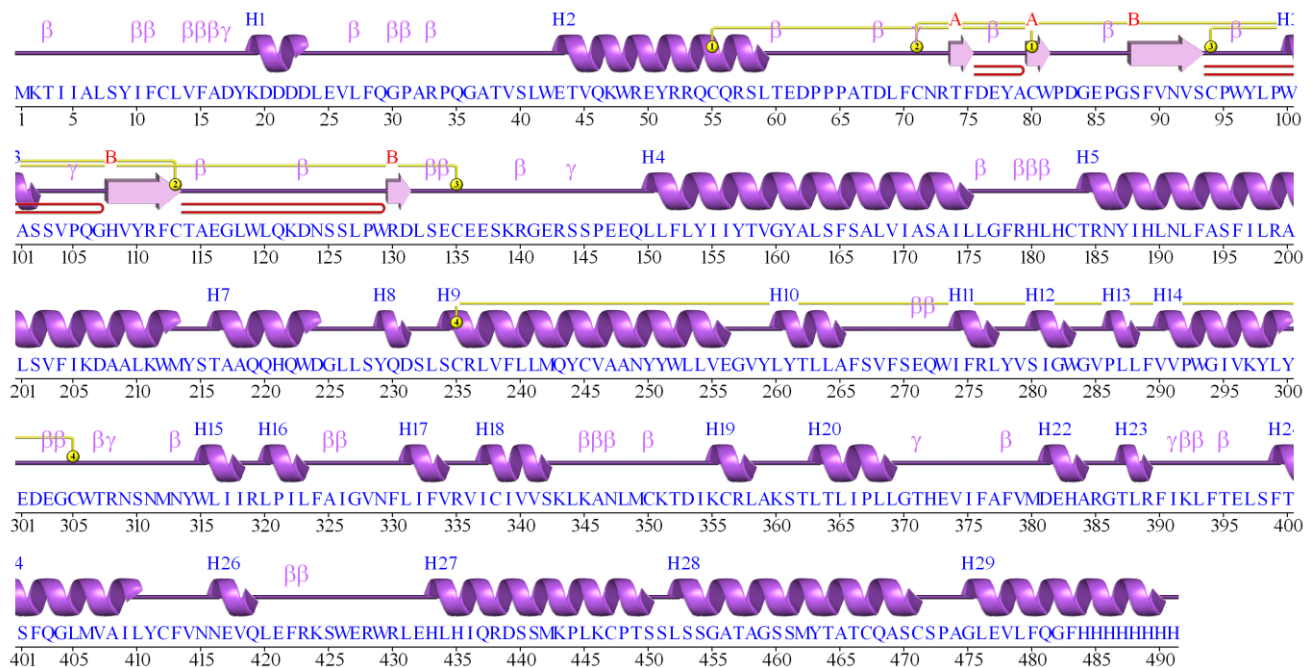
#### 3.2.1. GLP – 1R

##### 3.2.1.1. Estructura secundaria

Las estructuras secundarias que contiene GLP – 1R, son el resultado del plegamiento de la cadena aminoacídica y la estabilización debida a los enlaces de hidrógeno que permiten la formación de hélices  $\alpha$  y hojas  $\beta$ . En el caso de esta proteína, presenta 29 hélices  $\alpha$ , 37 interacciones helice-helice, 42 giros  $\beta$ , 8 giros  $\gamma$ , 5  $\beta$  strands, 2  $\beta$  sheets y 4 puentes disulfuro, las hélices están representadas con una letra H mayúscula, los giros  $\beta$  y  $\gamma$  con las letras griegas respectivas, los  $\beta$  strands están representados con flechas y los puentes disulfuro con enlaces amarillos (89).

**Figura 3.5**

**Estructura secundaria de GLP – 1R, H representa las  $\alpha$  hélices,  $\gamma$  y  $\beta$  los giros respectivos.**



**Fuente: Elaboración propia**

### 3.2.1.1.1. Hélices $\alpha$

Las hélices  $\alpha$  mantienen su forma gracias a las interacciones del tipo enlace de hidrógeno entre los átomos de oxígeno del grupo carbonilo de un aminoácido y el átomo de hidrógeno del grupo amino de otro aminoácido situado a cuatro enlaces peptídicos de distancia en la cadena. Esta conformación se repite 29 veces en nuestra proteína. En la Tabla 3.9 se muestra los aminoácidos inicial y final de cada hélice  $\alpha$ , así como el número de aminoácidos que las constituyen y su secuencia aminoacídica (89).

**Tabla 3.9**  
**Hélices  $\alpha$  presentes en GLP – 1R.**

Hélices $\alpha$					
N°	Inicio	Final	Tipo	N° de Residuo	Secuencia
1.	Lys19	Asp23	H	5	KDDDD
2.	Glu43	Leu59	H	17	ETVQKWREYRRQCQRSL
3.	Trp100	Ser102	G	3	WAS
4.	Leu150	Leu175	H	26	LLFLYIIYTVGYALSFSALVIASAIL
5.	Thr184	Asn186	G	3	TRN
6.	Tyr187	Met213	H	27	YIHLNLFASFILRALSVEFIKDAALKWM
7.	Thr216	Asp224	H	9	TAAQQHQWD
8.	Tyr229	Asp231	G	3	YQD
9.	Ser234	Glu256	H	23	SCRLVFLMQYCVAANYWLLVE
10.	Leu260	Ala265	H	6	LYTLLA
11.	Ile274	Leu277	H	4	IFRL
12.	Ser280	Trp283	H	4	SIGW
13.	Pro286	Leu288	G	3	PLL
14.	Val290	Tyr300	H	11	VVPWGIVKYLY
15.	Trp315	Ile318	H	4	WLII
16.	Leu320	Leu323	H	4	LPIL
17.	Leu331	Val334	H	4	LIFV
18.	Ile337	Ser342	H	6	ICIVVS
19.	Lys355	Leu358	H	4	KCRL
20.	Leu363	Leu365	G	3	LTL
21.	Ile366	Leu369	H	4	IPLL
22.	Asp381	Ala384	H	4	DEHA
23.	Thr387	Arg389	G	3	TLR
24.	Phe399	Phe402	G	4	FTSF
25.	Gln403	Leu410	H	8	QGLMVAIL
26.	Asn416	Gln419	H	4	NEVQ
27.	His433	Ser450	H	18	HLHIQRDSSMKPLKCPTS
28.	Leu452	Cys471	H	20	LSSGATAGSSMYTATCQASC
29.	Gly475	His490	H	16	GLEVLVQGFHHHHHHH

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.2.1.1.2. Giros $\beta$

Los giros  $\beta$  se forman por la interacción de enlace de hidrógeno entre los residuos  $i$  e  $i + 3$ . Son elementos de la estructura secundaria que causan un cambio en la dirección de la cadena polipeptídica lo que permite que la proteína se pliegue sobre sí misma. En la estructura de GLP – 1R se presentan 42 giros  $\beta$ . En la Tabla 3.10 podemos ver los residuos que conforman cada uno de los giros, su

secuencia de residuos y la medida de los ángulos Psi ( $\psi$ ), Phi ( $\phi$ ) y Chi ( $\xi$ ), además de que se muestra si hay presencia de enlaces de hidrógeno (89).

**Tabla 3.10**  
**Giros  $\beta$  presentes en GLP – 1R.**

N°	Giro	Secuencia	Giros $\beta$						Enlaces de hidrogeno
			Residuo i + 1			Residuo i+2			
			Phi	Psi	Chi	Phi	Psi	Chi	
1.	Lys2-Ile5	KTII	-118.7	-9.8	57.1	-84.2	1.9	60	Si
2.	Tyr9-Cys12	YIFC	-68.3	-36.7	-163.1	-70.8	-1.7	-44.8	No
3.	Ile10-Leu13	IFCL	-70.8	-1.7	-44.8	-92	-29.1	-66.1	Si
4.	Leu13-Ala16	LVFA	78	-60.3	-166.2	-69.8	-42.1	-171.7	Si
5.	Val14-Asp17	VFAD	-69.8	-42.1	-171.7	-80.4	-5	-	Si
6.	Phe15-Tyr18	FADY	-80.4	-5	-	-82.7	82	-75.2	Si
7.	Val26-Gln29	VLFQ	-66.4	-19.2	-173.9	-113.4	16.4	-52	No
8.	Gln29-Ala32	QGPA	109.3	-160	-	-72.2	-3.8	25	Si
9.	Gly30-Arg33	GPAR	-72.2	-3.8	25	-61.9	-16.9	-	No
10.	Ala32-Gln35	ARPQ	-41.1	-53.5	-174.6	-77.1	-12.8	27	No
11.	Leu59-Asp62	LTED	-83.2	-15.3	43.2	-78.6	-30.8	-143.1	Si
12.	Thr67-Phe70	TDLF	-52.9	-38.8	-148.8	-91.1	116.9	-84.5	Si
13.	Asp76-Ala79	DEYA	107.1	-13.7	-157.1	-132.6	-46	-170.7	Si
14.	Glu85-Ser88	EPGS	-47.8	104.1	-25.6	112	52.7	-	Si
15.	Pro95-Leu98	PWYL	-76.5	-0.7	45.5	-98.9	-11.4	64.6	No
16.	Thr114-Gly117	TAEG	-39.7	-37.7	-	-83.6	-17.6	-174.5	No
17.	Lys122-Ser125	KDNS	-50	-50.4	173.8	-133.1	37.6	-104.6	Si
18.	Leu132-Cys135	LSEC	-59	-36.5	60.3	-94.3	18.2	-51.5	No
19.	Ser133-Glu136	SECE	-94.3	18.2	-51.5	-145.7	9.7	-170.2	Si
20.	Lys139-Glu142	KRGE	-84.6	-29.2	-179.6	-118.1	-153	-	Si
21.	Leu175-Phe178	LLGF	-101.9	23.8	-67.5	-117.7	-55	-	Si
22.	Phe178-Leu181	FRHL	-44.6	-34.1	175	-50.1	-45	-162.9	No
23.	Arg179-His182	RHLH	-50.1	-45	-162.9	-104.1	-10	-66.5	Si
24.	His180-Cys183	HLHC	-104.1	-10	-66.5	-91	68.8	-165.2	Si
25.	Ser270-Trp273	SEQW	-60	-8.7	-152	-76.9	-32.9	-54.4	No
26.	Glu271-Ile274	EQWI	-76.9	-32.9	-54.4	-142.8	-7	39.9	Si
27.	Asp302-Cys305	DEGC	-137	29.2	-159.4	124.8	60.3	-	Si
28.	Glu303-Trp306	EGCW	124.8	60.3	-	96	102	-166.1	Si
29.	Trp306-Asn309	WTRN	-130	-27.1	47.3	-82.2	56.7	-65.1	Si
30.	Met312-Trp315	MNYW	-76	-1.1	-147.4	-101.4	-23.7	-40.9	No
31.	Phe324-Gly327	FAIG	-153.8	-49.1	-	-87.8	131.6	-58.5	Si
32.	Ala325-Val328	AIGV	-87.8	131.6	-58.5	113.3	-1.8	-	No
33.	Leu344-Asn347	LKAN	-48.6	4	-143.2	-117.3	-17.8	-	No
34.	Lys345-Leu348	KANL	-117.3	-17.8	-	-81	-38.3	177.3	Si
35.	Ala346-Met349	ANLM	-81	-38.3	177.3	-107.5	58.5	-58.3	Si
36.	Met349-Thr352	MCKT	-93	148.7	-152.4	82.6	24.8	-158.8	Si
37.	Ala377-Met380	AFVM	-85.2	-25	-66.5	-51.6	-28.6	-65.9	Si
38.	Ile391-Phe394	IKLF	-154.9	146.6	61.6	83.2	15.2	-76.8	Si
39.	Lys392-Thr395	KLFT	83.2	15.2	-76.8	-164.7	41.6	53	Si

40.	Phe394-Leu397	FTEL	-116.2	-54.4	68.8	-86.3	-49.2	170	Si
41.	Glu421-Lys424	EFRK	-83	-7.7	-140	-73.9	-23.9	-72.7	No
42.	Phe422-Ser425	FRKS	-73.9	-23.9	-72.7	-89.8	-46.7	-49.5	Si

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.2.1.1.3. Giro $\gamma$

Un giro  $\gamma$ , es un elemento de la estructura secundaria presente en nuestra proteína, donde la cadena polipeptídica invierte su dirección general. En este giro se produce el enlace de hidrógeno entre los residuos  $i$  e  $i \pm 2$ . GLP – 1R presenta 8 giros  $\gamma$  dentro de toda la estructura, en la Tabla 3.11 se puede visualizar en donde comienza y termina el giro, la secuencia de aminoácidos y la medida de los ángulos  $\psi$ ,  $\phi$  y  $\xi$  (89).

**Tabla 3.11**  
**Giro  $\gamma$  presentes en GLP – 1R.**

N°	Inicio	Final	Secuencia	Giros $\gamma$		
				Residuo $i + 1$		
				Phi	Psi	Chi
1.	Leu13	Phe15	L V F	78	-60.3	-166.2
2.	Ala16	Tyr18	A D Y	-82.7	82	-75.2
3.	Phe70	Asn72	F C N	-86.8	57.8	-79.2
4.	Val104	Gln106	V P Q	-73.1	102.4	15.1
5.	Arg145	Ser145	R S S	-75.4	94.9	52.2
6.	Thr307	Asn309	T R N	-82.2	56.7	-65.1
7.	Gly370	His372	G T H	-91.7	77.9	49.7
8.	Phe390	Lys392	F I K	-94.3	85.7	-44.3

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.2.1.1.4. Hojas $\beta$

Se visualizó la aparición de 2 hojas  $\beta$  (A Y B), que constan de 2 y 3 hebras respectivamente, estas hojas beta son de tipo antiparalelo como se muestra en la Tabla 3.12, las hebras de la hoja  $\beta$  (A) están comprendidas entre la Thr74 y Phe75 y la segunda hebra está comprendida entre la Cys80 y Trp81, ambas con una longitud de dos residuos. Para la segunda hoja  $\beta$  (B) sus 3 hebras de la están comprendidas entre la Ser88 y Ser93, la segunda hebra está comprendida entre la His108 y Cys113 y por último su tercera hebra está comprendida entre Arg130 y Asp131, teniendo las dos primeras hebras una longitud de seis residuos y la

última hebra con una longitud de dos residuos, esto se muestra en la Tabla 3.13 (89).

**Tabla 3.12**  
**Hojas  $\beta$  presentes en GLP – 1R.**

Hoja $\beta$		
Hoja $\beta$	N° de Hebras	Tipo
A	2	Antiparalelas
B	3	Antiparalelas

**Fuente: Elaboración propia.**

**Tabla 3.13**  
 **$\beta$  strands que conforman las hojas  $\beta$  presentes en GLP – 1R.**

$\beta$ Strands					
N°	Inicio	Final	Sheet	N° de Residuo	Secuencia
1.	Thr74	Phe75	A	2	TF
2.	Cys80	Trp81	A	2	CW
3.	Ser88	Ser93	B	6	SFVNVS
4.	His108	Cys113	B	6	HVYRFC
5.	Arg130	Asp131	B	2	RD

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.2.1.1.5. Puentes disulfuro

Los puentes disulfuro se establecen entre aminoácidos de cisteína, son interacciones covalentes y son importantes para el proceso de plegamiento, función o estabilidad de la proteína, en GLP – 1R están presentes 4 puentes disulfuro a lo largo de su estructura que se pueden ver en la Tabla 3.14 (89).

**Tabla 3.14**

**Puentes disulfuros presentes en GLP – 1R.**

Puentes disulfuro		
Inicio	Final	Longitud
Cys55	Cys80	25
Cys71	Cys113	42
Cys94	Cys135	41
Cys235	Cys305	70

**Fuente: Elaboración propia.**

### 3.2.1.2. Estructura terciaria

Se obtuvo la conformación tridimensional que forma la cadena aminoacídica, denominada estructura terciaria del Protein Data Bank con el código 7KI1, esta estructura cuenta con 491 aminoácidos, algunos residuos no se encontraban en el archivo de formato .pdb inicial, pero con el programa UCSF Quimera, se añadieron para poder completar la proteína en su totalidad (89).

**Figura 3.6****Estructura de GLP – 1R obtenida en Protein Data Bank****Fuente: Elaboración propia.****Fuente: Elaboración propia**

### 3.2.2. Análisis de la estructura final obtenida

#### 3.2.2.1. Diagrama de Ramachandran

El servidor PDBsum arrojó los siguientes datos: de los 491 residuos, 372 estaban en las regiones favorecidas (A, B y L), estas regiones simbolizadas con letras mayúsculas, son regiones rojas que corresponden a las regiones centrales que representan las combinaciones más favorables para valores  $\phi$ - $\psi$ . Estos 372 residuos representan un 83.2%. En las regiones permitidas (a, b, l, p) están presentes 62 residuos que equivalen a un 13.9 % del total. En las regiones permitidas generosamente se encuentran 11 residuos que equivalen a un 2.5%. en las regiones

no permitidas se encuentran 2 residuos que equivalen al 0.4%. Este análisis fue basado en 118 estructuras de resolución de al menos 2.0 ángstrom y un factor R no mayor a 20.0. Según estos parámetros, es considerada una estructura de buena calidad si el porcentaje de las regiones más favorecidas (A, B y L) supera el 90 %, en este caso este porcentaje no es superado debido a que los ángulos  $\phi$  y  $\psi$  no son posibles entre los átomos de los residuos. Entre los átomos de los residuos involucrados en los contactos defectuosos, encontramos a los átomos de los residuos, Arg423, Trp426, Arg430, Leu431, Glu432, His433, Ser440, Ser441, Pro444, Leu445, Thr449, Ser450, Ala469, Ser470, Cys471, Ser472, Pro473, Pro473, Gly475, Arg438, Asp439, Ile436, His435, His433, Ile436, Pro444, Pro448, Ser454, Ser451, Pro473, Glu477, Ala474, Val478, estos datos están en la Tabla 3.15 (89).

**Tabla 3.15:**

**Estos contactos se dan entre dos residuos. En la tabla se visualiza el tipo de residuo, el átomo interactuante, el número de residuo y la interacción que se da entre estos dos pares de residuos. Hay dos tipos de contacto, la primera es cadena lateral con cadena lateral (S-S) y la segunda cadena lateral con cadena principal (S-M).**

Contactos Defectuosos									
Residuo 1				Residuo 2				Tipo de contacto	
N°	Cadena	Tipo	ATM	N°	Cadena	Tipo	ATM		
423	A	Arg	CG	->	438	A	Arg	NH2	S-S
426	A	Trp	CD2	->	439	A	Asp	OD1	S-S
430	A	Arg	NH1	->	436	A	Ile	CD1	S-S
431	A	Leu	CD1	->	435	A	His	NE2	S-S
432	A	Glu	CG	->	433	A	His	N	S-M
433	A	His	O	->	436	A	Ile	CG2	M-S
440	A	Ser	O	->	444	A	Pro	CD	M-S
441	A	Ser	O	->	444	A	Pro	CD	M-S
444	A	Pro	O	->	448	A	Pro	CD	M-S
445	A	Leu	O	->	448	A	Pro	CD	M-S
449	A	Thr	O	->	454	A	Ser	CB	M-S
450	A	Ser	O	->	451	A	Ser	O	M-M
450	A	Ser	N	->	454	A	Ser	CB	M-S
469	A	Ala	O	->	473	A	Pro	CD	M-S
469	A	Ala	O	->	477	A	Glu	OE2	M-S
470	A	Ser	O	->	473	A	Pro	CD	M-S
471	A	Cys	O	->	477	A	Glu	CB	M-S

472	A	Ser	CA	->	477	A	Glu	CG	M-S
473	A	Pro	O	->	474	A	Ala	O	M-M
473	A	Pro	N	->	477	A	Glu	CD	M-S
475	A	Gly	O	->	478	A	Val	CG1	M-S

Fuente: Elaboración propia

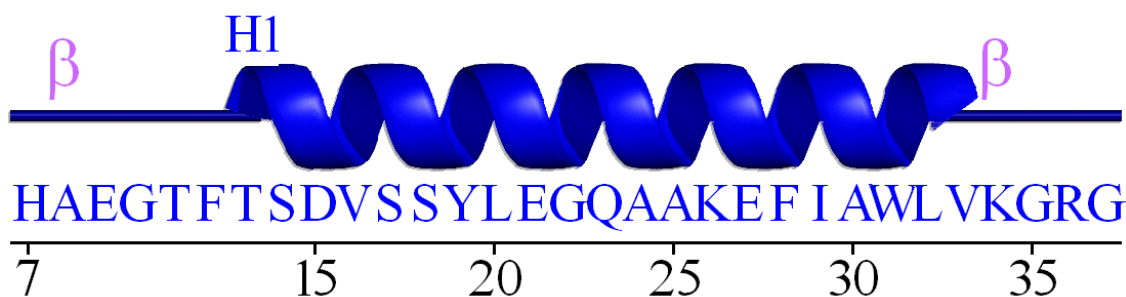
### 3.3. Minimización de las estructuras terciarias de las formas activas de la Hormona Similar al Glucagón Tipo 1

#### 3.3.1. GLP – 1

Después de someter GLP – 1 a una minimización de energía, se obtuvo una conformación ligeramente diferente a la inicial, esta consta de 1 hélice  $\alpha$  y dos giros  $\beta$  y ya no presenta giros gamma. Como se observa en la Figura 3.7, las hélices  $\alpha$  están representadas por una H mayúscula, los giros  $\beta$  están simbolizados con su letra griega respectivas (89).

Figura 3.7:

Estructura secundaria de GLP – 1 luego de la minimización energética, las hélices  $\alpha$  son representadas por letras H, los giros  $\beta$  representados con su respectiva letra griega. La figura fue obtenida del servidor PDBsum.



Fuente: Elaboración propia

#### 3.3.1.1. Hélices $\alpha$

La estructura después de la minimización posee 1 hélice  $\alpha$ . En comparación con la estructura obtenida del Protein Data Bank, posee el mismo número de hélices  $\alpha$  y esta hélice no cambio su conformación iniciando en Thr13 y finaliza en la Val33 donde participan 21 residuos, como se visualiza en la Tabla 3.16 (89).

**Tabla 3.16:**

Se muestra la hélice  $\alpha$  presente en la estructura de GLP – 1, se observa el residuo inicial y final de la hélice, su tipo, el número de residuos que las conforman y su secuencia aminoacídica.

Hélices $\alpha$					
N°	Inicio	Final	Tipo	N° de Residuo	Secuencia
1.	Thr13	Val33	H	21	TSDVSSYLEGQAAKEFIWLV

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.3.1.2. Giros $\beta$

Después de la minimización de energía, la estructura presenta dos giros  $\beta$ . El primer giro está comprendido entre His7 y la Gly10, este giro no presenta ningún enlace de hidrógeno, como se muestra en la Tabla 3.17. El segundo giro está comprendido entre el Val33 y la Arg36, este giro sí tiene un enlace de hidrógeno. Ambos giros constan de cuatro residuos, y en comparación con la estructura inicial, la estructura obtenida después de la minimización presenta el mismo número de giros  $\beta$ , pero el primer giro  $\beta$  es diferente a la estructura inicial (89).

**Tabla 3.17:**

Se visualiza el inicio y final de los giros  $\beta$ , la secuencia de residuos, los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo y tercer residuo.

Giros $\beta$									
N°	Giro	Secuencia	Residuo i + 1			Residuo i+2			Enlaces de hidrogeno
			Phi	Psi	Chi	Phi	Psi	Chi	
1.	His7-Gly10	HAEG	-73.1	-8.5	-	-91.8	-3.6	-166.8	No
2.	Val33-Arg36	VKGR	-110.2	83.6	-74.2	134.9	-11	-	Si

**Fuente: Elaboración propia**

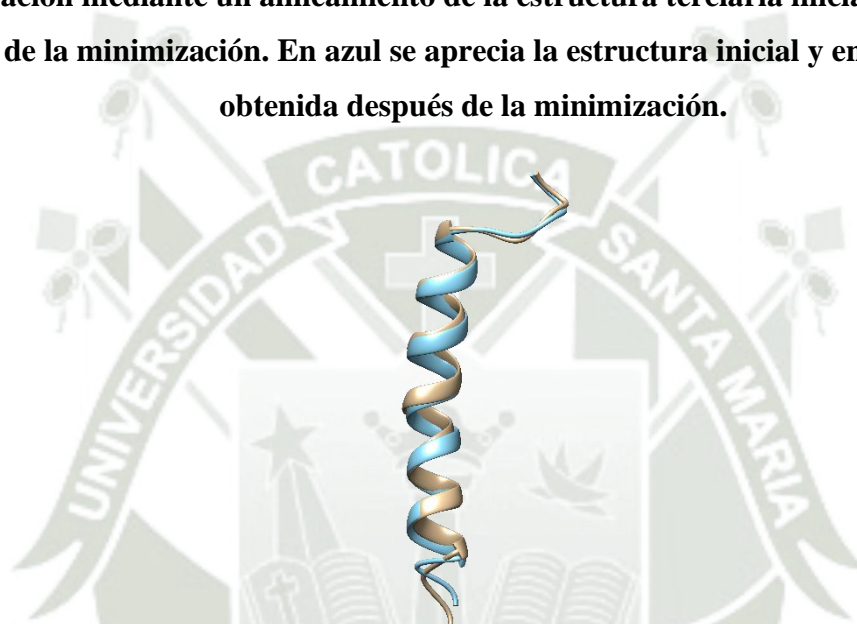
### 3.3.1.3. Estructura terciaria

La estructura terciaria sigue siendo la misma con una ligera diferencia a la estructura inicial (Figura 3.8.). Con este proceso se buscó obtener una estructura optimizada que no genere fuerzas de repulsión altas y que permita realizar las

dinámicas moleculares. Al realizar un RMSD con el programa UCSF Quimera nos da como resultado un valor de 0.573 angstrom comparando 29 pares de átomos, indicándonos que las diferencias entre la disposición de átomos no son grandes. La estructura sigue manteniendo su misma disposición tridimensional como se muestra en la Figura 3.9 (89).

**Figura 3.8:**

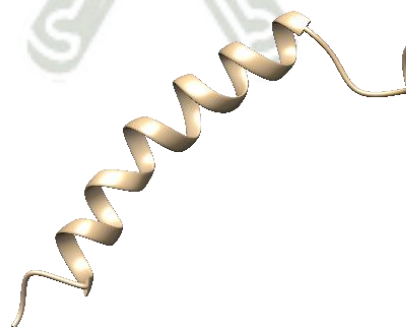
**Comparación mediante un alineamiento de la estructura terciaria inicial y la obtenida después de la minimización. En azul se aprecia la estructura inicial y en color caqui la obtenida después de la minimización.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Figura 3.9:**

**Estructura tridimensional de GLP – 1 después de la minimización.**



**Fuente: Elaboración propia**

### 3.3.2. Análisis de la estructura minimizada obtenida

#### 3.3.2.1. Diagrama de Ramachandran

El servidor PDBsum arrojó los siguientes datos: de los 31 residuos, 24 de ellos se encontraban en las regiones favorecidas (A, B y L). Estos 24 residuos representan un 96 %, En las regiones permitidas (a, b, l, p) está presente 1 residuo lo que equivale a un 4 %. En las regiones permitidas generosamente y regiones no permitidas no encontramos ningún residuo. También en esta estructura no se encontraron malos contactos entre los átomos de los residuos (89).

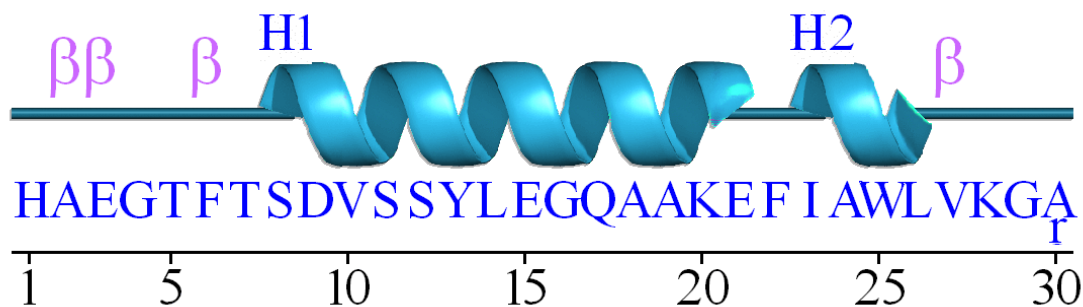
#### 3.3.3. GLP – 1 Amida

Después de someter a la GLP – 1 Amida a una minimización de energía, se obtuvo una conformación ligeramente diferente a la inicial, consta de dos hélices  $\alpha$ , una interacción hélice – hélice, cuatro giros  $\beta$ , un giro  $\gamma$ . Como se observa en la Figura 3.10, las hélices  $\alpha$  están representadas por una H mayúscula y en este caso va desde la H1 hasta la H2. Los giros  $\beta$  y  $\gamma$ , están simbolizadas con las letras griegas respectivas (89).

**Figura 3.10:**

**Estructura secundaria de GLP – 1 Amida luego de la minimización energética, las hélices  $\alpha$  son representadas por letras H, los giros  $\gamma$  y  $\beta$  representados con su respectiva letra griega.**

**La figura fue obtenida del servidor PDBsum.**



**Fuente: Elaboración propia**

**A. Hélices  $\alpha$** 

La estructura después de la minimización posee 2 hélices  $\alpha$ . En comparación con la estructura obtenida del Protein Data Bank, posee la misma cantidad de hélices  $\alpha$ . Éstas comienzan en la Ser8 y finaliza en la Glu21 donde participan 14 residuos, la siguiente hélice alfa empieza en Ile23 y finaliza en Leu26, como se visualiza en la Tabla 3.18. En comparación con la estructura inicial, sigue manteniendo las mismas hélices conservando las posiciones de los residuos (89).

**Tabla 3.18:**

**Se muestra las hélices  $\alpha$  presentes en la estructura de GLP – 1 Amida, se observa el residuo inicial y final de la hélice, su tipo, el número de residuos que las conforman y su secuencia aminoacídica.**

<b>Hélices <math>\alpha</math></b>					
<b>N°</b>	<b>Inicio</b>	<b>Final</b>	<b>Tipo</b>	<b>N° de Residuo</b>	<b>Secuencia</b>
1.	Ser8	Glu21	H	14	SDVSSYLEGQAAKE
2.	Ile23	Leu26	H	4	IAWL

**B. Fuente: Elaboración propia****C. Giros  $\beta$** 

La estructura minimizada tiene cuatro giros  $\beta$ . El primer giro está comprendido entre His1 y la Gly4. En el caso del segundo giro, éste está comprendido entre Ala2 y Thr5, el tercer giro está comprendido entre Thr5 y Ser8, por último, el cuarto giro  $\beta$  inicia en el aminoácido Leu26 y termina en el aminoácido Gly29, todos estos giros presentan un enlace de hidrogeno, todos los giros  $\beta$  están conformado por 4 residuos, estos giros B siguen manteniéndose de la estructura inicial.

**Tabla 3.19:**

Se visualiza el inicio y final de los giros  $\beta$ , la secuencia de residuos, los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo y tercer residuo.

Giros $\beta$									
N°	Giro	Secuencia	Residuo i + 1			Residuo i+2			Enlaces de hidrogeno
			Phi	Psi	Chi	Phi	Psi	Chi	
1.	His1-Gly4	HAEG	-68.1	-52.4	-	-91.3	-26.5	-65.8	Si
2.	Ala2-Thr5	AEGT	-91.3	-26.5	-65.8	-114.2	100	-	Si
3.	Thr5-Ser8	TFTS	-74.2	47.6	-63.1	-133.5	-59.6	59.5	Si
4.	Leu26-Gly29	LVKG	-109.6	-15	-173.4	-133	18.5	-75	Si

**D. Fuente: Elaboración propia**

**E. Giros  $\gamma$**

El giro  $\gamma$  sigue manteniéndose después de la minimización. Conformado por tres residuos, éste comienza en la Thr5 y termina en la Thr7, como se visualiza en la Tabla 3.20, también se observan los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo residuo.

**Tabla 3.20:**

Se visualiza el inicio y final de los giros  $\gamma$ , la secuencia de residuos, los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo residuo.

Giros $\gamma$						
N°	Inicio	Final	Secuencia	Residuo i+1		
				Phi	Psi	Chi
1.	Thr5	Thr7	TFT	-74.2	47.6	-63.1

**Fuente: Elaboración propia**

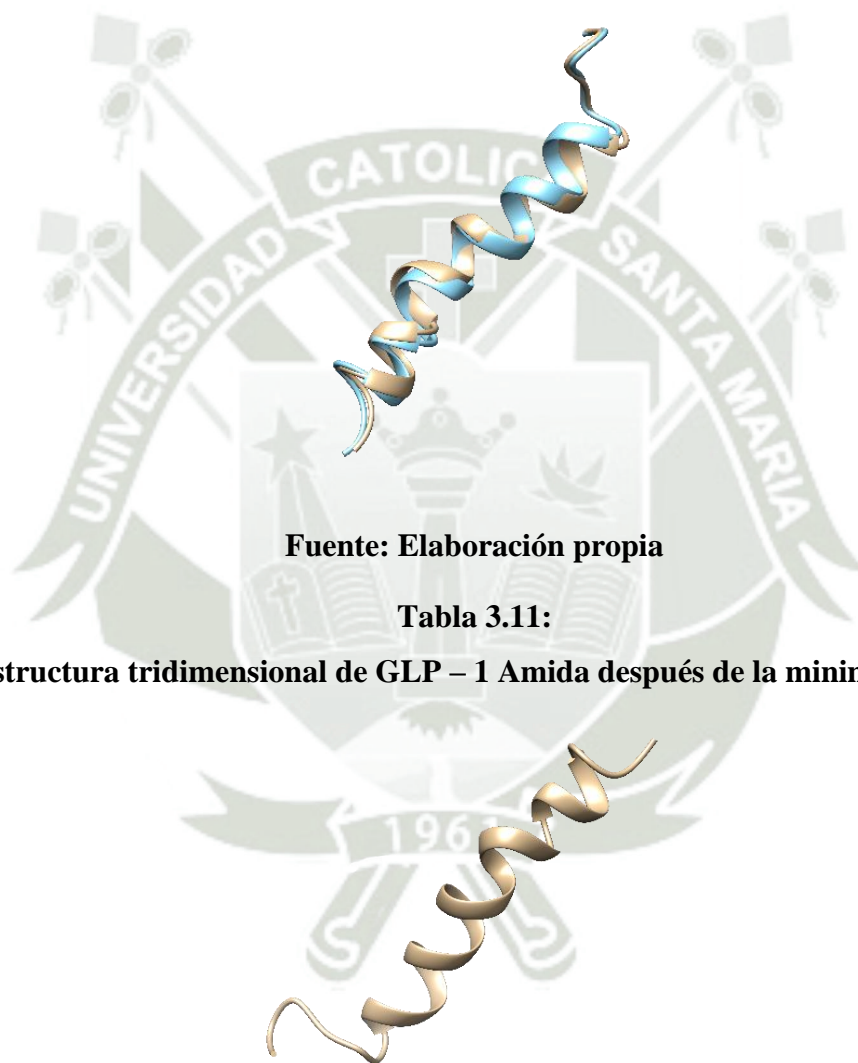
**3.3.3.1. Estructura terciaria**

La estructura terciaria sigue siendo la misma con una ligera diferencia a la estructura inicial (Figura 3.11). Con este proceso se buscó obtener una estructura optimizada que no genere fuerzas de repulsión altas y que permita realizar las dinámicas moleculares. Al realizar un RMSD con el programa UCSF Chimera nos da como resultado un valor de 0.741 angstrom comparando 30 pares de átomos, indicándonos que la diferencia entre la disposición de átomos no es grande. La

estructura sigue manteniendo su misma disposición tridimensional como se muestra en la Figura 3.12 (89).

**Figura 3.10:**

**Comparación mediante un alineamiento de la estructura terciaria inicial y la obtenida después de la minimización. En azul se aprecia la estructura inicial y en color caqui la obtenida después de la minimización.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.11:**

**Estructura tridimensional de GLP – 1 Amida después de la minimización.**

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.3.4. Análisis de la estructura minimizada obtenida

#### 3.3.4.1. Diagrama de Ramachandran

El servidor PDBsum arrojó los siguientes datos: de los 30 residuos, 21 de ellos se encontraban en las regiones favorecidas (A, B y L). Estos 21 residuos representan un 84 %. aumentando en un 20 % este porcentaje en comparación de la estructura inicial, En las regiones permitidas (a, b, l, p) están presentes 4 residuos lo que equivale a un 16 %, disminuyendo en un 20 % este porcentaje en comparación de la estructura inicial. En las regiones permitidas generosamente y regiones no permitidas no encontramos ningún residuo, a pesar de no llegar al 90% en regiones favorecidas debido al hecho que en la estructura existen 4 glicinas las cuales el diagrama de Ramachandran no evalúa y que reducen el porcentaje en esta zona, se vio un considerable aumento que significaría que la proteína es estructuralmente correcta. También en esta estructura no se encontraron malos contactos entre los átomos de los residuos (89).

### 3.4. Minimización de la estructura terciaria de GLP – 1R

#### 3.4.1. GLP – 1R

Después de someter GLP1R a una minimización de energía, se obtuvo una conformación ligeramente diferente a la inicial, esta consta de 30 hélices  $\alpha$ , 29 interacciones hélice – hélice, 76 giros  $\beta$ , 12 giro  $\gamma$ , una hoja  $\beta$  que consta de 2 hebras. Como se observa en la Figura 3.12, las hélices  $\alpha$  están representadas por una H mayúscula y en este caso va desde la H1 hasta la H28. Los giros  $\beta$  y  $\gamma$ , están simbolizadas con las letras griegas respectivas (89).



**Tabla 3.21:**

Se muestra las hélices  $\alpha$  presentes en la estructura de GLP – 1R, se observa el residuo inicial y final de la hélice, su tipo, el número de residuos que las conforman y su secuencia aminoacídica.

Hélices $\alpha$					
N°	Inicio	Final	Tipo	N° de Residuo	Secuencia
1.	Asp21	Leu24	H	4	DDDL
2.	Trp42	Thr44	G	3	WET
3.	Gln46	Gln56	H	11	QKWREYRRQCQ
4.	Leu150	Leu175	H	26	LLFLYIIYTVGYALSFSALVIASAIL
5.	Thr184	Asn186	G	3	TRN
6.	Tyr187	Ile205	H	19	YIHLNLFASFILRALS VFI
7.	Thr216	Asp224	H	9	TAAQQHQWD
8.	Leu233	Cys235	G	3	LSC
9.	Val238	Val255	H	18	VFLLMQYCVAANYWLLV
10.	Tyr259	Tyr261	G	3	YLY
11.	Ile274	Leu277	G	4	IFRL
12.	Ser280	Trp283	H	4	SIGW
13.	Val285	Leu288	G	4	VPLL
14.	Val290	Tyr300	H	11	VVPWGIVKYLY
15.	Trp315	Ile317	G	3	WLI
16.	Leu320	Leu323	H	4	LPIL
17.	Leu331	Phe333	G	3	LIF
18.	Cys338	Ser342	H	5	CIVVS
19.	Pro367	Leu369	G	3	PLL
20.	Asp381	Arg385	H	5	DEHAR
21.	Thr387	Arg389	G	3	TLR
22.	Phe399	Phe402	G	4	FTSF
23.	Gln403	Tyr411	H	9	QGLMVAILY
24.	Asn416	Glu421	H	6	NEVQL
25.	Leu434	Lys446	H	13	LHIQRDSSMKPLK
26.	Pro448	Ser450	G	3	PTS
27.	Ser454	Thr466	H	13	SGATAGSSMYTAT
28.	Gln468	Cys471	H	4	QASC
29.	Ser472	Leu476	I	5	SPAGL
30.	Glu477	His489	H	13	EVLFGQGFHHHHH

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.4.1.2. Giros $\beta$

La estructura presenta 76 giros  $\beta$ . En comparación con la estructura obtenida del Protein Data Bank, tenemos 24 giros  $\beta$  más, todos están conformados por 4 residuos, pero en comparación a los giros  $\beta$  de la estructura inicial, la posición y

residuos han variado entre cada uno de ellos, como se puede observar en la Tabla 3.22 (89).

**Tabla 3.22:**

**Se visualiza el inicio y final de los giros  $\beta$ , la secuencia de residuos, los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo y tercer residuo.**

N°	Giro	Secuencia	Giros $\beta$						Enlaces de hidrogeno
			Residuo i + 1			Residuo i+2			
			Phi	Psi	Chi	Phi	Psi	Chi	
1.	Lys2-Ile5	KTII	-65.9	8.7	39.9	-135.6	5.5	45.5	No
2.	Ala6-Tyr9	ALSY	-65.6	-11.6	-59.5	-81.8	-8.3	47.6	No
3.	Leu7-Ile10	LSYI	-81.8	-8.3	47.6	-143.7	-28.3	172.5	Si
4.	Tyr9-Cys12	YIFC	-68	-9.4	-157.1	-91.6	-9.5	-70.8	No
5.	Ile10-Leu13	IFCL	-91.6	-9.5	-70.8	-92.4	-4.8	-54.4	Si
6.	Leu13-Ala16	LVFA	79.2	-44.4	-178.8	-77.1	-43.1	179.6	Si
7.	Val14-Asp17	VFAD	-77.1	-43.1	179.6	-84.2	-3	-	Si
8.	Phe15-Tyr18	FADY	-84.2	-3	-	-99.2	31.5	-76.9	Si
9.	Leu24-Leu27	LEVL	-67.9	-20.8	179.9	-127.3	7.5	-72.3	Si
10.	Val26-Gln29	VLFQ	-59.9	-24.1	-177.2	-117.4	34.8	-62.7	No
11.	Gln29-Ala32	QGPA	104.3	-156	-	-66.1	5.8	23.5	Si
12.	Gly30-Arg33	GPAP	-66.1	5.8	23.5	-77.4	-22.9	-	No
13.	Pro31-Pro34	PARP	-77.4	-22.9	-	-48	-44.6	-174	Si
14.	Ala32-Gln35	ARPQ	-48	-44.6	-174	-87.4	-0.3	33.5	No
15.	Ser58-Glu61	SLTE	-91.7	-12.3	-59.7	-91.8	-41.2	56	Si
16.	Leu59-Asp62	LTED	-91.8	-41.2	56	-78.1	6.4	-158.8	Si
17.	Thr60-Pro63	TEDP	-78.1	6.4	-158.8	-130.2	125.4	166.3	Si
18.	Thr67-Phe70	TDLF	-57.3	-42.9	172.3	-89.7	117	-73	Si
19.	Glu85-Ser88	EPGS	-48.4	90.2	-25.3	105.7	66	-	Si
20.	Pro95-Leu98	PWYL	-80.3	61.3	42.9	-129.9	-37.5	75.8	No
21.	Leu98-Ala101	LPWA	-43.8	-40.5	-30.6	-71.3	-49.8	56.1	Si
22.	Pro99-Ser102	PWAS	-71.3	-49.8	56.1	-64.6	-16.4	-	Si
23.	Trp100-Ser103	WASS	-64.6	-16.4	-	-92.4	18.5	-55.2	No
24.	Ala101-Val104	ASSV	-92.4	18.5	-55.2	-155.6	-40.7	56.3	Si
25.	Thr114-Gly117	TAEG	-73	8.8	-	-96.4	-16.2	-169.3	No
26.	Lys122-Ser125	KDNS	-76.1	-64.8	-176.5	-141.4	2.6	-90	Si
27.	Leu132-Cys135	LSEC	-55.6	-44.4	55.2	-87.4	32.6	-58.5	No
28.	Ser133-Glu136	SECE	-87.4	32.6	-58.5	-149.4	-37.7	-166.5	Si
29.	Lys139-Glu142	KRGE	-82.2	-44.6	175.9	-116.5	-57.4	-	Si
30.	Glu147-Leu150	EEQL	-59.4	-40.3	-159	-75.4	-24.2	73.6	No
31.	Leu175-Phe178	LLGF	-77.8	-13.5	-73.5	-99.5	-11.4	-	Si
32.	Phe178-Leu181	FRHL	-67.2	-25.1	179.7	-67.3	-15	-162.3	No
33.	Arg179-His182	RHLH	-67.3	-15	-162.3	-124.6	-2.9	-68.5	Si
34.	His180-Cys183	HLHC	-124.6	-2.9	-68.5	-123.2	79.9	-173.9	Si
35.	Ile205-Ala208	IKDA	-52.7	-32.1	-166.1	-72.8	-31.5	-174	No
36.	Asp207-Leu210	DAAL	-66.4	-32.7	-	-84.8	-30.5	-	No
37.	Ala208-Lys211	AALK	-84.8	-30.5	-	-75	-18.6	-64.3	Si

38.	Ala209-Trp212	ALKW	-75	-18.6	-64.3	-84.4	-32.5	-77.4	Si
39.	Leu210-Met213	LKWM	-84.4	-32.5	-77.4	-87	-46.6	-164.3	Si
40.	Trp212-Ser215	WMYS	-60.1	-27.4	-84.1	-111.8	-2.4	-57.2	No
41.	Leu227-Gln230	LSYQ	-138.3	-93.4	57.2	-63.2	-26.4	-161.9	Si
42.	Ser228-Asp231	SYQD	-63.2	-26.4	-161.9	-85	21.7	64.2	No
43.	Tyr229-Ser232	YQDS	-85	21.7	64.2	-140.9	-46.6	162.9	Si
44.	Cys235-Val238	CRLV	-82.8	-21.4	-75.5	-76.9	-28.4	-175.1	Si
45.	Val255-Val258	VEGV	-62.1	-30.2	-127.6	-107.2	-4.3	-	No
46.	Glu256-Tyr259	EGVY	-107.2	-4.3	-	-95.7	-13.5	-172	Si
47.	Tyr261-Leu264	YTLL	-85.9	-26.4	-39.3	-75.4	-30.5	-55.2	Si
48.	Thr262-Ala265	TLLA	-75.4	-30.5	-55.2	-83.6	33.5	-155.5	No
49.	Leu263-Phe266	LLAF	-83.6	33.5	-155.5	-156.8	-41.3	-	Si
50.	Ser270-Trp273	SEQW	-70.5	52.1	-163.3	-136.2	-29.2	-67.2	No
51.	Glu271-Ile274	EQWI	-136.2	-29.2	-67.2	-146.1	8	44.9	Si
52.	Asp302-Cys305	DEGC	-129.9	35.2	-158.9	121.6	54.8	-	Si
53.	Glu303-Trp306	EGCW	121.6	54.8	-	85.8	108.1	-167.1	Si
54.	Trp306-Asn309	WTRN	-135.6	-8.8	55.1	-100.6	63.3	-56.2	Si
55.	Met312-Trp315	MNYW	-68.9	-27.1	-158	-73.5	-32.7	-44.3	Si
56.	Ile317-Leu320	IIRL	-104.8	-31.6	83.7	-84.4	-43.2	-53.9	Si
57.	Leu323-Ile326	LFAI	-94.2	-12.7	-69.4	-101.6	-35.1	-	Si
58.	Ala325-Val328	AIGV	-95.2	123.3	-77.5	123.7	-5.3	-	Si
59.	Gly327-Phe330	GVNF	-84.5	-35.3	-177.3	-82.6	119.6	-165.7	Si
60.	Leu344-Asn347	LKAN	-57.5	-18	-158	-72.3	-23.5	-	No
61.	Lys345-Leu348	KANL	-72.3	-23.5	-	-89.6	-44.4	-172.6	Si
62.	Ala346-Met349	ANLM	-89.6	-44.4	-172.6	-85.5	45.4	-57.1	Si
63.	Ile354-Arg357	IKCR	-51	-27.7	52.9	-79.9	6.8	44	No
64.	Lys355-Leu358	KCRL	-79.9	6.8	44	-125.3	-35	-56.6	Si
65.	Cys356-Ala359	CRLA	-125.3	-35	-56.6	-82.4	74.6	-59.9	Si
66.	Arg357-Lys360	RLAK	-82.4	74.6	-59.9	-136	-47.2	-	Si
67.	Leu358-Ser361	LAKS	-136	-47.2	-	110.9	12.1	117.9	Si
68.	Lys360-Leu363	KSTL	-90.1	-4.3	41.7	-140.2	-50.9	59.4	Si
69.	Thr362-Leu365	TLTL	-75.3	-19.7	-63.9	-94.4	8.9	78	No
70.	Leu363-Ile366	LTLI	-94.4	8.9	78	-131.9	30.5	-57.5	Si
71.	Glu373-Phe376	EVIF	84.3	-161.2	55.1	-94.9	68.5	-69.4	Si
72.	Ala377-Met380	AFVM	-70.3	-21.4	-68.2	-82.7	-1.1	-64.8	No
73.	Lys392-Thr395	KLFT	84.4	21.3	-56.8	-170	4.6	63	Si
74.	Phe394-Leu397	FTEL	-86	-54.8	57.3	-84.6	-34.7	-177.9	Si
75.	Thr395-Ser398	TELS	-84.6	-34.7	-177.9	-71.3	37.3	-59.1	Si
76.	Glu396-Phe399	ELSF	-71.3	37.3	-59.1	-152.1	-105	71.7	Si

Fuente: Elaboración propia

### 3.4.1.3. Hojas $\beta$

Después de la minimización de energía se visualizó la aparición de 1 hojas  $\beta$ (A), que consta de 2 hebras, esta hoja  $\beta$  es de tipo antiparalelo, como se muestra en la Tabla 3.23, las hebras de la hoja B (A) están comprendidas entre Ser88 y Ser93, la

segunda hebra está comprendida entre la His108 y Cys113, ambas con una longitud de seis residuos (89).

**Tabla 3.23:**

**hojas  $\beta$  presentes en GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética**

Hoja $\beta$		
Hoja $\beta$	Nº de Hebras	Tipo
A	2	Antiparalelas

**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.24:**

**$\beta$  strands que conforman las hojas  $\beta$  presentes en GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética.**

B Strands					
Nº	Inicio	Final	Sheet	Nº de Residuo	Secuencia
1.	Ser88	Ser93	A	6	SFVNVS
2.	His108	Cys113	A	26	HVYRFC

**Fuente: Elaboración propia**

#### 3.4.1.4. Giros $\gamma$ GG

Los giros  $\gamma$  después de la minimización energética aumentaron a 12. Conformados por tres residuos. En comparación con la estructura inicial obtenida del Protein Data Bank, los giros  $\gamma$  variaron en su posición y conformación como se logra ver en la Tabla 3.25. Finalmente tenemos los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo residuo (89).

**Tabla 3.25:**

Se visualiza el inicio y final de los giros  $\gamma$ , la secuencia de residuos, los ángulos  $\phi$ ,  $\psi$  y  $\xi$  del segundo residuo.

N°	Inicio	Final	Secuencia	Giros $\gamma$		
				Residuo i+1		
				Phi	Psi	Chi
1.	Leu13	Phe15	L V F	79.2	-44.4	-178.8
2.	Phe70	Asn72	F C N	-76.5	59.4	-60.9
3.	Pro95	Tyr97	P W Y	-80.3	61.3	42.9
4.	Val104	Gln106	V P Q	-74.8	97.2	27.5
5.	Glu137	Lys139	E S K	-77.2	92.2	178
6.	Phe266	Val268	F S V	-79.3	47.3	43.1
7.	Ser270	Gln272	S E Q	-70.5	52.1	-163.3
8.	Asn347	Met349	N L M	-85.5	45.4	-57.1
9.	Arg357	Ala359	R L A	-82.4	74.6	-59.9
10.	Gly370	His372	G T H	-75.4	52.2	66.6
11.	Val374	Phe376	V I F	-94.9	68.5	-69.4
12.	Glu396	Ser398	E L S	-71.3	37.3	-59.1

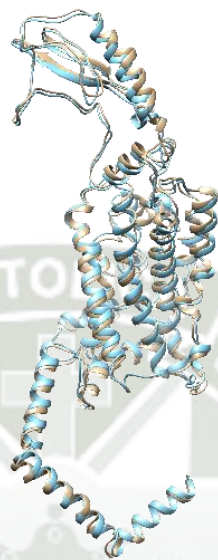
**Fuente: Elaboración propia**

#### 3.4.1.4.1. Estructura terciaria

La estructura terciaria sigue siendo la misma con una ligera diferencia a la estructura inicial (Figura 3.13). Con este proceso se buscó obtener una estructura optimizada que no genere fuerzas de repulsión altas y que permita realizar las dinámicas moleculares. Al realizar un RMSD con el programa UCSF Chimera nos da como resultado un valor de 1.285 angstrom comparando 442 pares de átomos, indicándonos que la diferencia entre la disposición de átomos no es grande. La estructura sigue manteniendo su misma disposición tridimensional como se muestra en la Figura 3.14 (89).

**Figura 3.13:**

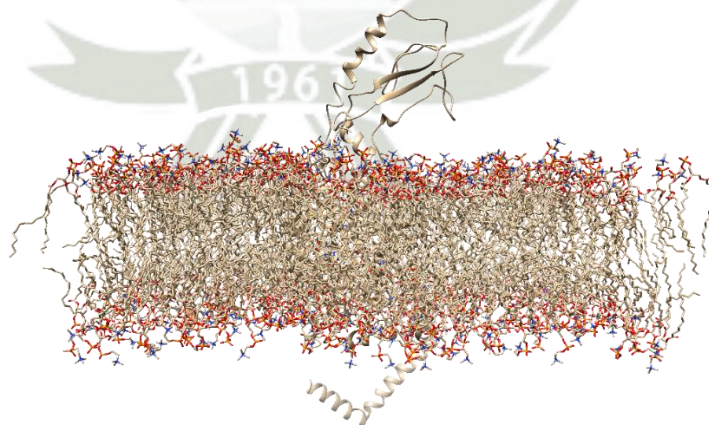
**Comparación mediante un alineamiento de la estructura terciaria inicial y la obtenida después de la minimización. En azul se aprecia la estructura inicial y en color caqui la obtenida después de la minimización.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Figura 3.14:**

**Estructura tridimensional de GLP – 1R incrustada en una membrana fosfolipidica después de la minimización.**



**Fuente: Elaboración propia**

### 3.4.2. Análisis de la estructura minimizada obtenida

#### 3.4.2.1. Diagrama de Ramachandran

El servidor PDBsum arrojó los siguientes datos: de los 491 residuos, 351 de ellos se encontraban en las regiones favorecidas (A, B y L). Estos 351 residuos representan un 78.5%. En las regiones permitidas (a, b, l, p) están presentes 80 residuos lo que equivale a un 17.9 %. En las regiones permitidas generosamente se encuentran 13 residuos que equivalen al 2.9%, para las regiones no permitidas se encuentran 3 residuos que equivalen al 0.7%. para GLP – 1R se utilizó UCSF Chimera para completar manualmente aminoácidos que le faltaban a su secuencia, estos son los responsables de los porcentajes en cada una de las zonas, al no estar en su mejor forma el diagrama de Ramachandran los coloca en regiones permitidas, permitidas generosamente y no permitidas, estos aminoácidos a lo largo de la dinámica molecular se colocaran en su forma más conveniente haciendo que la proteína tenga una estructura permitida. En esta estructura no se encontraron malos contactos entre los átomos de cada residuo (89).

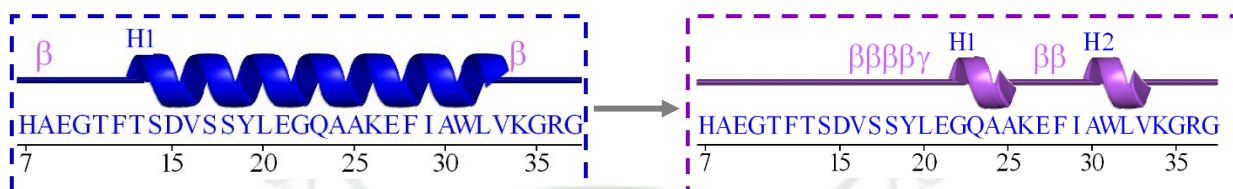
### 3.5. Dinámica molecular de las formas activas de la hormona similar al glucagón tipo 1

#### 3.5.1. GLP – 1

Las estructuras secundarias obtenidas después de 100ns de DM para GLP – 1 mostraron diferentes características las cuales se pueden visualizar en la Figura 3.15 para su mayor comprensión se colocó también la estructura secundaria obtenida después de la minimización de energía, se observó que luego de la simulación de dinámica molecular se obtuvieron más estructuras secundarias teniendo dos hélices  $\alpha$ , 1 interacción hélice – hélice, seis giros  $\beta$  y un giro  $\gamma$ , en otras palabras, en la estructura obtenida se generaron una hélice  $\alpha$  más, una interacción helice-helice que antes no se encontraba, se generaron 4 giros  $\beta$  más y un giro  $\gamma$  también. El giro  $\gamma$  generado empieza en Tyr19 y acaba en Glu21. Las hélices  $\alpha$  obtenidas son diferentes a las iniciales, siendo estas de solo 4 residuos y en diferentes posiciones respecto a los residuos donde empiezan y en donde terminan, al igual que los giros  $\beta$ , ninguno de los que estaban en la estructura minimizada se mantuvo después de la simulación de dinámica molecular, estos giros  $\beta$  se mantienen con una longitud de 4 residuos.

**Figura 3.15:**

A la izquierda se encuentra la representación de la estructura secundaria de GLP – 1 luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura secundaria de GLP – 1 luego de haber realizado su dinámica molecular. Obtenido del servidor PDBsum.



Fuente: Elaboración propia

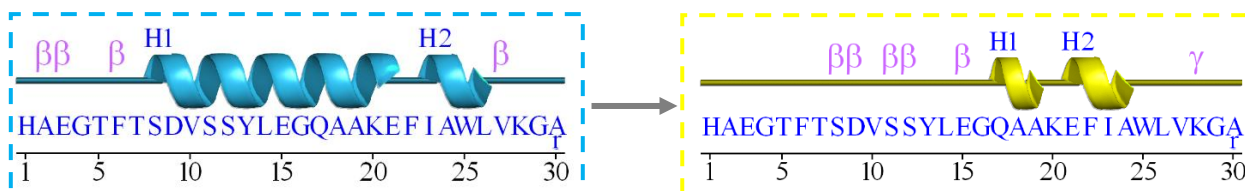
### 3.5.2. GLP – 1 Amida

Las estructuras secundarias obtenidas después de 100ns de DM para GLP – 1 Amida mostraron diferentes características las cuales se pueden visualizar en la Figura 3.16 para su mayor comprensión se colocó también la estructura secundaria obtenida después de la minimización de energía, se observó que luego de la simulación de dinámica molecular se obtuvieron más estructuras secundarias teniendo dos hélices  $\alpha$ , cinco giros  $\beta$  y un giro  $\gamma$ . El giro  $\gamma$  generado empieza en Val27 y acaba en Gly29, el giro  $\gamma$  que se tiene es diferente a la inicial en la estructura minimizada, aun manteniéndose la conformación de 3 residuos, pero no los residuos iniciales ni terminales. Las hélices  $\alpha$  obtenidas son diferentes a las iniciales, siendo estas de solo 3 y 4 residuos, además de estar en diferentes posiciones respecto a los residuos donde empiezan y en donde terminan, al igual que los giros  $\beta$ , ninguno de los que estaban en la estructura minimizada se mantuvo después de la simulación de dinámica molecular, estos giros  $\beta$  se mantienen con una longitud de 4 residuos (90).

**Figura 3.16:**

A la izquierda se encuentra la representación de la estructura secundaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura secundaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado su dinámica molecular.

Obtenido del servidor PDBsum.



Fuente: Elaboración propia

**Tabla 3.26:**

Se muestra el número hélices  $\alpha$ , giro  $\beta$  y giro  $\gamma$  de GLP – 1 después de ser sometida a simulación de DM. Como referencia también se muestran los datos obtenidos de GLP – 1 después de la minimización.

	Estructuras Secundarias					
	GLP – 1			GLP – 1 Amida		
	Helices $\alpha$	Giros $\beta$	Giros $\gamma$	Helices $\alpha$	Giros $\beta$	Giros $\gamma$
Minimización	1	2	0	2	5	1
Dinámica Molecular	2	6	1	2	4	1

Fuente: Elaboración propia

### 3.5.2.1.1. Estructura terciaria

Después de efectuar la DM con parámetros fisiológicos de temperatura a 309.65K° y 1 bar de presión se puede visualizar en la Figura 3.17 y Figura 3.18 como GLP – 1 y GLP – 1 Amida van perdiendo su estructura terciaria inicial. Es un resultado esperado debido a que en la simulación de dinámica molecular los residuos interactúan entre sí y las proteínas encuentran su forma más estable. Al realizar un RMSD con el programa UCSF Chimera para comparar todas las estructuras finales con la estructura inicial de la minimización. El programa toma 31 y 30 pares de átomos que tienen las estructuras iniciales de la minimización y estos se comparan con las otras estructuras finales para ver si siguen conservando las mismas posiciones de esos pares de átomos. Las coincidencias

entre estos 31 y 30 pares de átomos en las diferentes estructuras obtenidas (Tabla 3.27) disminuyen debido a las interacciones en el tiempo de la simulación de dinámica molecular (90).

**Tabla 3.27:**

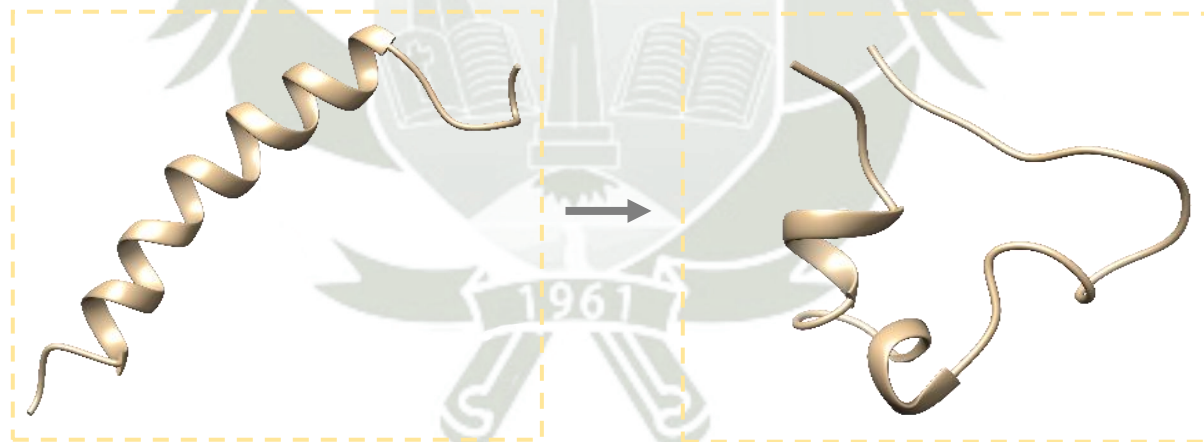
**RMSD entre las estructuras minimizadas y la final después de someter las proteínas a Dinámica Molecular. Estos datos fueron obtenidos usando el software UCSF Chimera.**

Proteína	RMSD
GLP – 1	Entre 5 pares de átomos 1.06
GLP – 1 Amida	Entre 5 pares de átomos 1.20

**Fuente: Elaboración propia**

**Figura 3.17:**

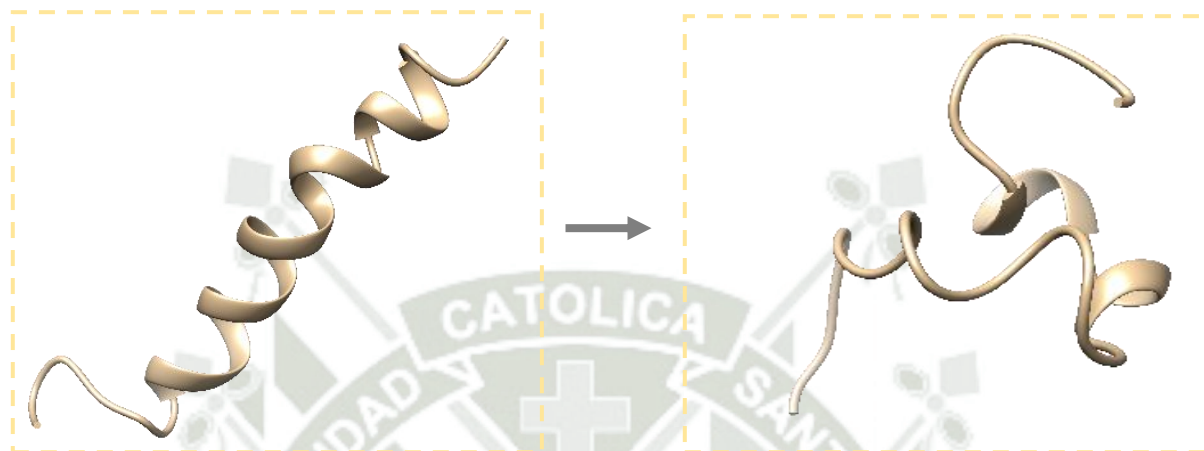
**A la izquierda se encuentra la representación de la estructura terciaria de GLP – 1 luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura terciaria de GLP – 1 luego de haber realizado su dinámica molecular.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Figura 3.18:**

A la izquierda se encuentra la representación de la estructura terciaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura terciaria de GLP – 1 Amida luego de haber realizado su dinámica molecular.



**Fuente: Elaboración propia**

Para analizar la estabilidad estructural de GLP – 1 y GLP – 1 Amida se utilizó algunos indicadores de equilibrio estructural como el RMSD, RMSF y Radio de Giro.

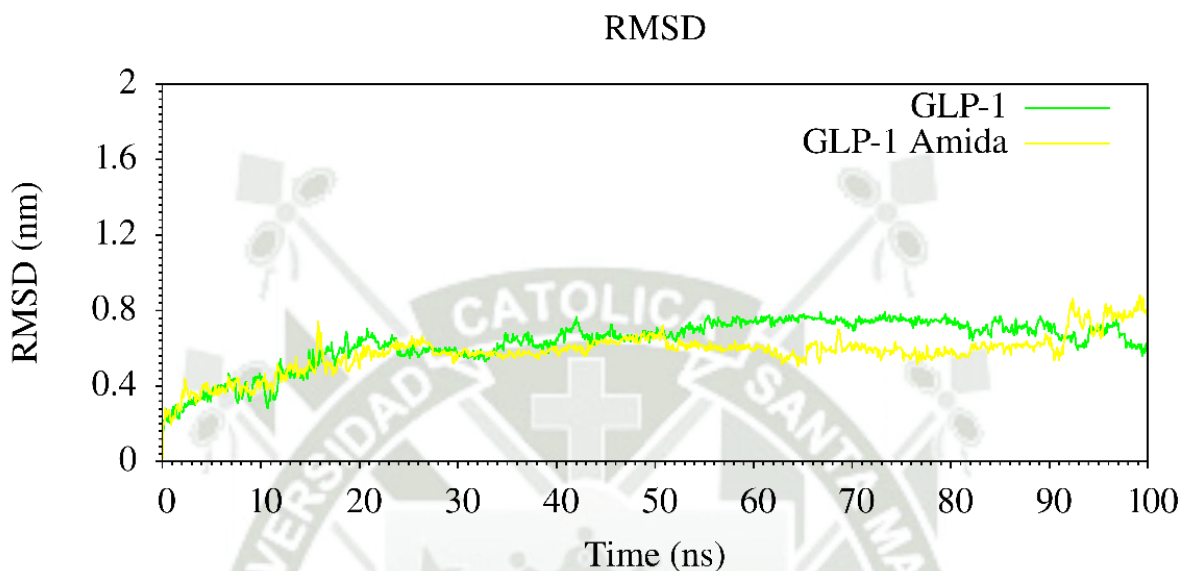
### 3.5.2.2. Análisis de estructura terciaria

#### 3.5.2.2.1. RMSD

Calculando el RMSD total de GLP – 1 y GLP – 1 Amida, se analizaron los valores obtenidos y fueron analizados con Xmgrace y graficados con GNUplot, obteniendo un promedio de estos valores. A lo largo de la simulación de dinámica molecular se logra observar para GLP – 1 a partir de los 50ns empieza a estabilizarse hasta la final de la simulación, en caso de GLP – 1 Amida, presenta picos pronunciados a 15ns, pero a partir de los 50 ns empieza a estabilizarse también hasta el final de la simulación (Figura 3.19) (90).

**Figura 3.19:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.28:**

Promedio del RMSD para cada proteína con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar.

Ligando	RMSD	
	Average RMSD	$\bar{X}$ RMSD (nm)
GLP – 1	0.63	0.10
GLP – 1 Amida	0.57	0.03

**Fuente: Elaboración propia**

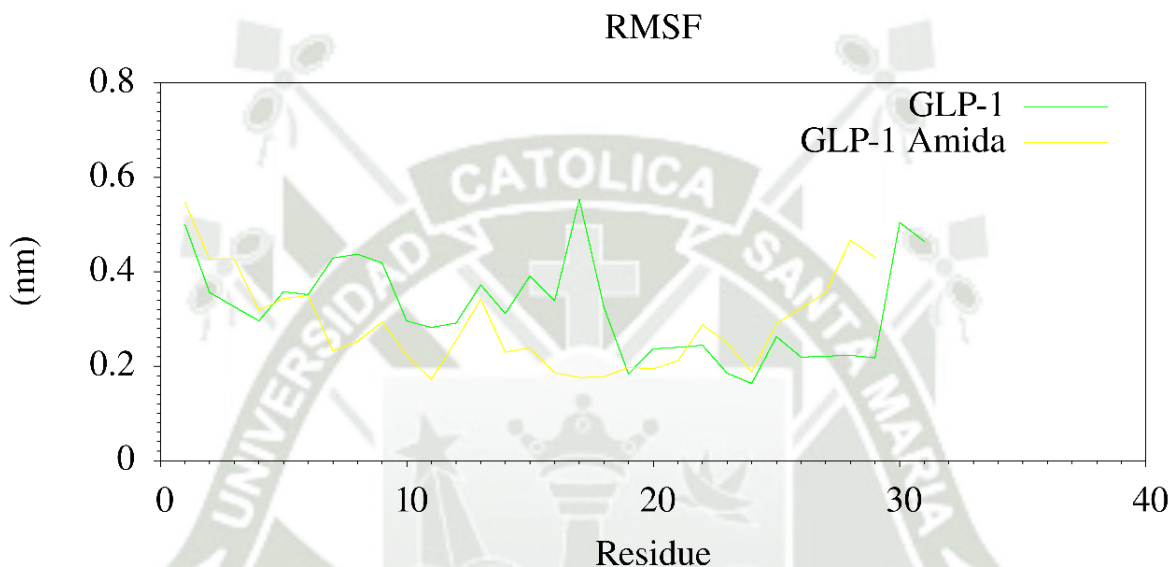
### 3.5.2.2.2. RMSF

Las fluctuaciones cuadráticas media de la proteína evalúan el movimiento que hay de los residuos o aminoácidos a lo largo de la simulación de dinámica molecular, al reconocer y analizar este diagrama podemos reconocer que residuos presentan menos vibración, que indica estabilidad en estos mismos

(Figura 3.20), los residuos que presentan mayor vibración son generalmente los extremos de GLP – 1 y GLP – 1 Amida.

**Figura 3.20:**

En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.



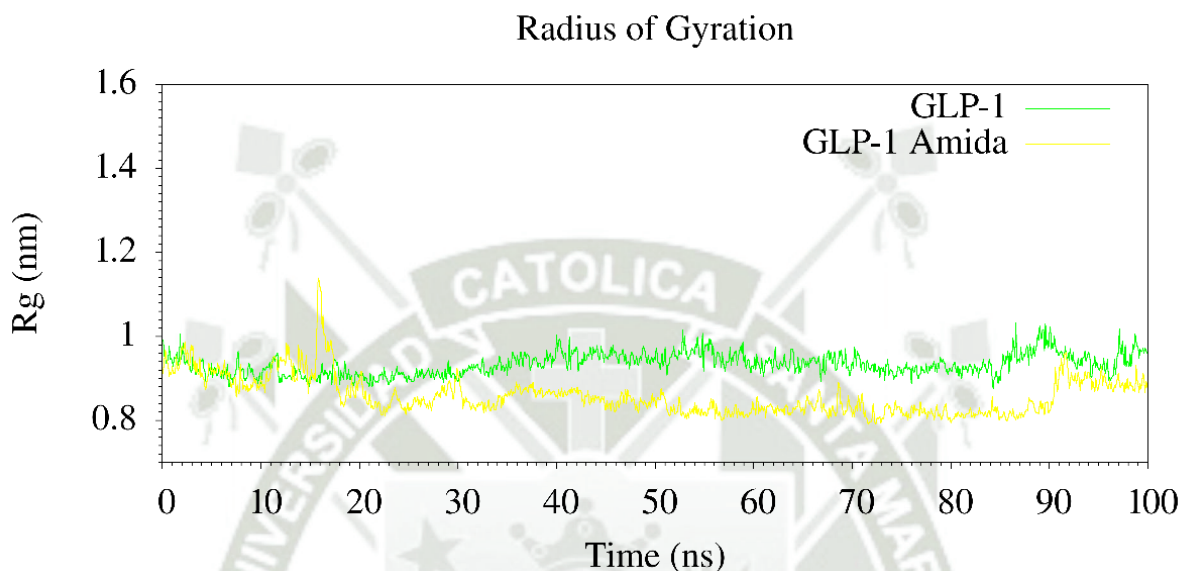
Fuente: Elaboración propia

### 3.5.2.2.3. Radio de Giro

El radio de giro nos indica la compactación de una proteína. Si es que con el tiempo el valor del radio de giro tiende a ascender es signo de que se está descompactando y si los picos descienden significa que la estructura se está compactando. En el diagrama (Figura 3.21) se puede observar que GLP – 1 no presenta variaciones significativas hasta el final de la simulación, lo que nos dice que esta proteína esta compactada, por otro lado, GLP – 1 Amida, presenta un pico a los 15ns, pero a partir de punto empieza un proceso de compactación hasta el final de la simulación molecular (90).

**Figura 3.21:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100 ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.



Fuente: Elaboración propia

**Tabla 3.29:**

Promedios obtenidos de las DM a 100ns para cada proteína, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar.

Radio de Giro		
Ligando	Average RG	$\bar{X}$ RG (nm)
GLP – 1	0.93	0.02
GLP – 1 Amida	0.85	0.05

Fuente: Elaboración propia

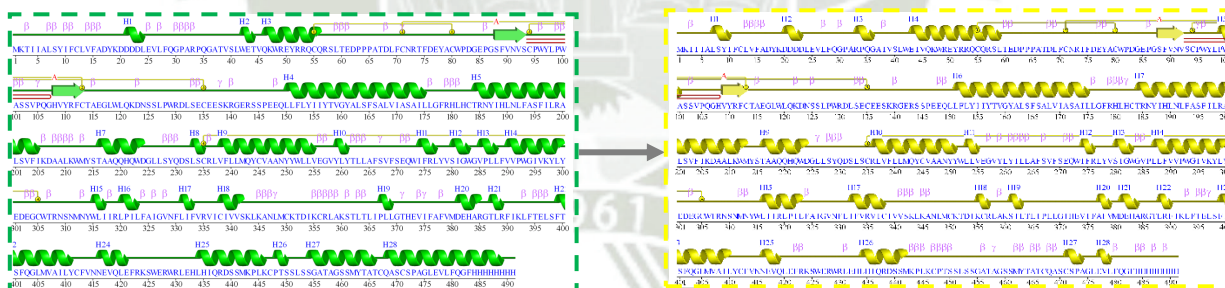
### 3.6. Dinámica molecular del receptor intermembranal GLP – 1R

#### 3.6.1. GLP – 1R

Las estructuras secundarias obtenidas después de 100ns de DM para GLP – 1R mostro diferentes características las cuales se pueden visualizar en la Figura 3.22 para su mayor comprensión se colocó también la estructura secundaria obtenida después de la minimización de energía, se observó que luego de la simulación de dinámica molecular se obtuvieron menos estructuras secundarias teniendo 28 hélices  $\alpha$ , 26 interacciones hélice – hélice, 4 puentes disulfuro, 78 giros  $\beta$ , 7 giros  $\gamma$  y una hoja  $\beta$  que consta de dos hebras, en otras palabras, en la estructura obtenida se perdieron 2 hélices  $\alpha$ , 3 interacciones hélice - hélice y 12 giros  $\gamma$ , se generaron 2 giros  $\beta$  mas. Los giros  $\beta$  generados no se encontraban en la estructura cuando esta se había minimizado, solo después de su dinámica molecular y aún mantiene su longitud de 4 residuos (26).

**Figura 3.22:**

**A la izquierda se encuentra la representación de la estructura secundaria de GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura secundaria de GLP – 1R luego de haber realizado su dinámica molecular. Obtenido del servidor PDBsum.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.30:**

**Se muestra el número hélices  $\alpha$ , giros  $\beta$  y giros  $\gamma$  de GLP – 1R después de ser sometida a simulación de DM. Como referencia también se muestran los datos obtenidos de GLP – 1R después de la minimización.**

	<b>Estructuras Secundarias</b>					
	<b>GLP1 - Receptor</b>					
	Helices $\alpha$	Giros $\beta$	Giros $\gamma$	Hojas $\beta$	Interacciones helice - helice	Puentes disulfuro
Minimizacion	30	76	12	1	29	4
Dinamica Molecular	28	78	7	1	26	4

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.6.1.1. Estructura terciaria

Después de efectuar las DM con parámetros fisiológicos de temperatura a 309.65K° y 1bar de presión se puede visualizar en la Figura 3.23 como GLP – 1R va perdiendo su estructura terciaria inicial. Es un resultado esperado debido a que en la simulación de dinámica molecular los residuos interactúan entre sí y la proteína encuentra su forma más estable. Al realizar un RMSD con el programa UCSF Quimera para comparar todas las estructuras finales con la estructura inicial de la minimización. El programa toma 491 pares de átomos que tienen las estructuras iniciales de la minimización y estos se comparan con las otras estructuras finales para ver si siguen conservando las mismas posiciones de esos pares de átomos. Las coincidencias entre estos 491 pares de átomos en las diferentes estructuras obtenidas (Tabla 3.31) disminuyen debido a las interacciones en el tiempo de la simulación de dinámica molecular y las posiciones que va tomando cada residuo en el sistema (26).

**Tabla 3.31:**

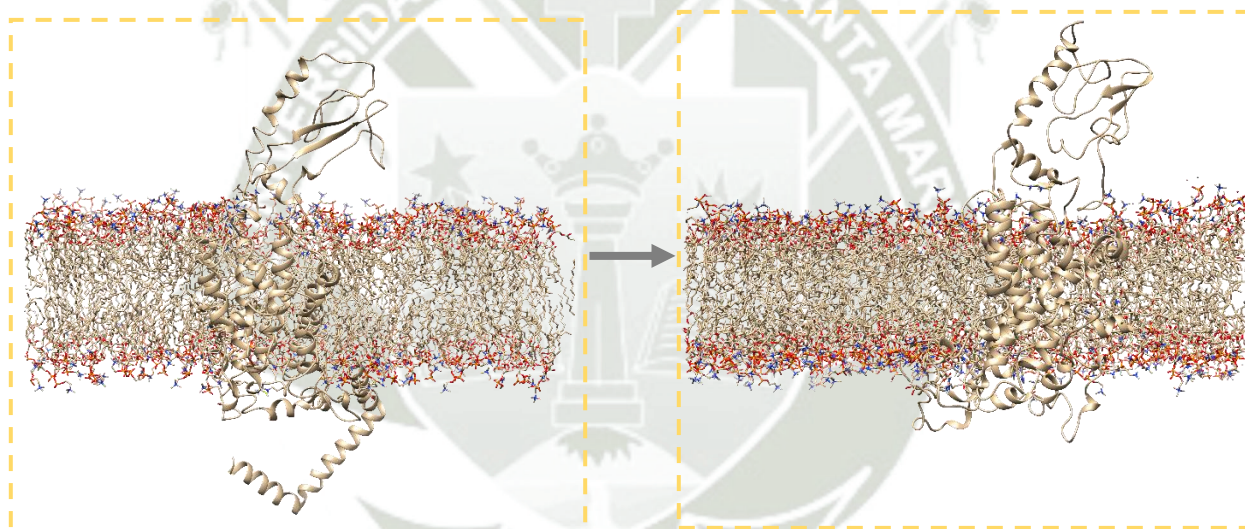
**RMSD entre las estructuras minimizadas y la final después de someter las proteínas a Dinámica Molecular. Estos datos fueron obtenidos usando el software UCSF Chimera.**

Proteína	RMSD
GLP – 1R	Entre 111 pares de átomos 1.37

**Fuente: Elaboración propia**

**Figura 3.23:**

**A la izquierda se encuentra la representación de la estructura terciaria de GLP – 1R luego de haber realizado la minimización energética, a la derecha se encuentra la estructura terciaria de GLP – 1R luego de haber realizado su dinámica molecular.**



**Fuente: Elaboración propia**

Para analizar la estabilidad estructural de GLP1R se utilizó algunos indicadores de equilibrio estructural como el RMSF, RMSD y radio de giro.

### **3.6.1.2. Análisis de estructura terciaria**

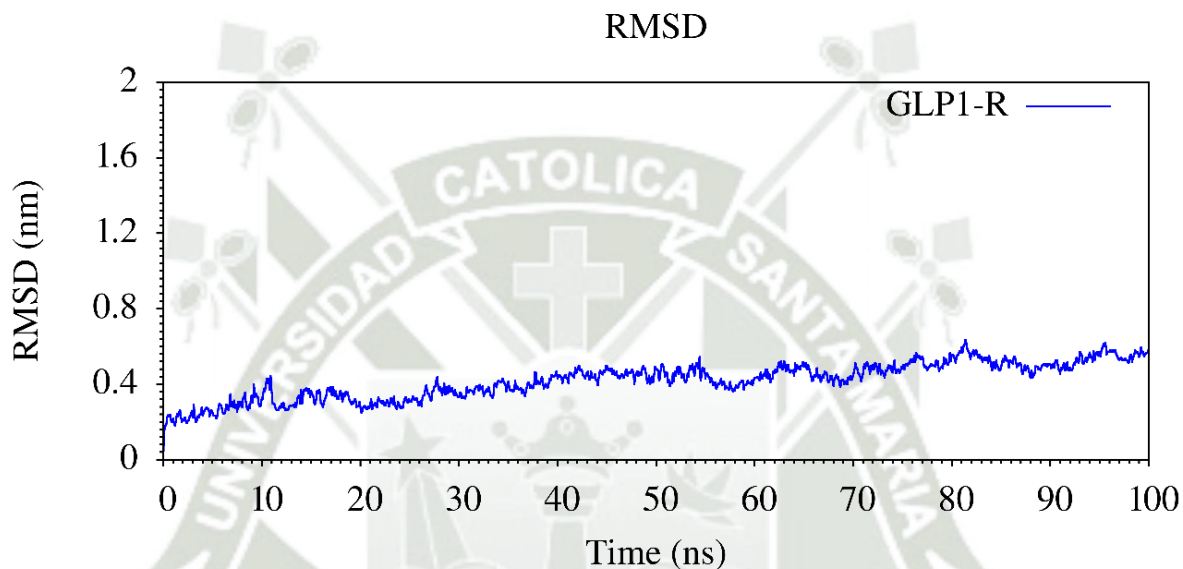
#### **3.6.1.2.1. RMSD**

Calculando el RMSD total de GLP – 1R, se analizaron los valores obtenidos, estos fueron analizados con Xmgrace y graficados con GNUplot, obteniendo un promedio de estos valores. Para GLP – 1R se observan picos a 30ns y 50ns lo

que demuestra pequeña desestabilidad en la estructura, a partir de ese tiempo la estructura empieza su estabilidad hasta llegar a los 100ns sin tener picos pronunciados (Figura 3.24).

**Figura 3.24:**

**En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. La proteína está representada por el color azul para GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.32:**

**Promedio del RMSD para la proteína con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar.**

RMSD		
Receptor	Average RMSD	$\bar{X}$ RMSD (nm)
GLP – 1R	0.41	0.09

**Fuente: Elaboración propia**

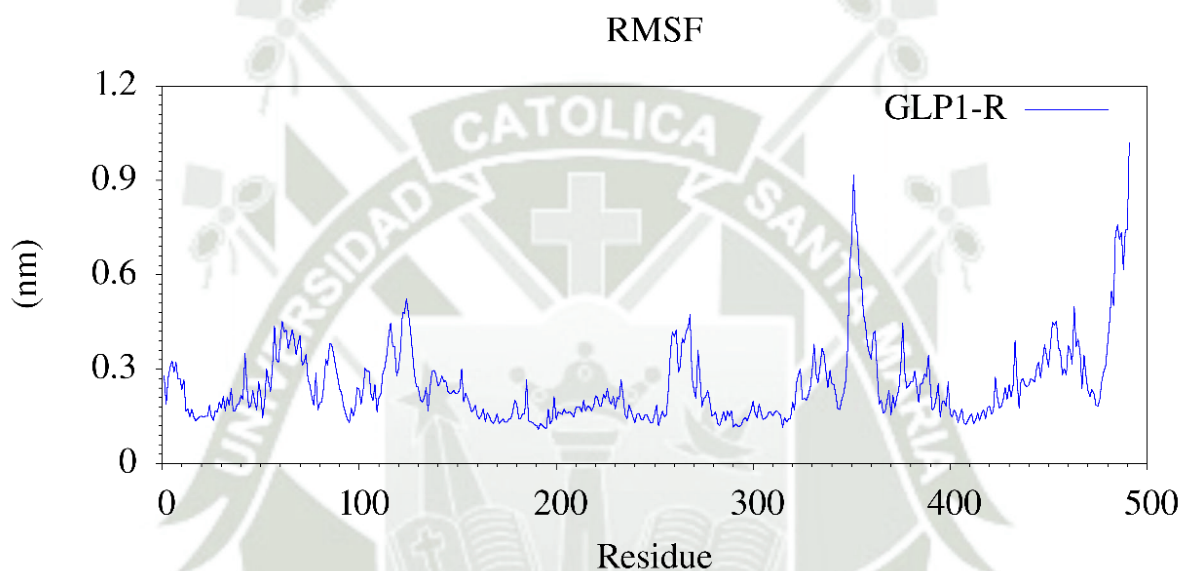
### 3.6.1.2.2. RMSF

Las fluctuaciones cuadráticas media de la proteína evalúan el movimiento que hay de los residuos o aminoácidos a lo largo de la simulación de dinámica molecular, al reconocer y analizar este diagrama podemos reconocer que

residuos presentan menos vibración, que indica estabilidad en estos mismos, los residuos que presentan mayor vibración son generalmente los extremos de GLP – 1R (90).

**Figura 3.25:**

En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. La proteína está representada por el color azul para GLP – 1R.



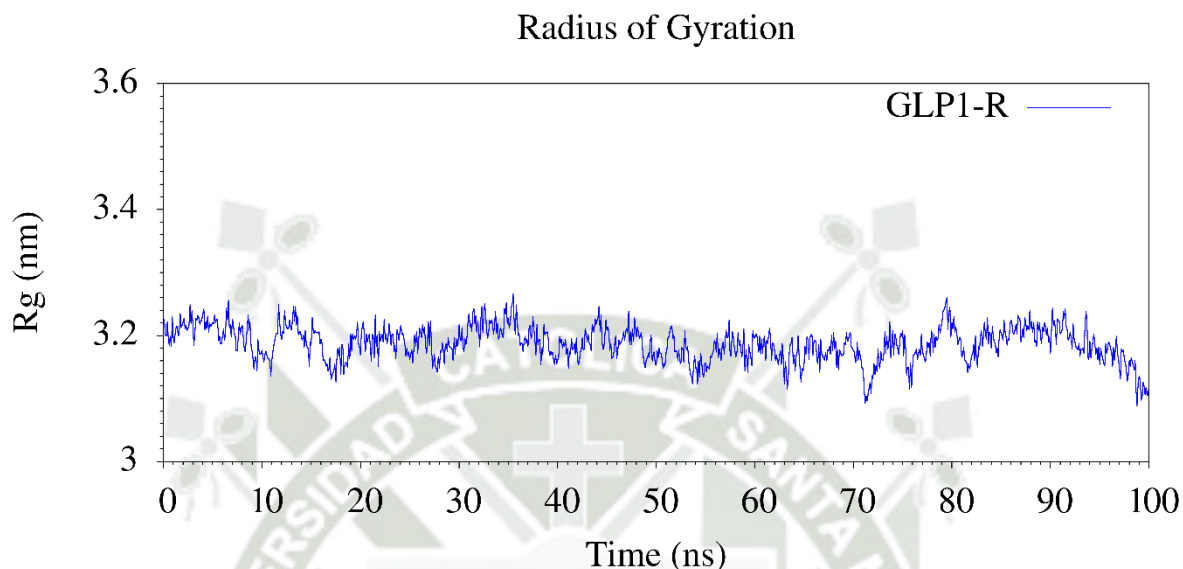
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.6.1.2.3. Radio de giro

El radio de giro nos indica la compactación de una proteína. Si es que con el tiempo el valor del radio de giro tiende a ascender es signo de que se está descompactando y si los picos descienden significa que la estructura se está compactando. En la Figura 3.26 se logra observar que a un tiempo de 35ns y 80ns se observan picos ascendentes que indican una descompactación de nuestra proteína, pero al llegar a los 100ns hay picos que descienden indicando que la proteína está llegando a tu punto preciso de compactación (26).

**Figura 3.26:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. La proteína está representada por el color azul para GLP – 1R.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.33:**

Promedio obtenido de la DM a 100ns para la proteína, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar.

Radio de Giro		
Receptor	Average RG	$\bar{X}$ RG (nm)
GLP – 1R	3.18	0.02

**Fuente: Elaboración propia**

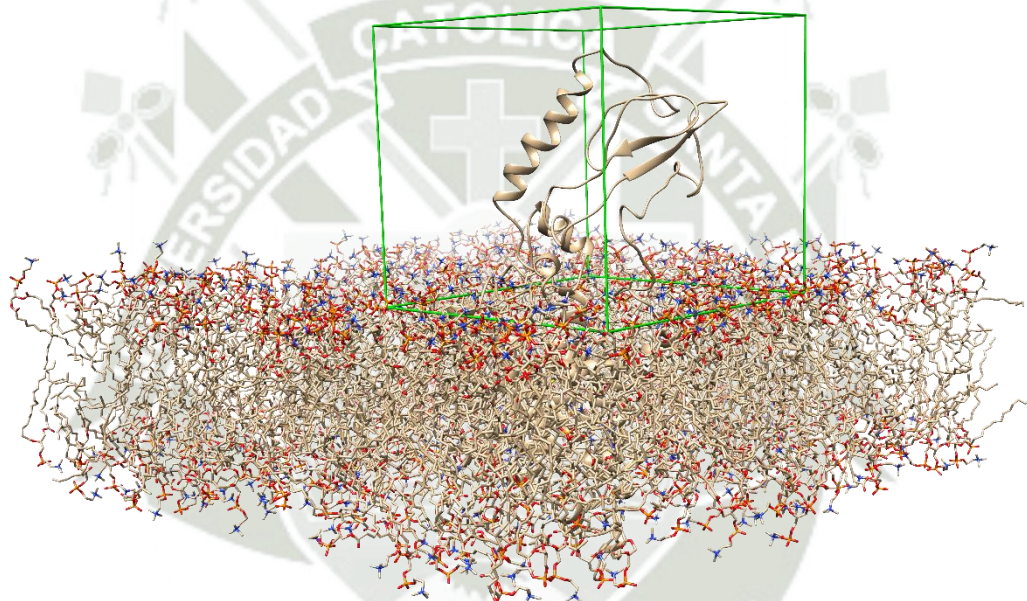
### 3.7. Acoplamiento molecular

Para el acoplamiento molecular se utilizó AutoDock Vina, que es una herramienta computacional que intenta predecir la unión no covalente de macromoléculas o, más frecuentemente, de una macromolécula (receptor) y una molécula pequeña (ligando) de manera eficiente, a partir de sus estructuras no unidas, este software nos brinda la energía de unión del ligando a nuestro receptor, variando con esta energía la posición en la que se encuentra (90).

Como proteína diana se utilizó a nuestra GLP – 1R que consta de 491 aminoácidos, esta proteína esta incrustada en una membrana, por lo que se eligió como zona de acoplamiento solo la zona extracelular donde se realizó el acoplamiento molecular de nuestras 2 formas activas de hormona similar al glucagón tipo 1 y los 10 metabolitos secundarios presentes en el maíz morado (11).

**Figura 3.27:**

**Representación gráfica de la zona donde se realizará el acoplamiento molecular en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

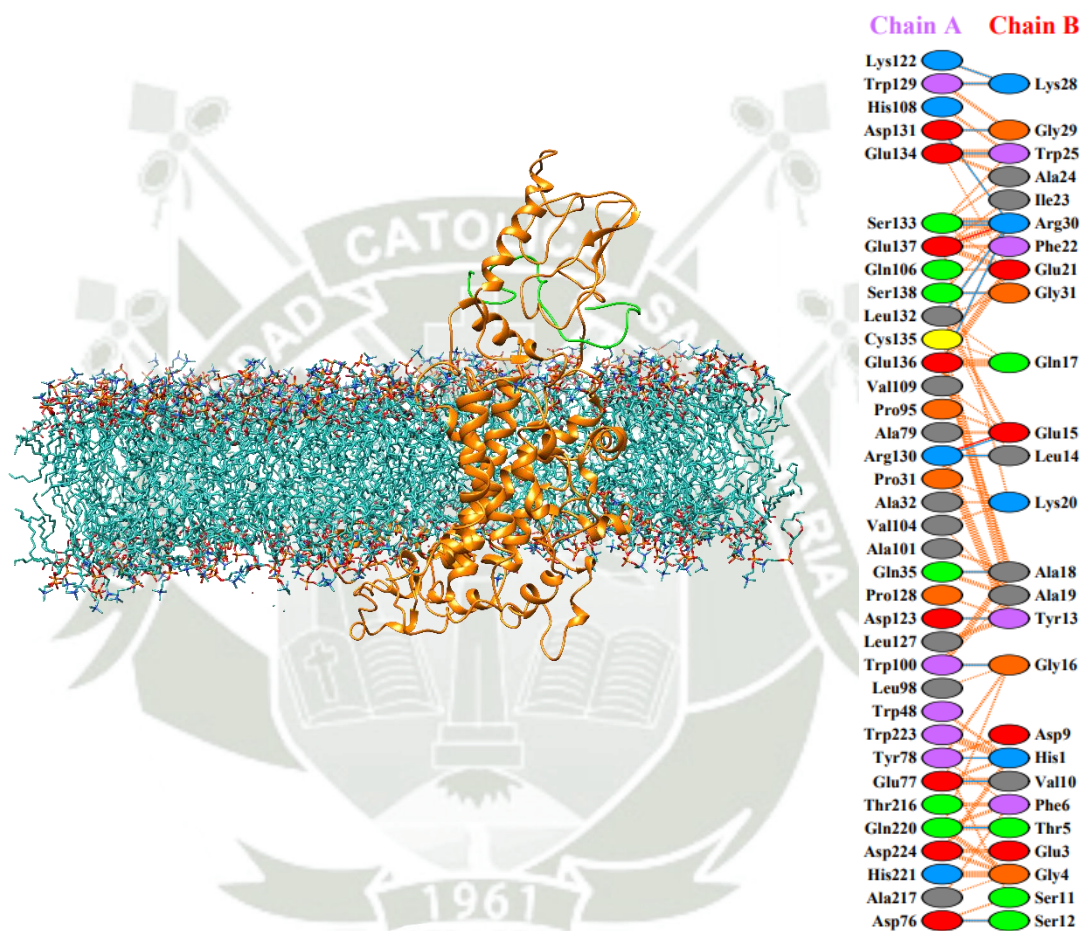
Estas estructuras cuaternarias se enviaron al servidor PDBsum en donde se puede obtener las diferentes interacciones como enlaces de hidrógeno, puentes de sal e interacciones hidrofóbicas.

### **3.7.1. Acoplamiento de GLP – 1 con GLP – 1R**

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando GLP – 1 y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.28) mediante la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.33.

**Figura 3.28:**

Acoplamiento molecular de GLP – 1 con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.33:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando GLP – 1 y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
GLP – 1 (98)	-6.6

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.34), se puede ver que GLP – 1 presenta 288 interacciones hidrofóbicas, 19 enlaces de hidrogeno y 2 puentes de sal

**Tabla 3.34:**

**Contactos entre GLP – 1 Y GLP – 1R después de ser sometida a acoplamiento molecular.**

<b>Contactos entre GLP – 1 y GLP – 1R</b>				
<b>Proteínas</b>	<b>Residuos Interactuantes</b>	<b>Interacciones Hidrofóbicas</b>	<b>Enlaces de Hidrogeno</b>	<b>Puentes de Sal</b>
GLP – 1	26	288	19	2
GLP – 1R	36			

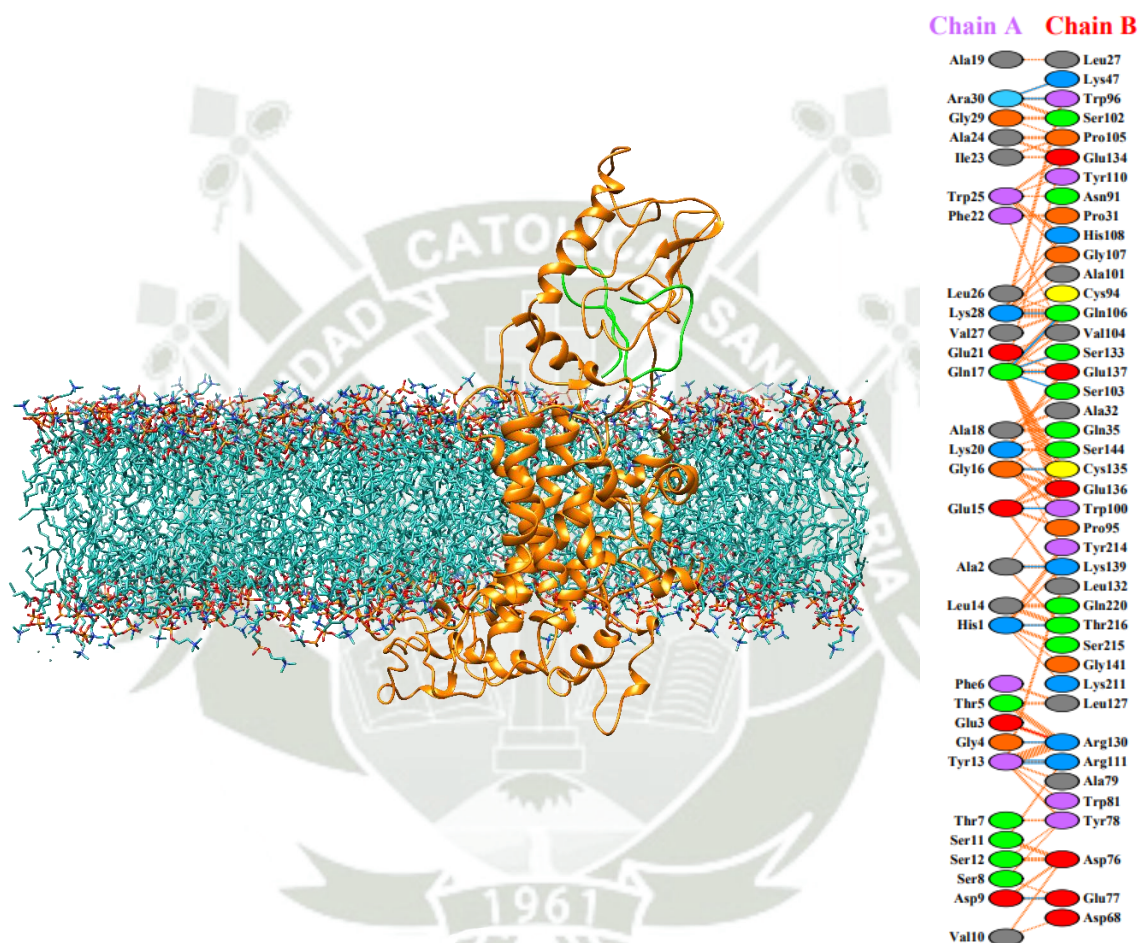
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.7.2. Acoplamiento de GLP – 1 Amida con GLP – 1R**

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando GLP – 1 Amida y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.29) mediante la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.34

**Figura 3.29:**

**Acoplamiento molecular de GLP – 1 Amida con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1 Amida.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.35:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando GLP – 1 Amida y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
GLP – 1 Amida (980)	-6.6

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.35), se puede ver que GLP – 1 Amida presenta 273 interacciones hidrofóbicas, 16 enlaces de hidrógeno y 1 puente de sal.

**Tabla 3.36:**

**Contactos entre GLP – 1 Amida Y GLP – 1R después de ser sometida a acoplamiento molecular.**

Contactos entre GLP – 1 Amida y GLP – 1R				
Proteínas	Residuos Interactuantes	Interacciones Hidrofóbicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de Sal
GLP – 1 Amida	30	273	16	1
GLP – 1R	42			

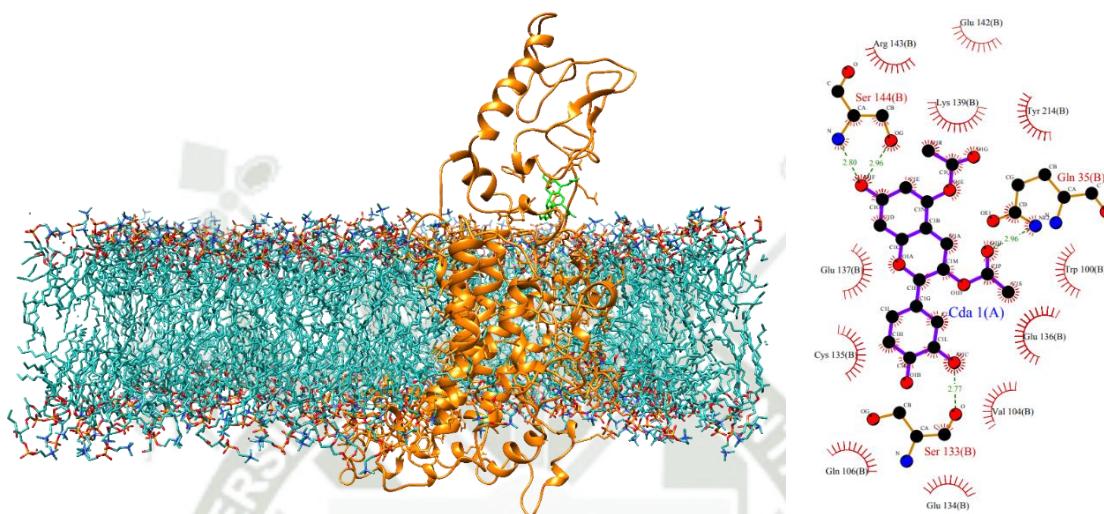
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.3. Acoplamiento de CDA con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando CDA y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.30) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.37.

**Figura 3.30:**

**Acoplamiento molecular de CDA con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.37:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando CDA y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
CDA (934)	-7.8

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizo es servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.38) se puede ver que CDA presenta 68 interacciones hidrofóbicas, 4 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.38:**

**Contactos entre CDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Contactos entre CDA – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofóbicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
CDA (934)	68	4	0

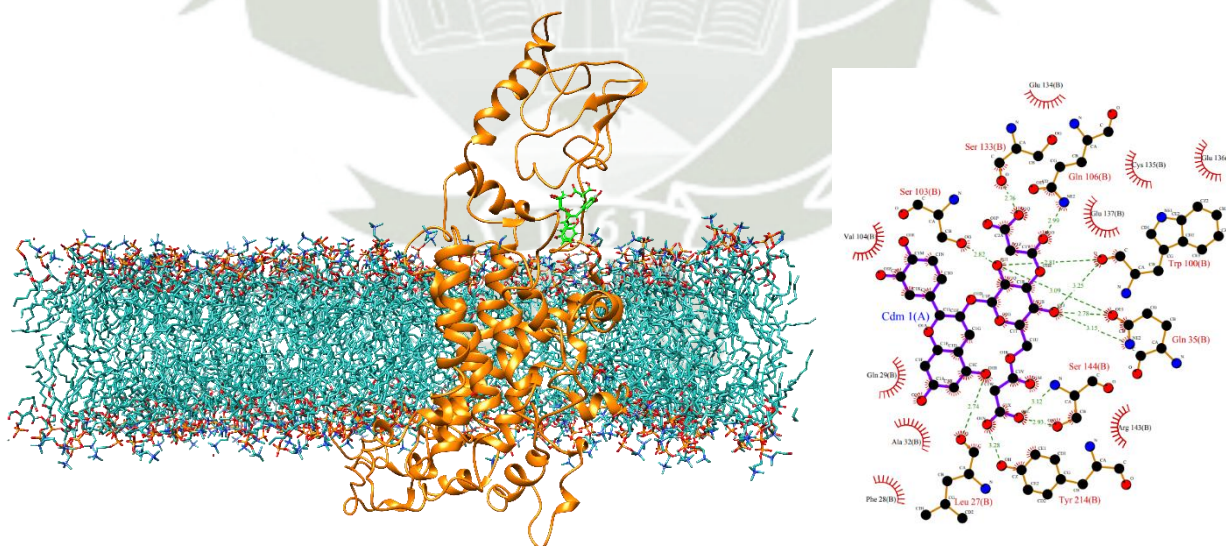
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.4. Acoplamiento de CDM con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando CDM y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.31) mediante la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.39.

**Figura 3.31:**

**Acoplamiento molecular de CDM con su el receptor intermenbranar, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.39:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando CDM y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
CDM (478)	-8.7

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizo es servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.40) se puede ver que CDM presenta 87 interacciones hidrofóbicas, 14 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.40:**

**Contactos entre CDM Y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Ligando	Contactos entre CDM – GLP – 1R		
	Interacciones Hidrofóbicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
CDM (478)	87	14	0

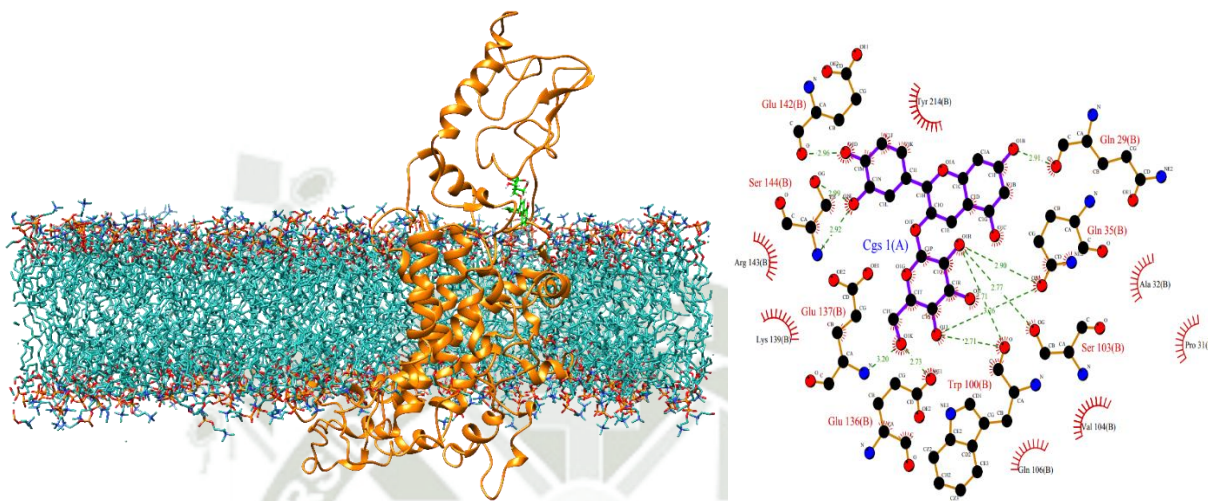
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.5. Acoplamiento de CGS con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando CGS y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.32) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.41.

**Figura 3.32:**

**Acoplamiento molecular de CGS con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.41:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando CGS y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
CGS (211)	-8.5

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizo es servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.42) se puede ver que CGS presenta 52 interacciones hidrofóbicas, 12 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.42:**

**Contactos entre CGS Y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Ligando	Contactos entre CGS – GLP – 1R		
	Interacciones Hidrofóbicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
CGS (211)	52	12	0

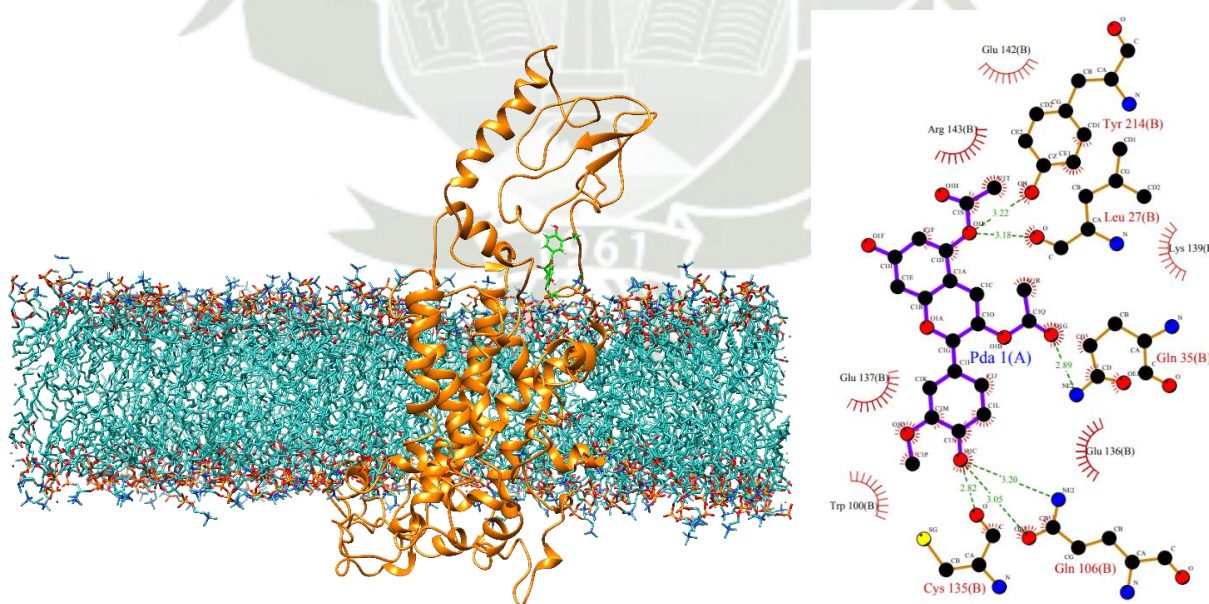
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.6. Acoplamiento de PDA con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando PDA y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.33) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.43.

**Figura 3.33:**

**Acoplamiento molecular de PDA con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.43:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando PDA y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

<b>Ligando</b>	<b>Energía de Afinidad</b>
PDA (286)	-7.6

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizo es servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.44), se puede ver que PDA presenta 39 interacciones hidrofóbicas, 7 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.44:**

**Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular**

<b>Contactos entre PDA – GLP – 1R</b>			
<b>Ligando</b>	<b>Interacciones Hidrofóbicas</b>	<b>Enlaces de Hidrogeno</b>	<b>Puentes de sal</b>
PDA (286)	39	7	0

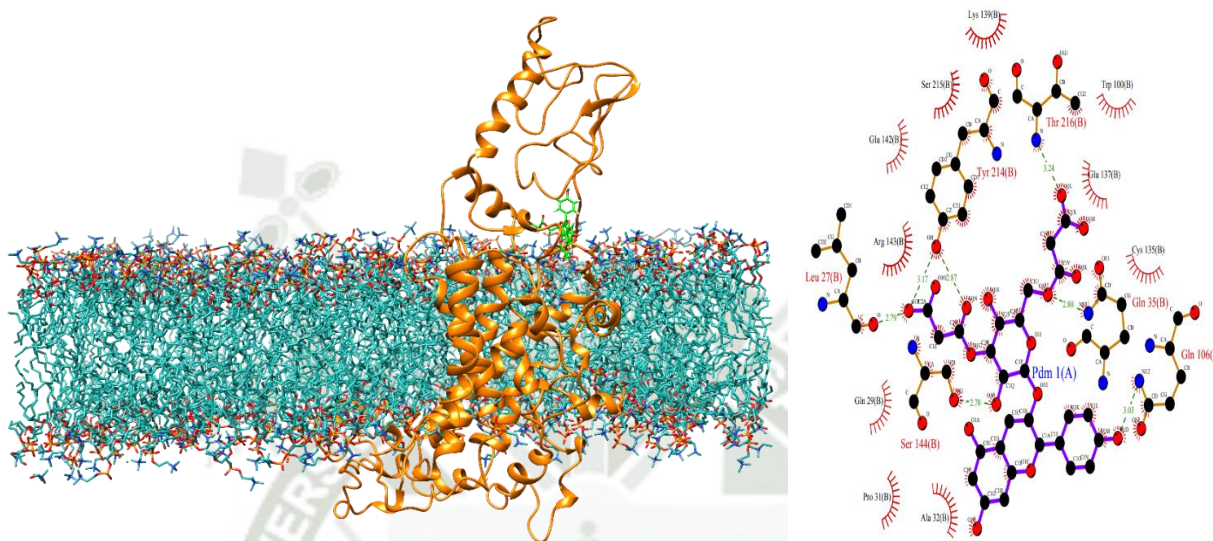
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.7.7. Acoplamiento de PDM con GLP – 1R**

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando PDM y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.34) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.45.

**Figura 3.34:**

**Acoplamiento molecular de PDM con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.45:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando PDM y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

<b>Ligando</b>	<b>Energía de Afinidad</b>
PDM (442)	-8.8

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.46), se puede ver que PDM presenta 85 interacciones hidrofóbicas, 7 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.46:**

**Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Contactos entre PDM – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PDM (442)	85	7	0

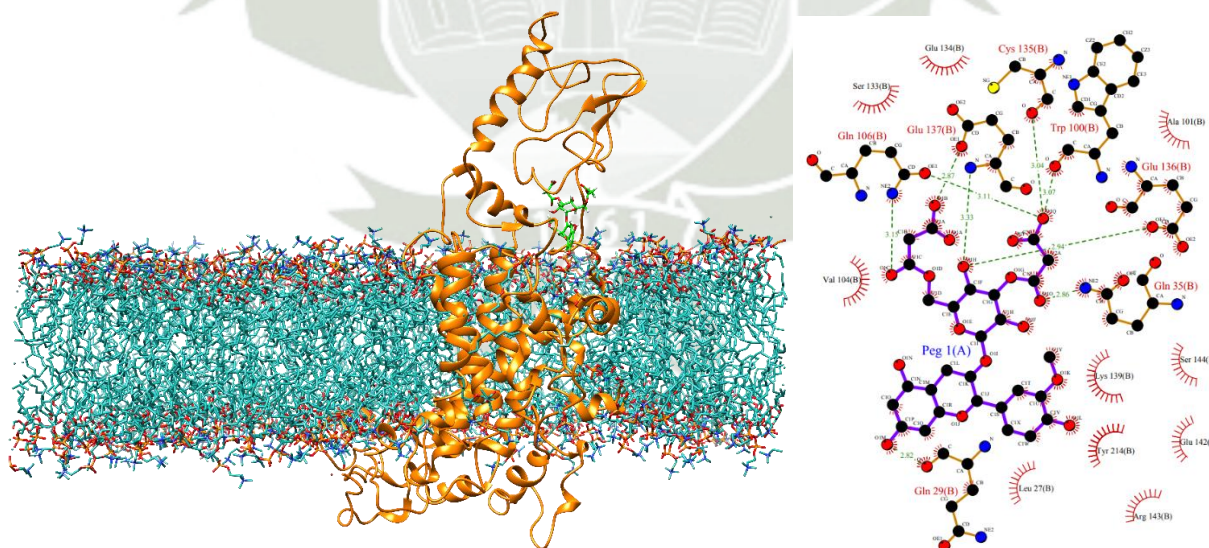
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.8. Acoplamiento de PEG con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando PEG y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.35) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.47.

**Figura 3.35:**

**Acoplamiento molecular de PEG con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.47:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando PEG y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
PEG (680)	-8.6

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizo es servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.48), se puede ver que PEG presenta 96 interacciones hidrofóbicas, 9 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.48:**

**Contactos entre PDA y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Contactos entre PEG – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PEG (680)	96	9	0

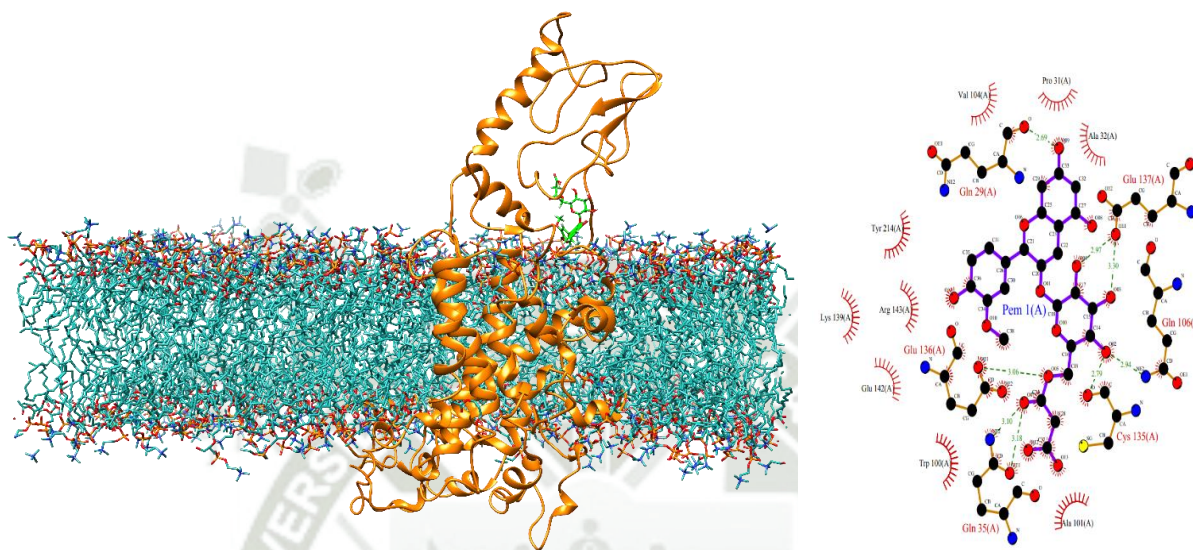
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.7.9. Acoplamiento de PEM con GLP – 1R**

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando PEM y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.36) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.49

**Figura 3.36:**

**Acoplamiento molecular de PEM con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.49:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando PEM y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.**

<b>Ligando</b>	<b>Energía de Afinidad</b>
PEM (167)	-8.6

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.50), se puede ver que PEM presenta 73 interacciones hidrofóbicas, 8 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.50:**

**Contactos entre PEM y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Contactos entre PEM – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PEM (167)	73	8	0

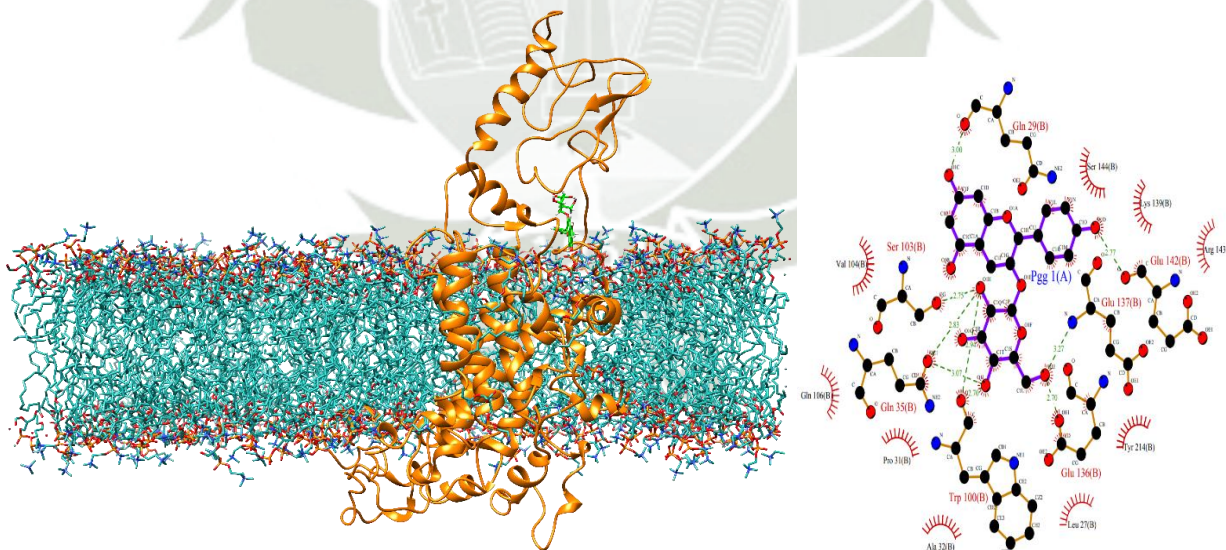
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.10. Acoplamiento de PGG con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando PGG y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.37) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.51.

**Figura 3.37:**

**Acoplamiento molecular de PEM con su el receptor intermenbranar, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.51:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando PGG y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
PGG (748)	-8.2

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.52), se puede ver que PGG presenta 51 interacciones hidrofóbicas, 10 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.52:**

**Contactos entre PGG y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Ligando	Contactos entre PGG – GLP – 1R		
	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PGG (748)	51	10	0

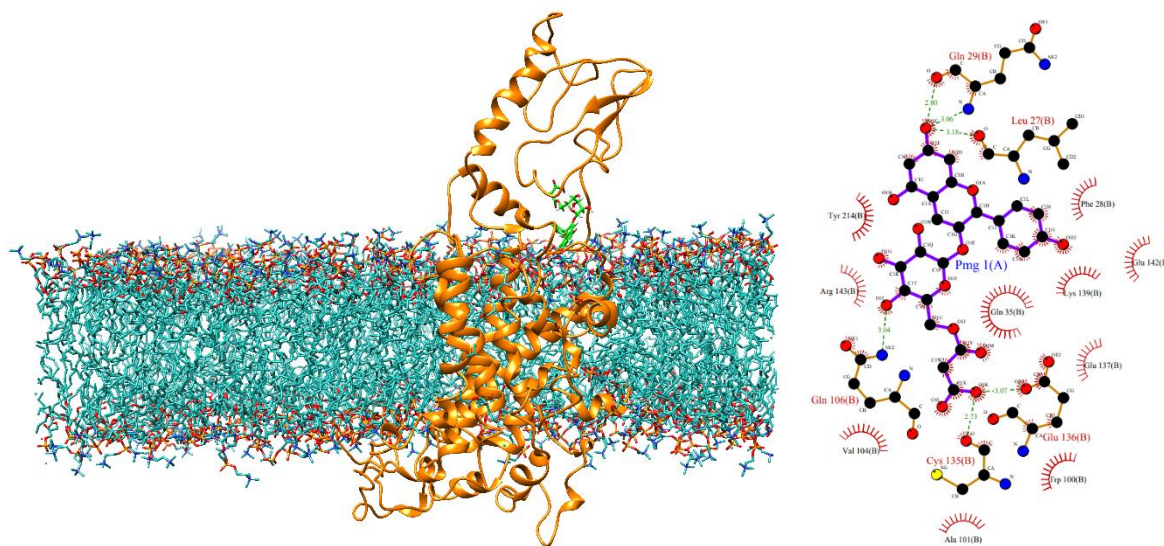
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.7.11. Acoplamiento de PMG con GLP – 1R**

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando PMG y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.38) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.53.

**Figura 3.38:**

**Acoplamiento molecular de PMG con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.53:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando PMG y la proteína diana GLP – 1R brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
PMG (358)	-8.5

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber qué interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.54), se puede ver que PMG presenta 76 interacciones hidrofóbicas, 6 enlaces de hidrógeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.54:**

**Contactos entre PMG y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Contactos entre PMG – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PMG (358)	76	6	0

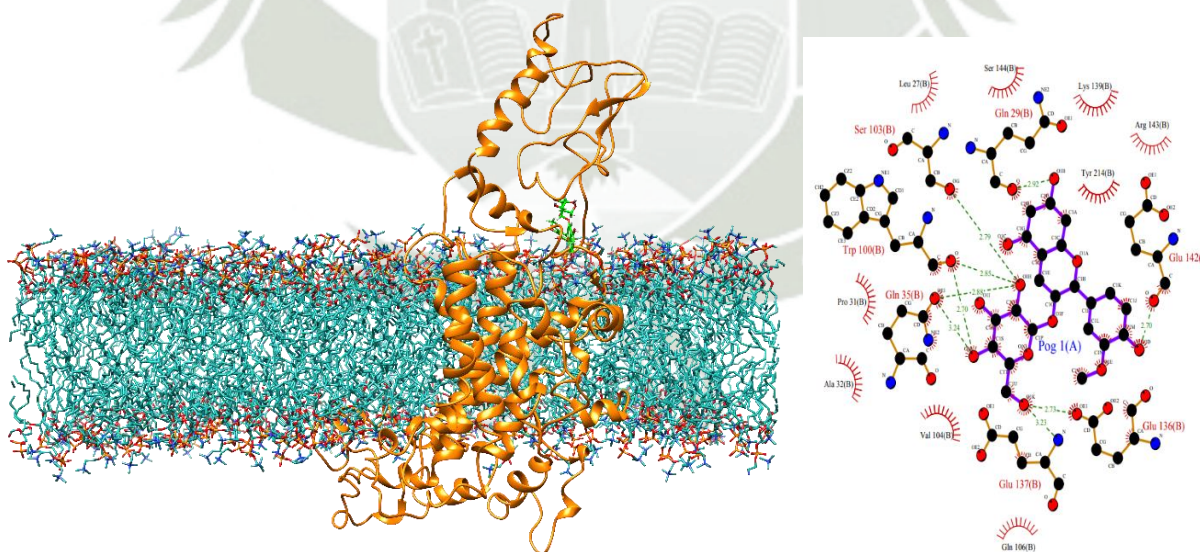
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.7.12. Acoplamiento de POG con GLP – 1R

Se hizo acoplamiento molecular entre el ligando POG y la proteína diana GLP – 1R usando AutoDock Vina para obtener 1000 resultados, esto para elegir la mejor posición del ligando (Figura 3.39) mediante a la energía de afinidad que nos brinda este programa como se logra ver en la Tabla 3.55.

**Figura 3.39:**

**Acoplamiento molecular de POG con su el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.55:**

**Energía de Afinidad generada entre el ligando POG y la proteína diana GLP – 1R  
brindada por AutoDock Vina.**

Ligando	Energía de Afinidad
POG (651)	-8.4

**Fuente: Elaboración propia**

Se utilizó el servidor PDBsum para visualizar y saber que interacciones se han generado en esta estructura cuaternaria (Tabla 3.56), se puede ver que POG presenta 5 interacciones hidrofóbicas, 10 enlaces de hidrogeno y no se generó ningún puente de sal.

**Tabla 3.56:**

**Contactos entre POG y GLP – 1R después de ser sometido a acoplamiento molecular.**

Ligando	Contactos entre POG – GLP – 1R		
	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
POG (651)	5	10	0

**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8. Dinámica molecular de estructuras cuaternarias**

La formación del complejo proteína - ligando se da con el reconocimiento molecular, el cual es un proceso mediante el cual macromoléculas interactúan con moléculas pequeñas a través de interacciones no covalentes para formar un complejo específico. Las macromoléculas que usan reconocimiento molecular son las proteínas, están presentes en varias actividades, principalmente realizan sus funciones biológicas al unirse o interactuar de forma física con algún ligando, que es cualquier molécula capaz de unirse a la proteína.

Para la simulación de dinámica molecular de GLP – 1R - ligando se utilizó el paquete GROMACS 2022.3 y el campo de fuerza en su versión OPLSAA-Lipid.ff. Una vez obtenido el complejo de proteína-ligando se colocó una caja para limitar el sistema, se solvato con moléculas de agua modelo TIP3 de 3 puntos y se procedió a utilizar el script

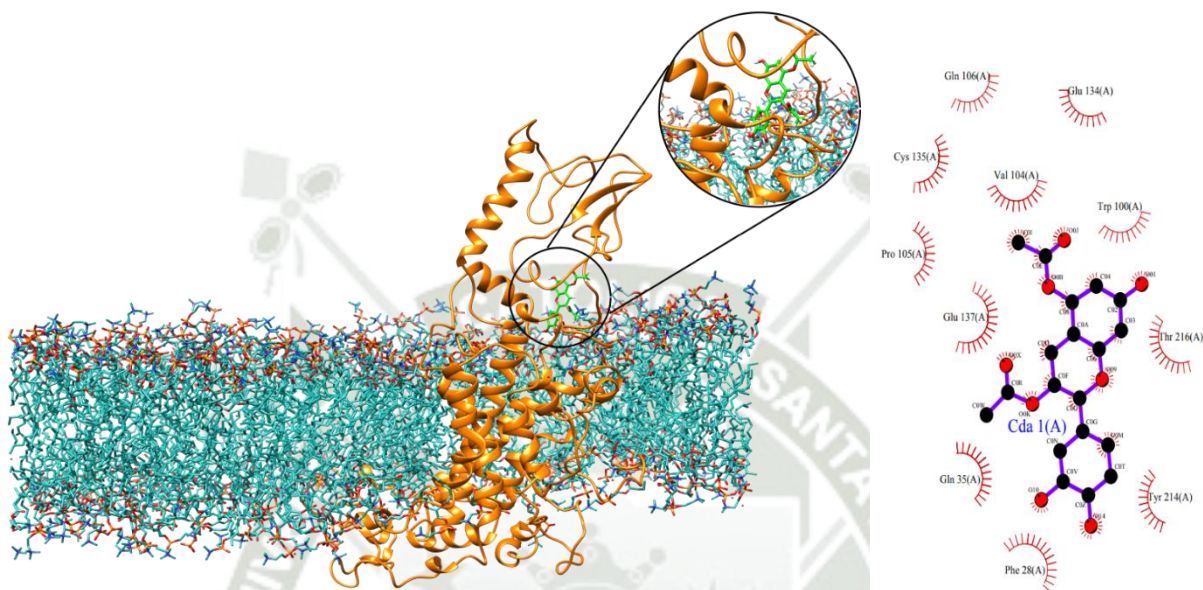
perl water\_deleter.pl, el cual elimina las moléculas de agua dentro del núcleo hidrofóbico de la bicapa, se añadieron iones para neutralizar la carga del complejo para luego realizar la minimización de energía con el método Steepest Descent el cual se encarga de evaluar las fuerzas debidas a las posiciones atómicas modificando estas para alcanzar un mínimo de energía, Para la dinámica molecular se utilizó el acoplamiento de temperatura V-rescale y el acoplamiento de presión Parrinello-Rahman para mantener los sistemas en un entorno estable a temperatura fisiológica de 309.65K° y 1bar de presión. Sus constantes de acoplamiento se establecieron a 0.1 para temperatura y 0.2 para presión. Se utilizó el algoritmo Particle Mesh Ewald PME para evaluar las interacciones electroestáticas de largo alcance y de Van der Waals, el radio de corte para la interacción de Van der Waals y coulombicas se establecieron en 1.0nm. Se realizó la simulación de dinámica molecular de 100ns para cada complejo, las trayectorias se almacenaron cada 10ps y además se calcularon diferentes análisis de sus estructuras al finalizar cada simulación, como el RMSD (desviación cuadrática media), RMSF (fluctuaciones cuadráticas medias) y Radio de Giro (73).

### 3.8.1. Dinámica molecular de CDA con GLP – 1R

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.40) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.57) se puede ver que CDA presenta 39 interacciones hidrofóbicas, a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 29 interacciones hidrofóbicas, no presenta enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular, y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.40:**

**Dinamica molecular de CDA con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representacion grafica de la interaccion del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.57:**

**Contactos entre CDA y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

<b>Contactos entre CDA – GLP – 1R</b>			
<b>Ligando</b>	<b>Interacciones Hidrofobicas</b>	<b>Enlaces de Hidrogeno</b>	<b>Puentes de sal</b>
CDA (934)	39	0	0

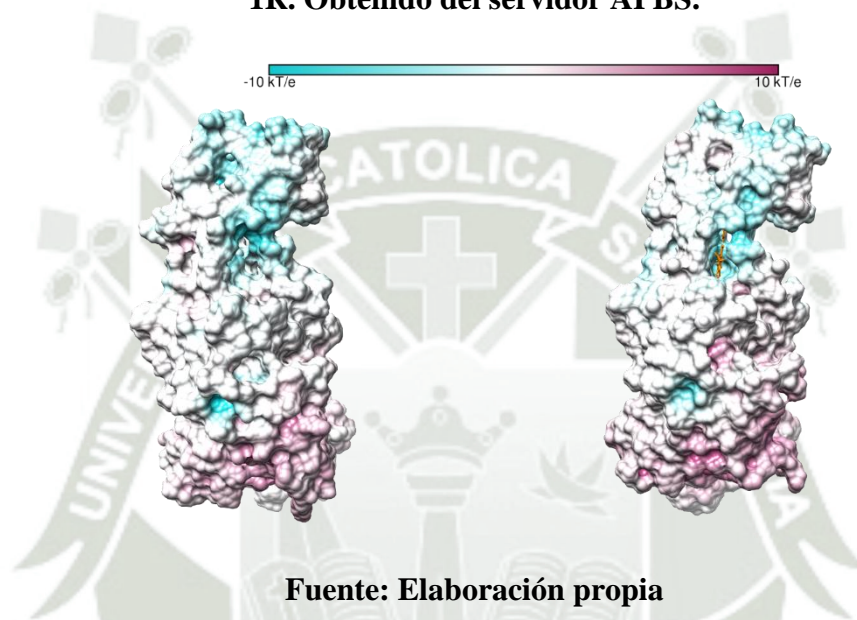
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo CDA-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de CDA-GLP – 1R posterior a

su dinámica molecular, se observa un cambio en la densidad electrónica de la proteína en la zona donde está el ligando, debido a la interacción de este complejo (90)..

**Figura 3.41:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo CDA - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



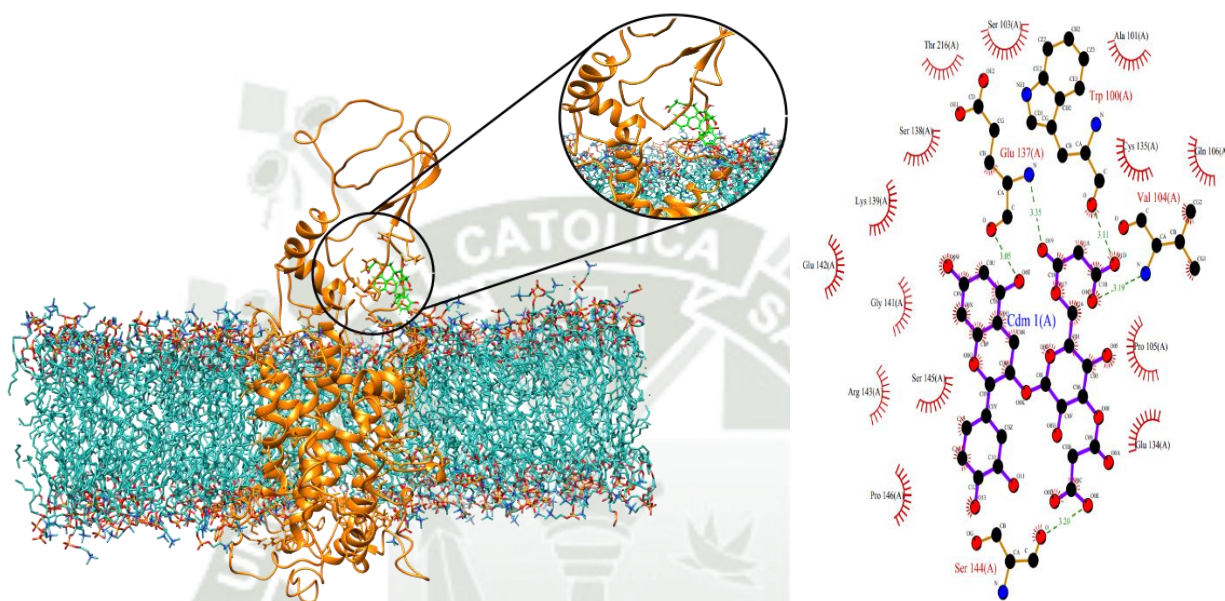
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.2. Dinámica molecular de CDM con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a  $309.15\text{K}^\circ$  y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose. (Figura 3.42) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación (Tabla 3.58) se puede ver que CDM presenta 71 interacciones hidrofóbicas, a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 16 interacciones hidrofóbicas, presenta 5 enlaces de hidrógeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 8 enlaces de hidrógeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.42:**

**Dinamica molecular de CDM con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representacion grafica de la interaccion del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.58:**

**Contactos entre CDM y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

Ligando	Contactos entre CDM – GLP – 1R		
	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
CDM (478)	71	5	0

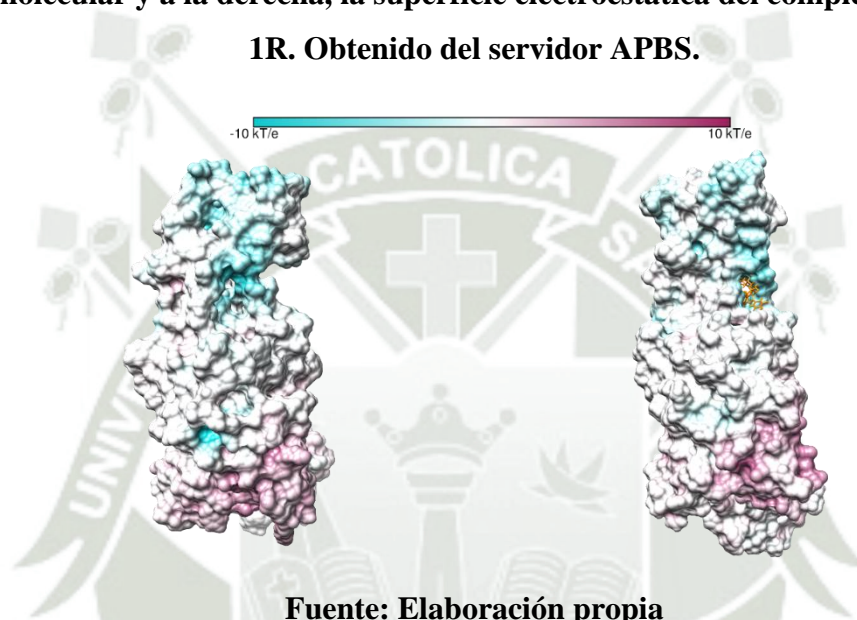
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo CDM-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando

genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de CDM-GLP – 1R posterior a su dinámica molecular, se observa que no hubo algún cambio de la densidad electrónica en la zona donde existe la interacción con el ligando y la proteína (90).

**Figura 3.43:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo CDM - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



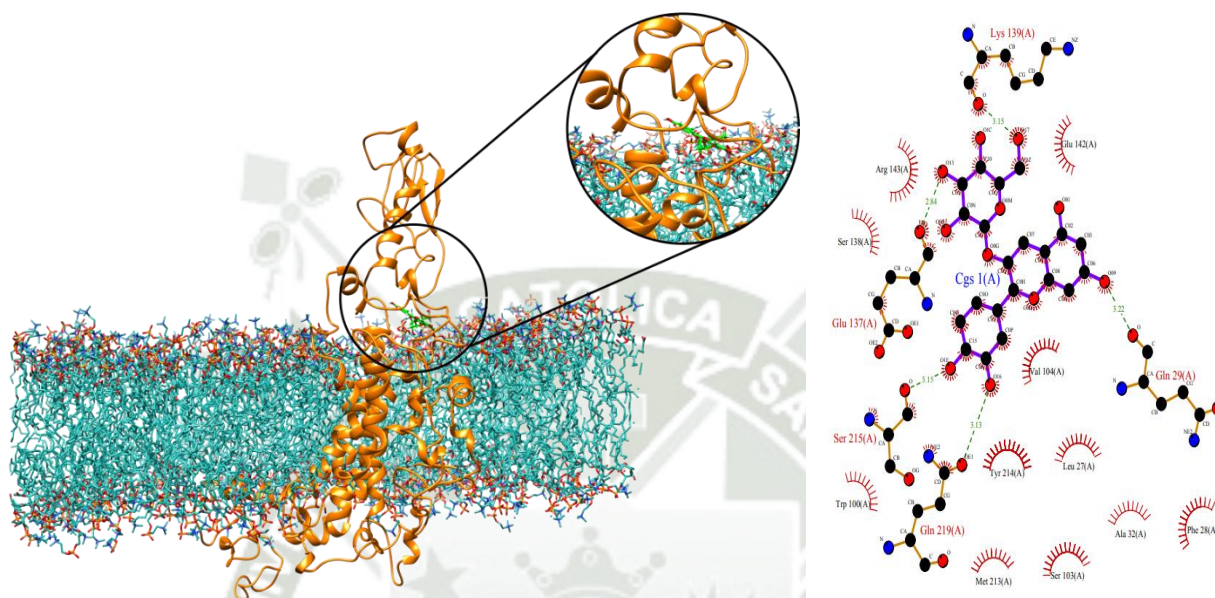
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.3. Dinámica molecular de CGS con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose. (Figura 3.44) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación (Tabla 3.59) se puede ver que CGS presenta 91 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular aumentaron en 39 interacciones hidrofóbicas, presenta 5 enlaces de hidrógeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 8 enlaces de hidrógeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.44:**

**Dinamica molecular de CGS con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representacion grafica de la interaccion del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.59:**

**Contactos entre CGS y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

<b>Contactos entre CGS – GLP – 1R</b>			
<b>Ligando</b>	<b>Interacciones Hidrofobicas</b>	<b>Enlaces de Hidrogeno</b>	<b>Puentes de sal</b>
CGS (211)	91	5	0

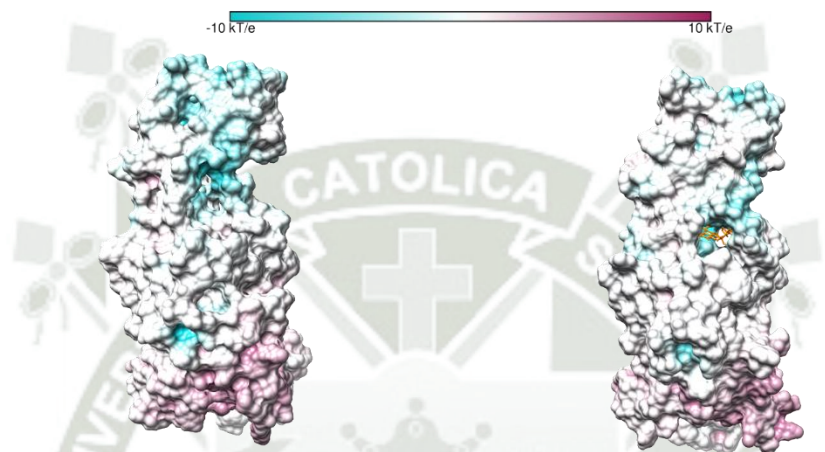
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la union y posterior dinamica molecular del complejo CGS-GLP – 1R, se evaluo las superficies electroestaticas de la proteina para analizar si la interaccion con el ligando genera algun cambio en la superficie, se comparo la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinamica molecular con la estructura caaternaria de CGS-GLP – 1R posterior a

su dinámica molecular, se observa un cambio en la densidad electrónica de la proteína en la zona donde está el ligando, debido a la interacción de este complejo (91).

**Figura 3.45:**

**A la izquierda se presenta la superficie electrostática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electrostática del complejo CGS - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



**Fuente: Elaboración propia**

#### **3.8.4. Dinámica molecular de PDA con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando se alejó de la proteína, esto dando a entender que no se logró ninguna interacción entre el ligando y la proteína diana.(Figura 3.46) además se evaluó las interacciones entre proteína y ligando luego de la simulación(Tabla 3.60) se puede ver que PDA no presenta interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular donde existían 39 interacciones hidrofóbicas, no presenta enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular donde existían 7 enlaces de hidrogeno y tampoco presenta ningún puente de sal (91).



su dinámica molecular, se observa que no hubo algún cambio de la densidad electrónica debido a que en este complejo, el ligando PDA se alejó de la proteína y no hubo alguna interacción (91).

**Figura 3.47:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PDA - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



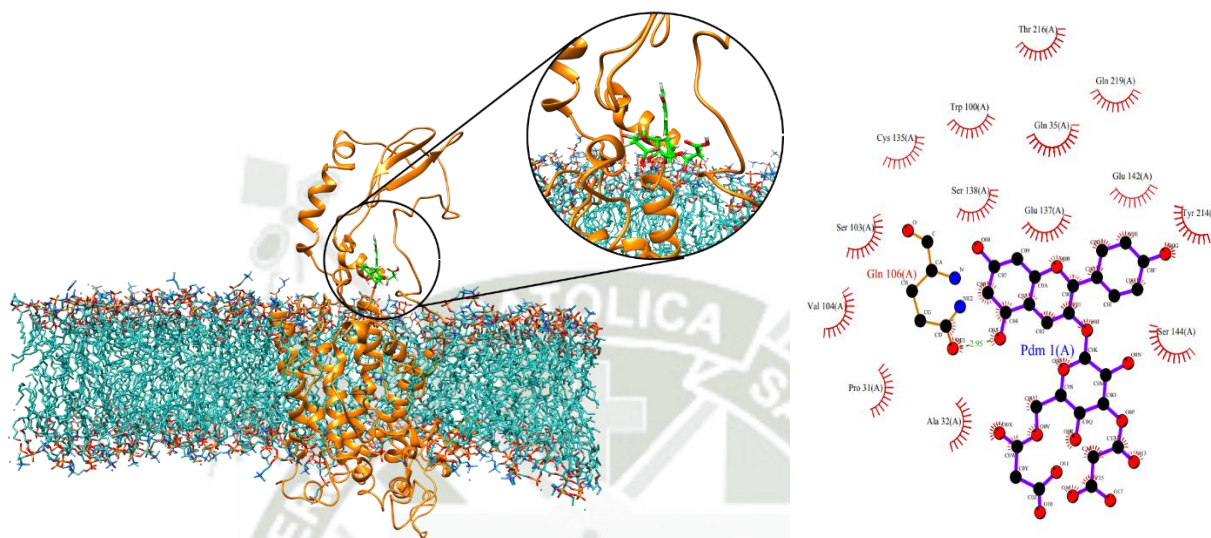
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.8.5. Dinámica molecular de PDM con GLP – 1R

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a  $309.15\text{K}^\circ$  y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.48) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.61) se puede ver que PDM presenta 69 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 16 interacciones hidrofóbicas, presenta 1 enlace de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 6 enlaces de hidrogeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.48:**

**Dinámica molecular de PDM con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.61:**

**Contactos entre PDM y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

Contactos entre PDM – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PDM (442)	69	1	0

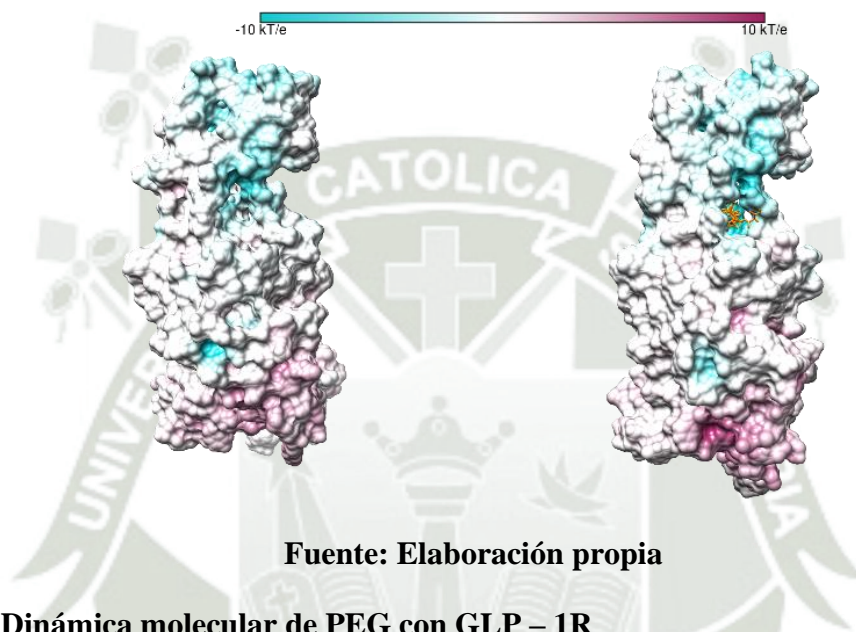
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo PDM-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de PDM-GLP – 1R posterior a

su dinámica molecular, se observa que no hubo algún cambio de la densidad electrónica en la zona donde existe la interacción con el ligando y la proteína.

**Figura 3.49:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PDM - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



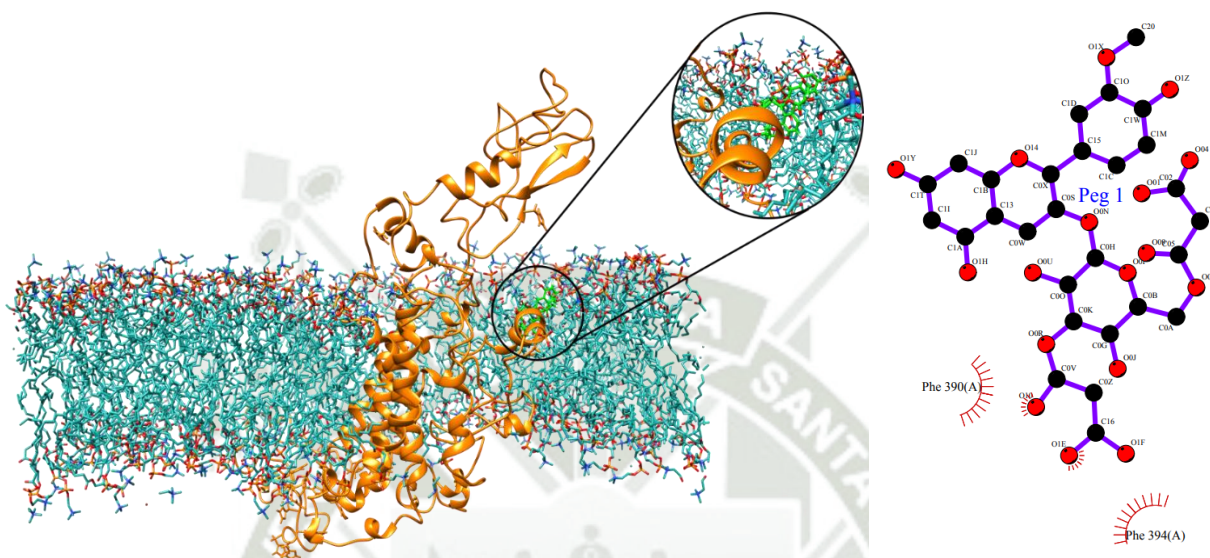
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.6. Dinámica molecular de PEG con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a  $309.15\text{K}^\circ$  y 1bar se puede observar que el ligando se alejó de la proteína, dándonos a entender que se formaron muy pocas o ninguna interacción entre proteína-ligando(Figura 3.50) además se evaluó las interacciones que se pudieron haber generado luego de la simulación(Tabla 3.62) se puede ver que PEG presenta 4 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 95 interacciones hidrofóbicas, no presenta enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular donde existían 9 enlaces de hidrogeno (91).

**Figura 3.50:**

**Dinámica molecular de PEG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación grafica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.61:**

**Contactos entre PEG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

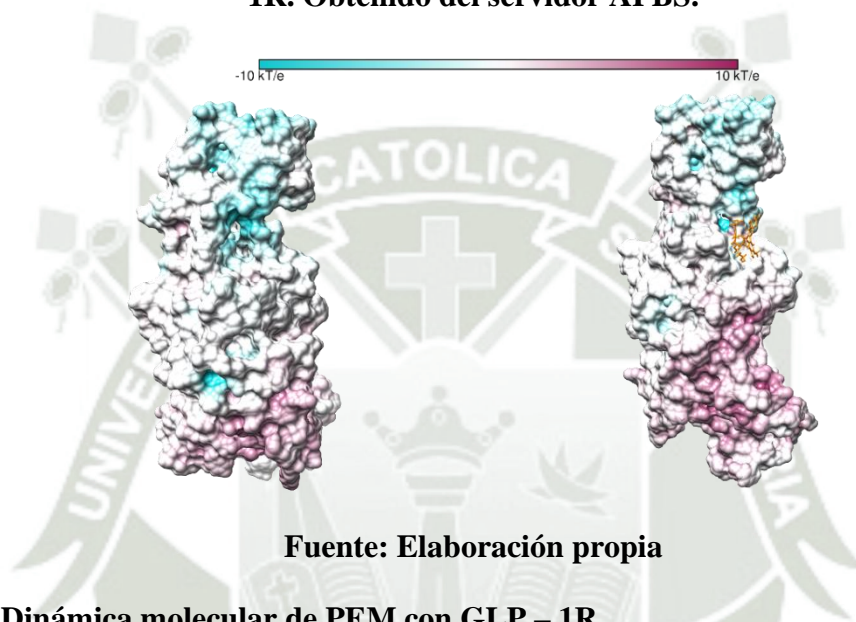
<b>Contactos entre PEG – GLP – 1R</b>			
<b>Ligando</b>	<b>Interacciones Hidrofobicas</b>	<b>Enlaces de Hidrogeno</b>	<b>Puentes de sal</b>
PEG (680)	4	0	0

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo PEG-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de PEG-GLP – 1R posterior a su dinámica molecular, se observa que no hubo algún cambio de la densidad

electrónica debido a que en este complejo, el ligando PEG se alejó de la proteína y aunque presenta una minúscula interacción, no es significativa para la variación de la densidad electrónica (91).

**Figura 3.51:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PEG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



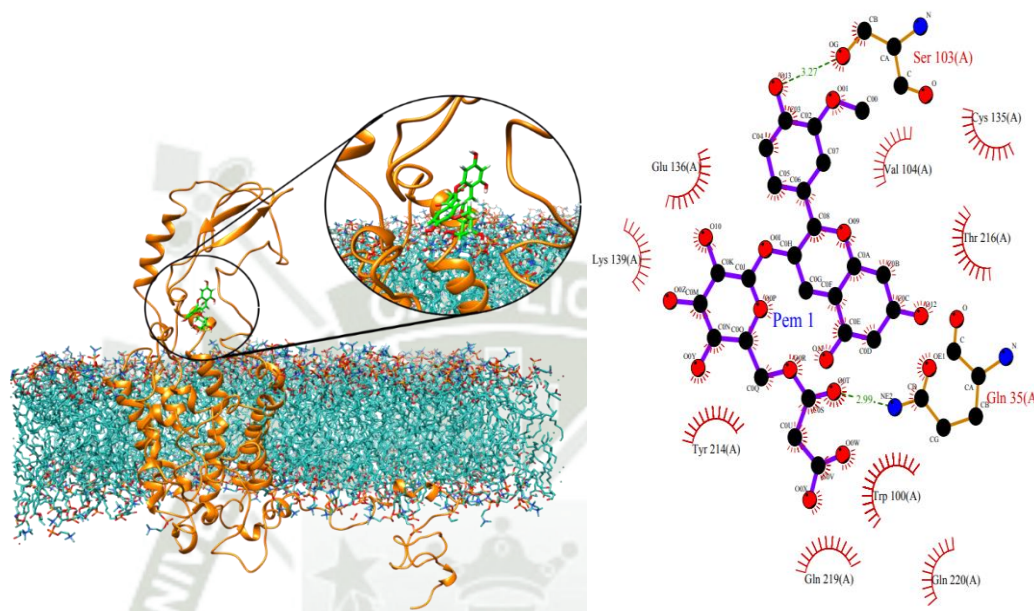
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.7. Dinámica molecular de PEM con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a  $309.15\text{K}^\circ$  y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.52) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.62) se puede ver que PEM presenta 78 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular aumentaron en 5 interacciones hidrofóbicas, presenta 2 enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 6 enlaces de hidrogeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno (91).

**Figura 3.52:**

**Dinámica molecular de PEM con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.62:**

**Contactos entre PEM y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

<b>Contactos entre PEM – GLP – 1R</b>			
<b>Ligando</b>	<b>Interacciones Hidrofobicas</b>	<b>Enlaces de Hidrogeno</b>	<b>Puentes de sal</b>
PEM (167)	78	2	0

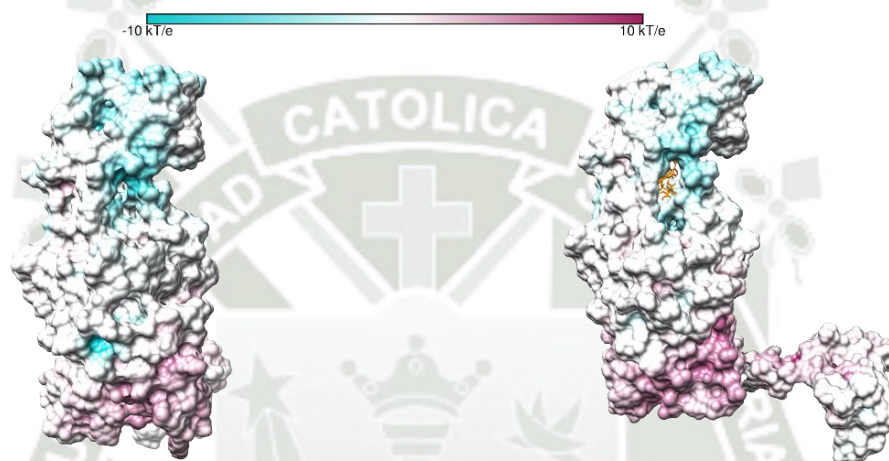
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo PEM-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior

a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de PEM-GLP – 1R posterior a su dinámica molecular, se observa un cambio en la densidad electrónica de la proteína en la zona donde está el ligando, debido a la interacción de este complejo (91).

**Figura 3.53:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PEM - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



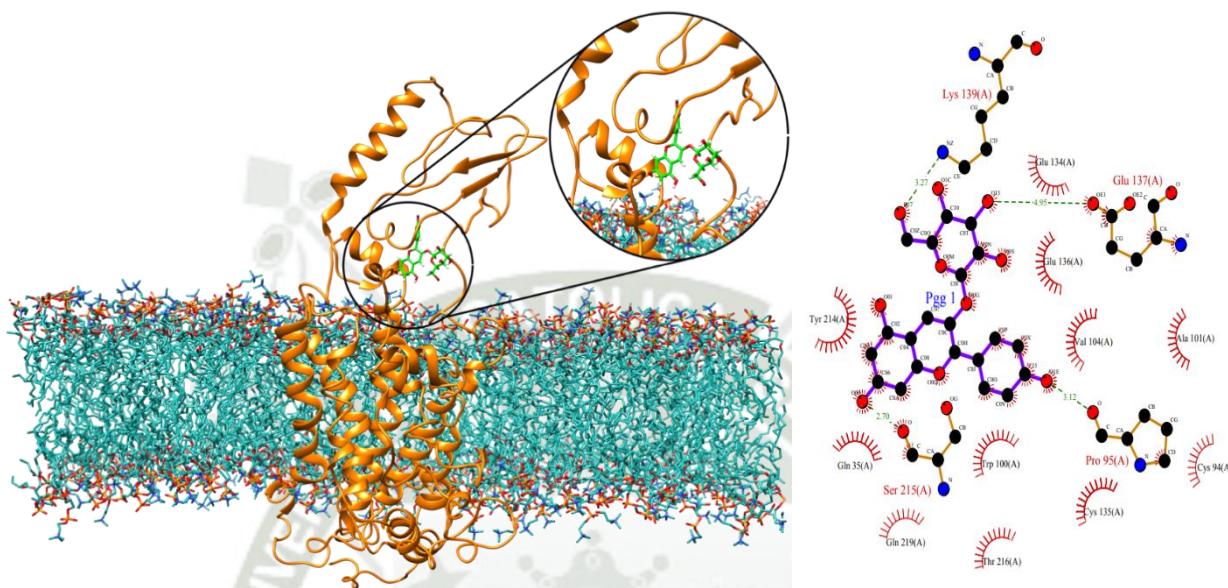
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.8. Dinámica molecular de PGG con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a  $309.15\text{K}^\circ$  y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.54) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.63) se puede ver que PGG presenta 69 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular aumentaron en 18 interacciones hidrofóbicas, presenta 4 enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 6 enlaces de hidrogeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.54:**

**Dinámica molecular de PGG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.63:**

**Contactos entre PGG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

Contactos entre PGG – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PGG (748)	69	4	0

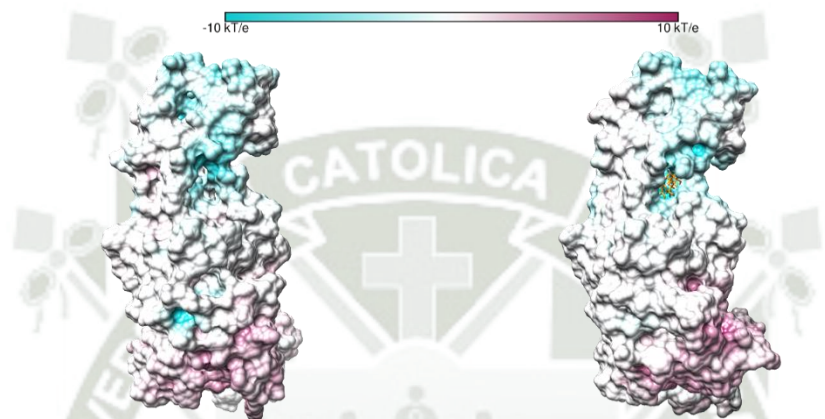
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo PGG-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de PGG-GLP – 1R posterior a

su dinámica molecular, se observa un cambio en la densidad electrónica de la proteína en la zona donde está el ligando, debido a la interacción de este complejo (91).

**Figura 3.55:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PGG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



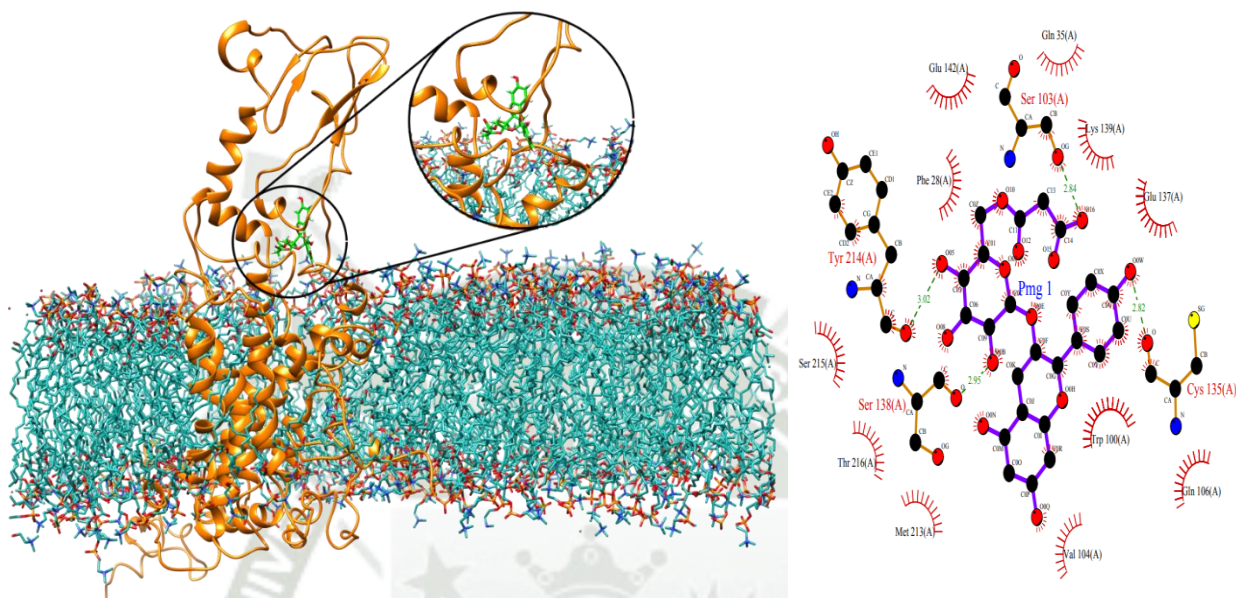
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.9. Dinámica molecular de PMG con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.56) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.64) se puede ver que PMG presenta 58 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 16 interacciones hidrofóbicas, presenta 4 enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 2 enlaces de hidrogeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.56:**

**Dinámica molecular de PMG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.64:**

**Contactos entre PMG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

Contactos entre PMG – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
PMG (358)	58	4	0

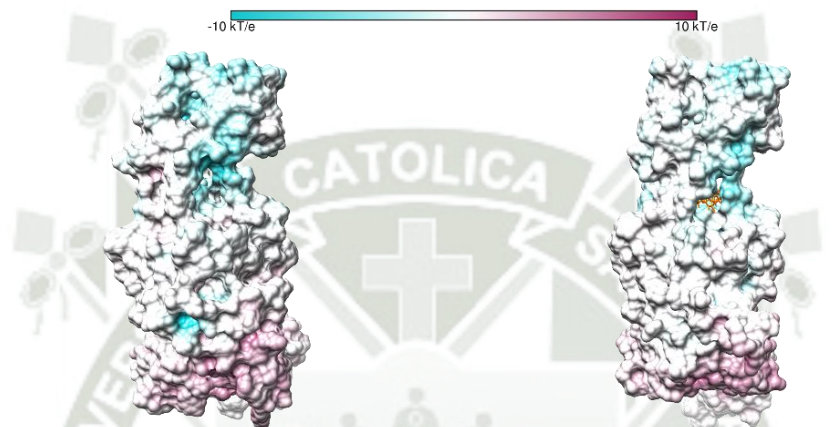
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo PMG-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de PMG-GLP – 1R posterior a

su dinámica molecular, se observa que no hubo algún cambio de la densidad electrónica en la zona donde existe la interacción con el ligando y la proteína (91).

**Figura 3.57:**

**A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo PMG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



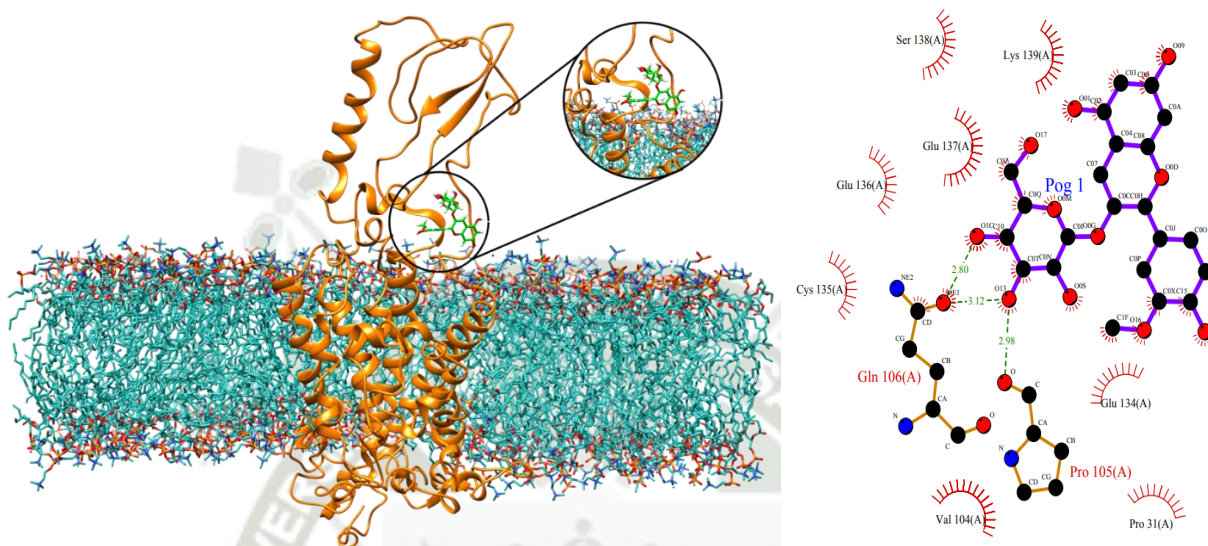
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.10. Dinámica molecular de POG con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.58) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.65) se puede ver que POG presenta 37 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 18 interacciones hidrofóbicas, presenta 3 enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular se redujo en 7 enlaces de hidrogeno y en caso de puentes de sal no se generó ninguno.

**Figura 3.58:**

**Dinámica molecular de POG con el receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación grafica de la interacción del metabolito secundario con los residuos presentes en GLP – 1R.**



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.65:**

**Contactos entre POG y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

Contactos entre POG – GLP – 1R			
Ligando	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de sal
POG (651)	37	3	0

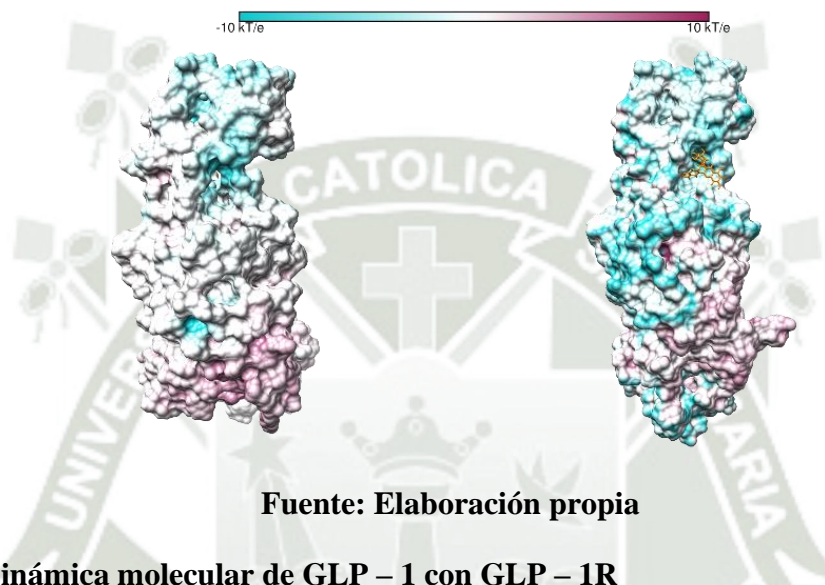
**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo POG-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de POG-GLP – 1R posterior a su dinámica molecular, se observa que hubo cambios de la densidad electrónica en la

zona donde existe la interacción con el ligando y la proteína, además de cambios a lo largo de esta misma, producido por dicha interacción (91).

**Figura 3.59:**

**A la izquierda se presenta la superficie electrostática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electrostática del complejo POG - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.**



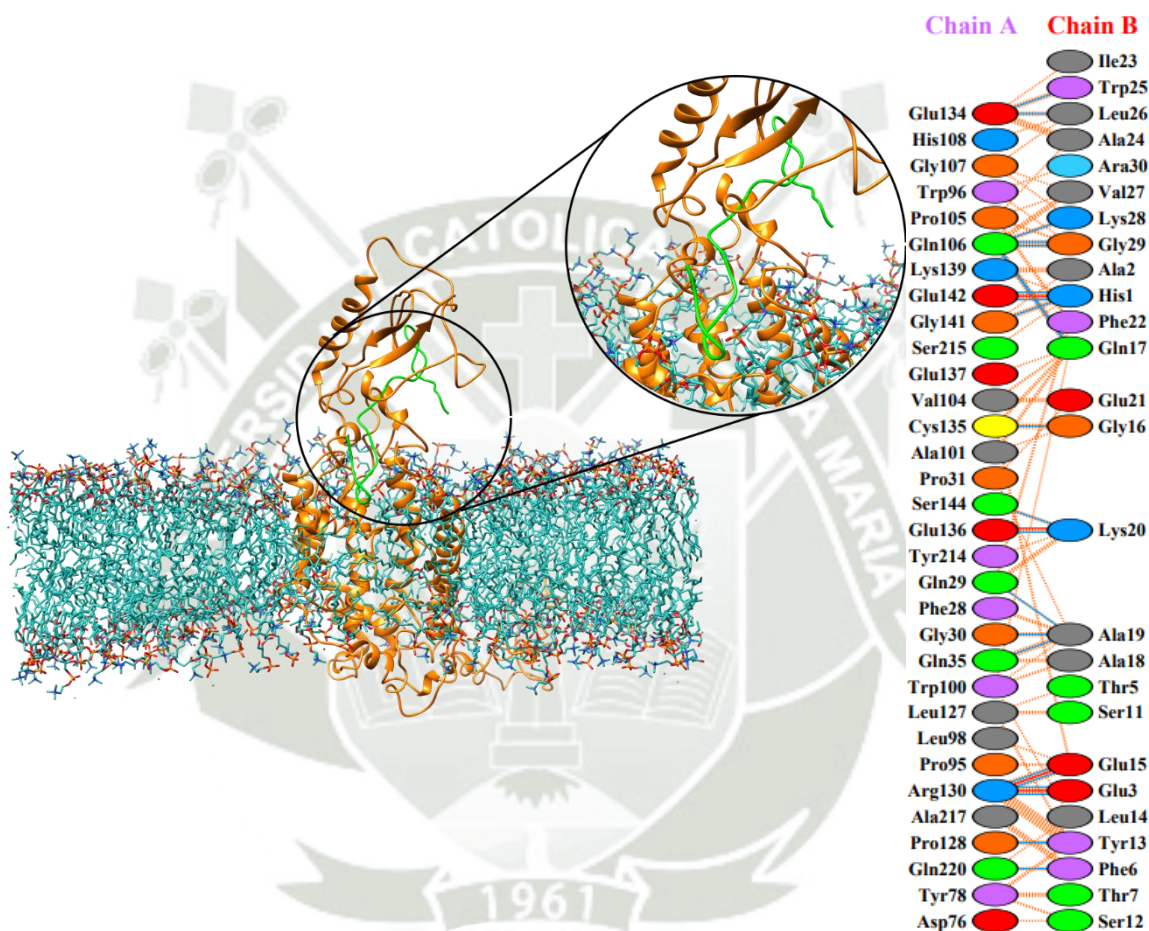
**Fuente: Elaboración propia**

### **3.8.11. Dinámica molecular de GLP – 1 con GLP – 1R**

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose.(Figura 3.60) además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación(Tabla 3.65) se puede ver que GLP – 1 presenta 119 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 169 interacciones hidrofóbicas, presenta 12 enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 7 enlaces de hidrogeno y por ultimo presenta 3 puentes de sal a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular aumento en 1 puente de sal (91).

**Figura 3.60:**

**Dinámica molecular de GLP – 1 con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación grafica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1.**



**Fuente: Elaboración propia**

Tabla 3.65:

**Contactos entre GLP – 1 y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

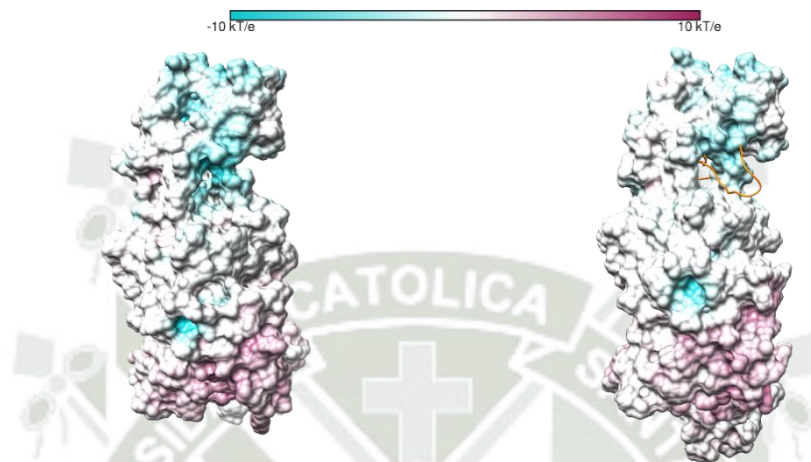
Contactos entre GLP – 1 – GLP – 1R				
Proteínas	Residuos Interactuantes	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de Sal
GLP – 1 (98)	17	119	12	3
GLP – 1R	26			

**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo GLP – 1-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica molecular con la estructura cuaternaria de GLP – 1-GLP – 1R posterior a su dinámica molecular, se observa que hubo cambios de la densidad electrónica en la zona donde existe la interacción con el ligando y la proteína (91).

**Figura 3.61:**

A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo GLP – 1 - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.



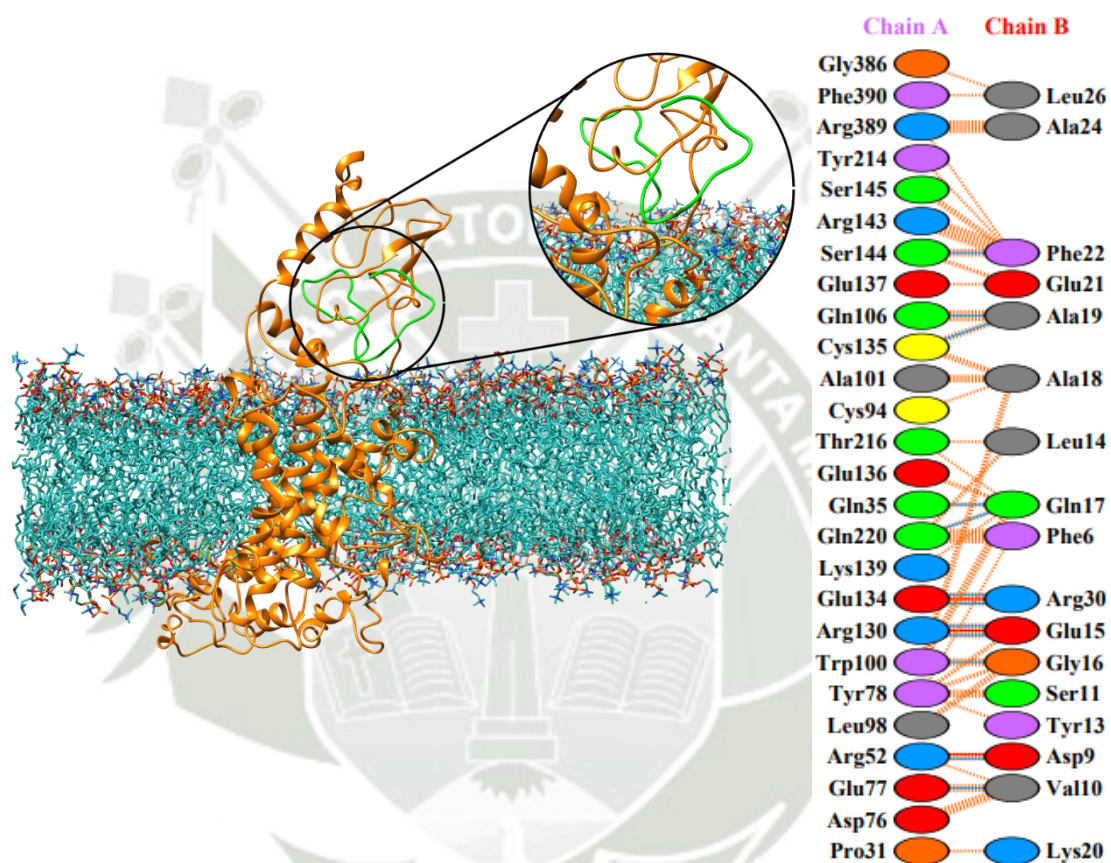
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.8.12. Dinámica molecular de GLP – 1 Amida con GLP – 1R

Luego de realizar la simulación de dinámica molecular a 309.15K° y 1bar se puede observar que el ligando aún se mantiene cerca a la proteína, dando a entender que, a pesar de las condiciones de temperatura y presión, el complejo aún seguía manteniéndose (Figura 3.62). Además se evaluó las interacciones que se han generado en esta estructura cuaternaria luego de la simulación (Tabla 3.66) se puede ver que GLP – 1 Amida presenta 201 interacciones hidrofóbicas a diferencia de la estructura obtenida del acoplamiento molecular disminuyeron en 72 interacciones hidrofóbicas, presenta 22 enlaces de hidrogeno a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular aumento en 6 enlaces de hidrogeno y por ultimo presenta 4 puentes de sal a comparación de la estructura obtenida del acoplamiento molecular aumento en puentes de sal (91).

**Figura 3.62:**

Dinámica molecular de GLP – 1 Amida con su receptor intermenbranal, de color verde el ligando y de color naranja el receptor, al costado su representación gráfica de los residuos interactuantes siendo la cadena A perteneciente a GLP – 1R y la cadena B perteneciente a GLP – 1 Amida.



**Fuente: Elaboración propia**

Tabla 3.66:

**Contactos entre GLP – 1 Amida y GLP – 1R después de ser sometido a dinámica molecular.**

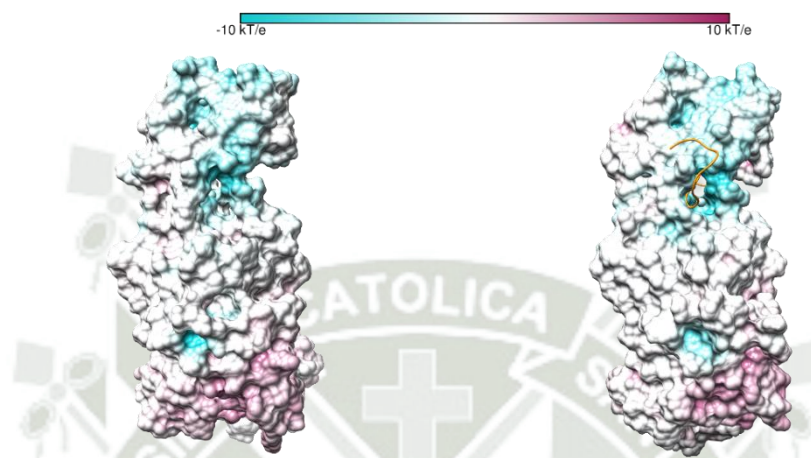
Proteínas	Contactos entre GLP – 1 Amida – GLP – 1R			
	Residuos Interactuantes	Interacciones Hidrofobicas	Enlaces de Hidrogeno	Puentes de Sal
GLP – 1 Amida (980)	26	201	22	4
GLP – 1R	32			

**Fuente: Elaboración propia**

La superficie electrostática de GLP – 1R se determinó empleando APBS (Adaptive Poisson-Boltzmann Solver) que realiza cálculos electrostáticos de Poisson-Boltzmann sobre biomoléculas. El modelo se visualizó utilizando el programa VMD. En la unión y posterior dinámica molecular del complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R, se evaluó las superficies electroestáticas de la proteína para analizar si la interacción con el ligando genera algún cambio en la superficie, se comparó la estructura terciaria de GLP – 1R posterior a su Dinámica Molecular con la estructura cuaternaria de GLP – 1 Amida-GLP – 1R posterior a su dinámica molecular, se observa que hubo cambios de la densidad electrónica en la zona donde existe la interacción con el ligando y la proteína (91).

**Figura 3.63:**

A la izquierda se presenta la superficie electroestática de solo GLP – 1R luego de su dinámica molecular y a la derecha, la superficie electroestática del complejo GLP – 1 Amida - GLP – 1R. Obtenido del servidor APBS.



**Fuente: Elaboración propia**

### 3.9. Estabilidad estructural de estructuras cuaternarias

Para analizar la estabilidad estructural de todos los complejos de proteína ligando se utilizó indicadores como el RMSD, RMSF, radio de giro. Además de separar por grupos, siendo el primero las interacciones entre metabolitos secundarios – receptor, para seguir con el segundo grupo que incluye hormonas – receptor.

#### 3.9.1. Estabilidad estructural del complejo metabolitos secundarios - receptor

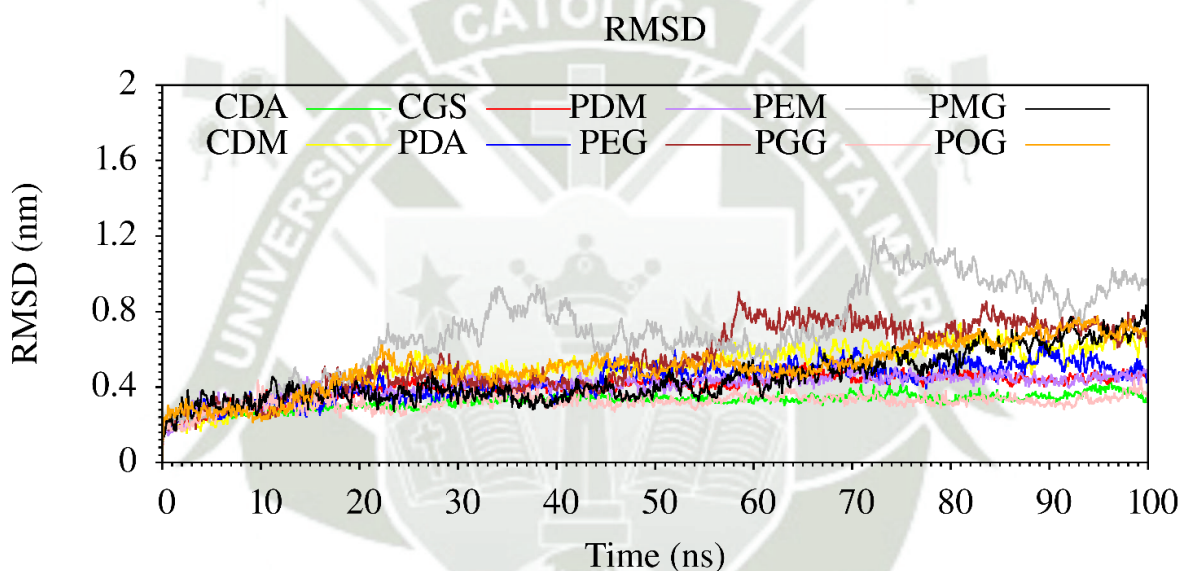
##### 3.9.1.1. RMSD

Calculando el RMSD total de cada complejo de interacción metabolito secundario-proteína, se analizaron los valores obtenidos y fueron analizados con Xmgrace y grafico con GNUplot obteniendo un promedio de estos valores. Para el complejo PEM-GLP – 1R se logra observar que es una estructura que presenta muchos picos a partir de 30ns y 70ns que nos indica que existe mucho movimiento de los átomos en la interacción, en el caso del complejo PEG- GLP – 1R se observa un pico significativo a los 60ns, pero a partir de ese momento la estructura empieza a ser estable hasta el final de la simulación de dinámica molecular. Para los demás

complejos no se observan picos significativos, indicando que sus estructuras se mantienen estables desde el inicio hasta el final de la simulación de dinámica molecular.

**Figura 3.64:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. Cada complejo está representado por un color para CDA; verde, CDM; amarillo, CGS; rojo, PDA; azul, PDM; morado, PEG; café, PEM; plomo, PGG; rosado, PMG; negro y POG; naranja.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.67:**  
**Promedio del RMSD para cada complejo con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar.**

Ligando	RMSD	
	Average RMSD	$\bar{X}$ RMSD (nm)
CDA	0.32	0.4
CDM	0.50	0.12
CGS	0.40	0.06
PDA	0.42	0.09
PDM	0.40	0.06
PEG	0.54	0.17
PEM	0.70	0.23
PGG	0.32	0.04
PMG	0.44	0.12
POG	0.50	0.13

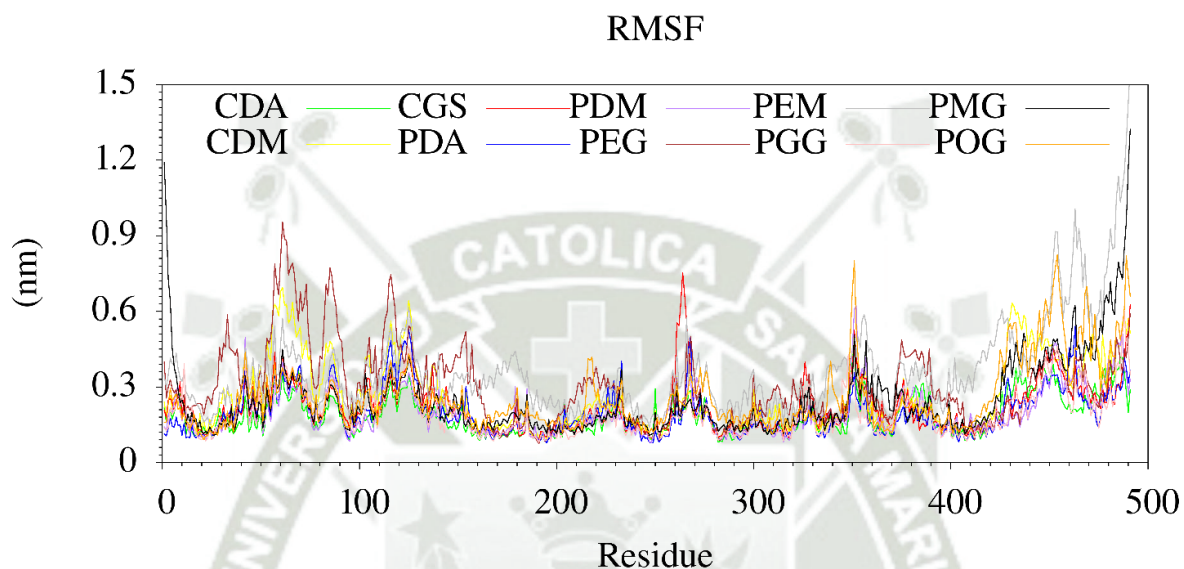
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.9.1.2. RMSF

Las fluctuaciones cuadráticas media de la proteína evalúa el movimiento que hay de los residuos o aminoácidos a lo largo de la simulación de dinámica molecular, al reconocer y analizar este diagrama podemos reconocer que residuos presentan menos vibración, que indica estabilidad en estos mismos, los residuos que presentan mayor vibración son generalmente los extremos del complejo metabolito secundario-GLP – 1R.

**Figura 3.65:**

En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. Cada complejo está representado por un color para CDA; verde, CDM; amarillo, CGS; rojo, PDA; azul, PDM; morado, PEG; café, PEM; plomo, PGG; rosado, PMG; negro y POG; naranja.



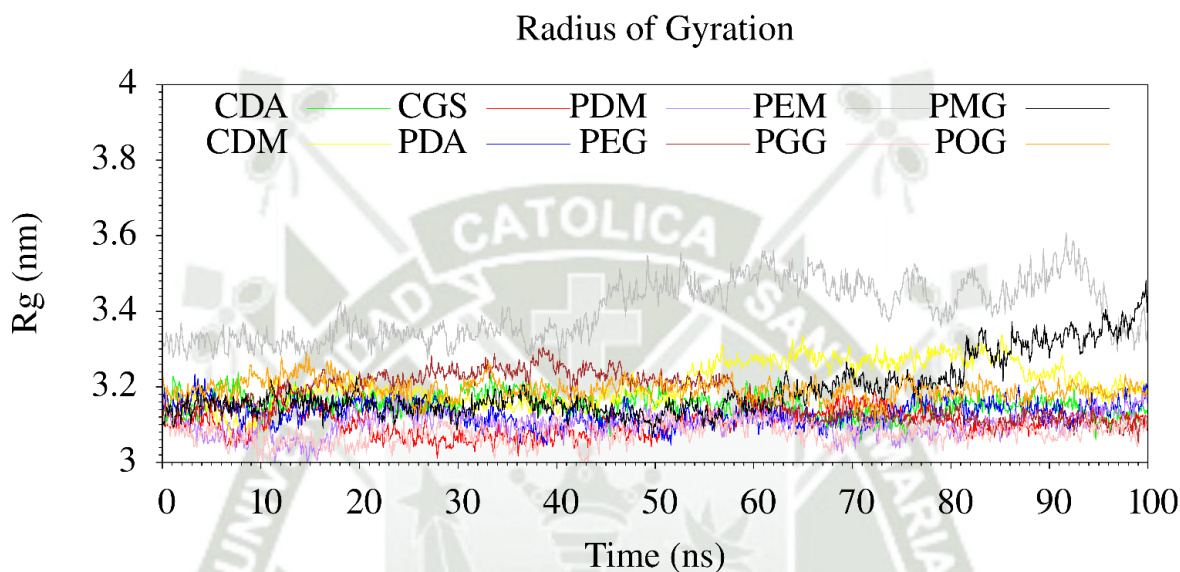
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.9.1.3. Radio de Giro

El radio de giro nos indica la compactación de una proteína además de visualizar la desnaturalización de una proteína. Si es que con el tiempo el valor del radio de giro tiende a ascender es signo de que se está desnaturalizando y si los picos descienden significa que la estructura se está compactando. En el caso del complejo PEM-GLP – 1R se observa un gráfico muy vacilante, a partir de 40 ns la estructura se descompacta hasta un tiempo de 90ns, que es donde empieza su compactación hasta el final de la dinámica molecular. En el caso del complejo PMG-GLP – 1R se logra observar que esta compactada, pero a partir de 80ns comienza su descompactación hasta el final de la dinámica molecular. Para los demás complejos todos se mantienen en estabilidad en su compactación (26).

**Figura 3.66:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. Cada complejo está representado por un color para CDA; verde, CDM; amarillo, CGS; rojo, PDA; azul, PDM; morado, PEG; café, PEM; plomo, PGG; rosado, PMG; negro y POG; naranja.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.68:**

Promedios obtenidos de las DM a 100ns para los complejos, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar.

Radio de Giro		
Ligando	Average RG	$\bar{X}$ RG (nm)
CDA	3.15	0.02
CDM	3.20	0.05
CGS	3.10	0.03
PDA	3.13	0.03
PDM	3.10	0.03
PEG	3.17	0.05
PEM	3.40	0.07
PGG	3.07	0.02
PMG	3.19	0.07
POG	3.19	0.02

**Fuente: Elaboración propia**

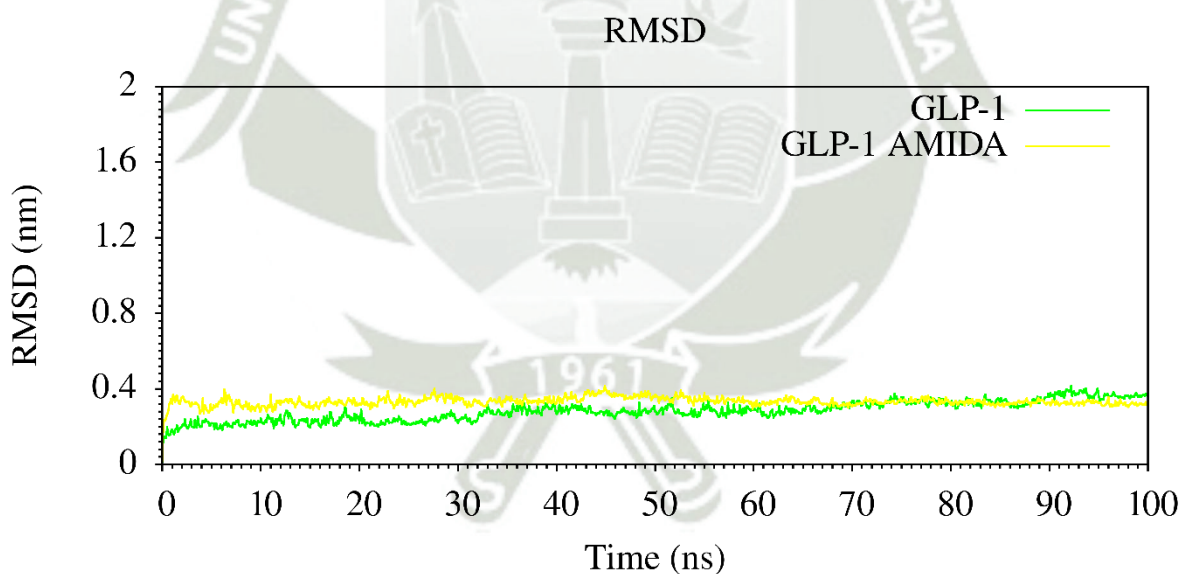
### 3.9.2. Estabilidad estructural del complejo hormona-proteína

#### 3.9.2.1. RMSD

Calculando el RMSD total de cada complejo de interacción hormona-proteína, se analizaron los valores obtenidos y fueron analizados con Xmgrace y graficados con GNUplot obteniendo un promedio de estos valores. Para el complejo GLP – 1 - GLP – 1R se logra observar que es una estructura estable, sin picos significativos, que nos indica que la estructura está en un estado altamente estable. Pasa lo mismo con el complejo GLP – 1 Amida - GLP – 1R, se observa que al igual que el otro complejo, no presenta picos y a lo largo de la simulación se mantiene en un estado estable.

**Figura 3.67:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100ns, en el eje de las ordenadas el RMSD en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.69:**

**Promedio del RMSD para cada proteína con DM a 100ns con su respectiva desviación estándar.**

Ligando	RMSD	
	Average RMSD	$\bar{X}$ RMSD (nm)
GLP – 1	0.28	0.05
GLP – 1 Amida	0.33	0.02

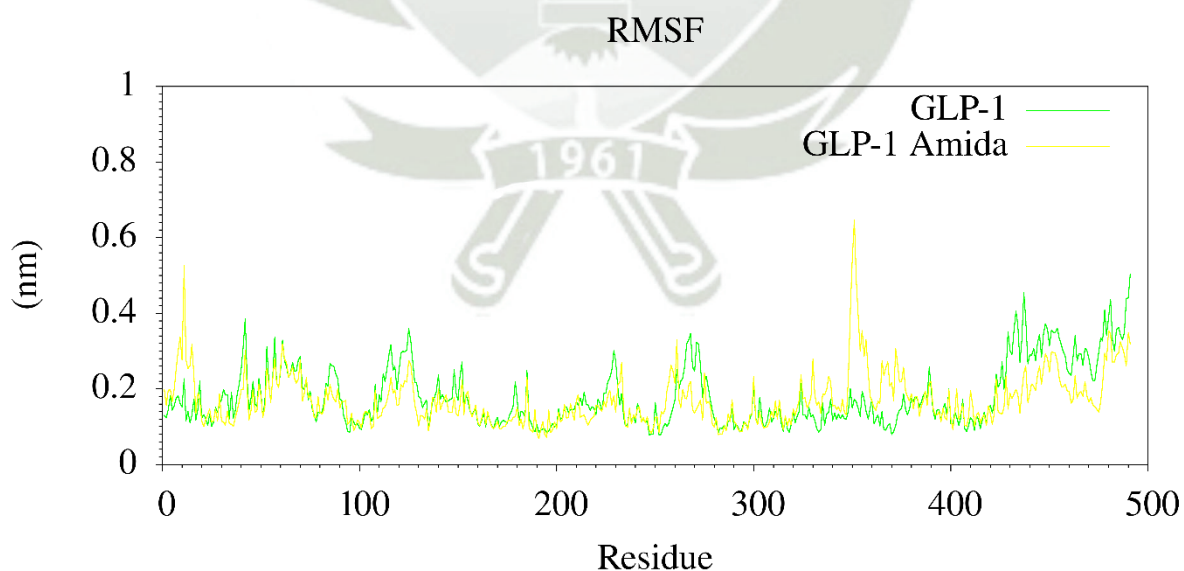
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.9.2.2. RMSF

Las fluctuaciones cuadráticas media de la proteína evalúa el movimiento que hay de los residuos o aminoácidos a lo largo de la simulación de dinámica molecular, al reconocer y analizar este diagrama podemos reconocer que residuos presentan menos vibración, que indica estabilidad en estos mismos, los residuos que presentan mayor vibración son generalmente los extremos del complejo hormona-receptor.

**Figura 3.68:**

**En el eje de las abscisas está el número de residuo en el eje de las ordenadas la distancia promedio de la vibración en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.**



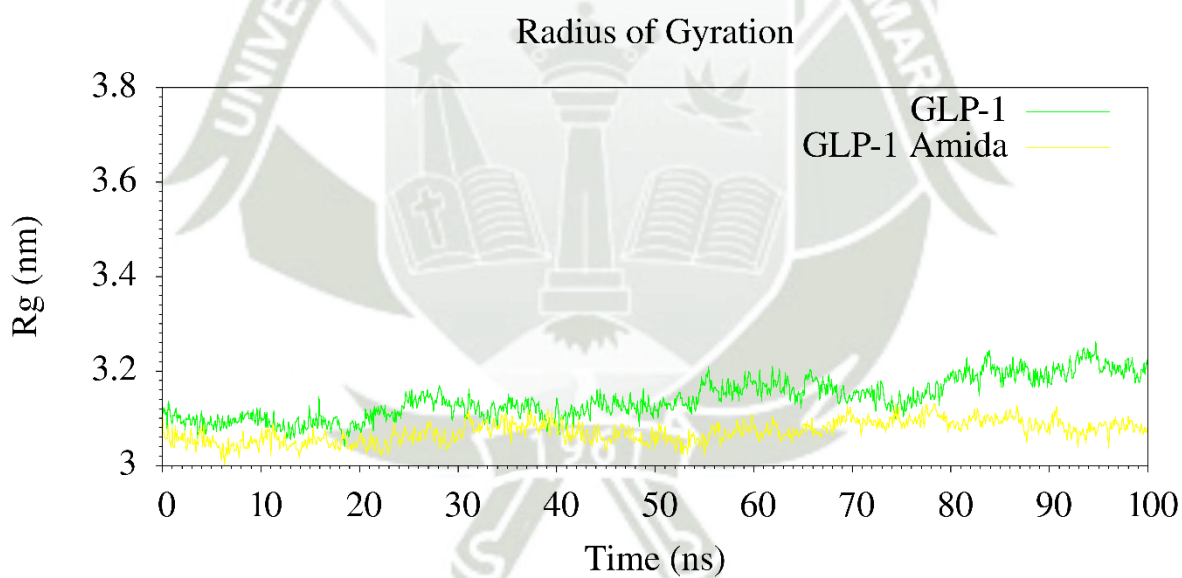
**Fuente: Elaboración propia**

### 3.9.2.3. Radio de Giro

El radio de giro nos indica la compactación de una proteína además de visualizar la desnaturalización de una proteína. Si es que con el tiempo el valor del radio de giro tiende a ascender es signo de que se está desnaturalizando y si los picos descienden significa que la estructura se está compactando. En el caso de GLP – 1-GLP – 1R se observa que a lo largo de la dinámica molecular a partir de los 75ns empieza a descompactarse, pero no con una gran diferencia. En caso de GLP – 1 Amida-GLP – 1R se observa que es muy estable desde el inicio hasta el final de la dinámica molecular (26).

**Figura 3.69:**

En el eje de las abscisas está el tiempo de la DM a 100 ns, en el eje de las ordenadas el Rg en nm. Cada proteína está representada por un color, verde para GLP – 1 y amarillo para GLP – 1 Amida.



**Fuente: Elaboración propia**

**Tabla 3.70:**

**Promedios obtenidos de las DM a 100ns para cada proteína, los valores son mostrados con su respectiva desviación estándar.**

Ligando	Radio de Giro	
	Average RG	$\bar{X}$ RG (nm)
GLP – 1	3.14	0.04
GLP – 1 Amida	3.07	0.02

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10. Cálculo de energía de afinidad en estructuras cuaternarias

#### 3.10.1. Energía de afinidad en el complejo CDA-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de CDA-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -715.976 +/- 39.509 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, lo que nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.71:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo CDA-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

CDA-GLP – 1R		
<b>Energía de van der Waals</b>	-176.737	+/- 13.851 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-551.602	+/- 42.528 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	205.788	+/- 29.265 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-173.141	+/- 23.562 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-715.976	+/- 39.509 kJ/mol

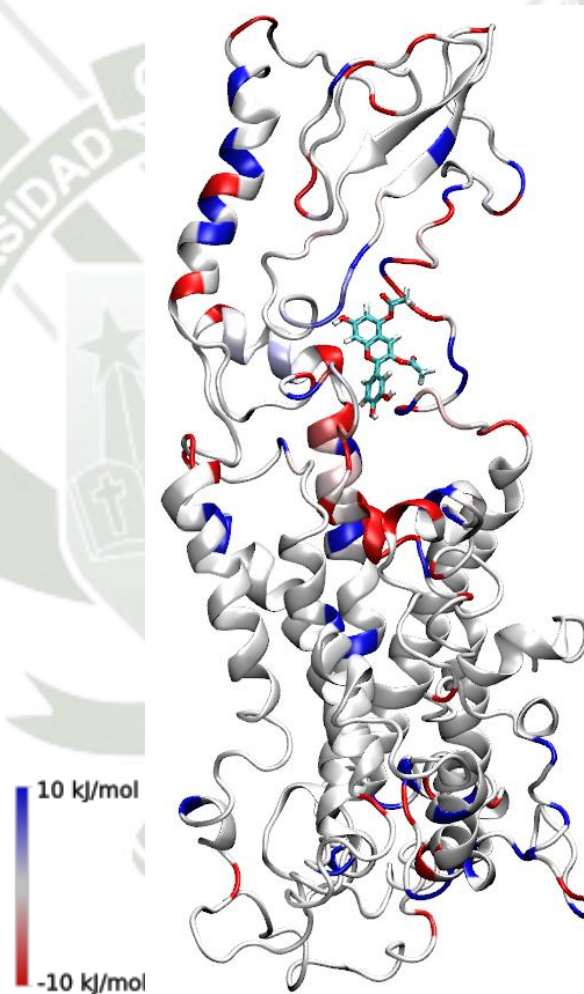
**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo CDA-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción de la proteína GLP – 1R ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala

de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.70:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción CDA-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo CDA-GLP – 1R, siendo estos 13 residuos interactuantes con el CDA, ningún residuo crea enlaces de hidrógeno con el ligando, sus energías son variantes, pero predominan las energías

negativas siendo los únicos con energía positiva Trp100, Val104, Pro105 Gln106 Y Cys135.

**Tabla 3.72:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción CDA-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

<b>CDA-GLP – 1R</b>			
Leu27	-12.93	Glu 134	-38.36
Phe28	-6.63	Cys135	15.45
Gln35	-11.18	Glu137	-74.96
Trp100	0.08	Met213	-6.39
Val104	7.84	Tyr214	-28.34
Pro105	5.00	Thr 216	-16.67
Gln106	14.66		

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.2. Energía de afinidad en el complejo CDM-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de CDM-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -900.330 +/- 48.412 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable y una de las más altas en los metabolitos secundarios, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.73:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo CDM-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

<b>CDM-GLP – 1R</b>		
<b>Energía de van der Waals</b>	-277.334	+/- 17.652 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-578.383	+/- 50.111 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	226.573	+/- 26.401 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-246.621	+/- 27.855 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-900.330	+/- 48.412 kJ/mol

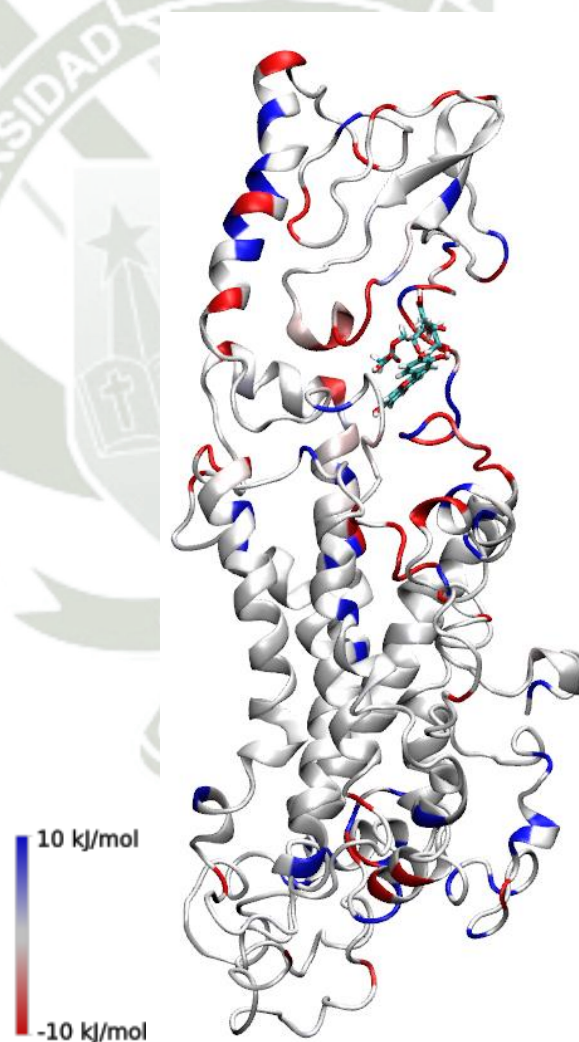
**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo CDM-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada

residuo que participa en la interacción con CDM ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.71:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción CDM-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interaccionan entre el complejo CDM – GLP1 Receptor, siendo estos 19 residuos interaccionantes con el CDM, de este número total de 19 residuos solo 4 residuos forman enlaces de hidrogeno (Trp100, Val104, Glu137 y Ser144). Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 4 residuos los que presentan energías positivas (91).

**Tabla 3.74:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción CDM-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

CDM-GLP – 1R			
Trp100	-8.25	Cys135	16.49
Val104	-69.47	Ser138	-2.61
Glu137	-21.65	Lys139	49.90
Ser144	-39.04	Gly141	-12.72
Ala101	-5.48	Glu142	-82.76
Ser103	-10.46	Arg143	28.44
Pro105	-26.49	Ser145	-7.02
Gln106	4.04	Pro146	-33.91
Ser133	-1.41	Thr216	-8.17
Glu134	-17.12		

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.3. Energía de afinidad en el complejo CGS-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de CGS-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -700.325 +/- 46.314 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, aunque no tan alta como CDM, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

Tabla 3.75:

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo CGS-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

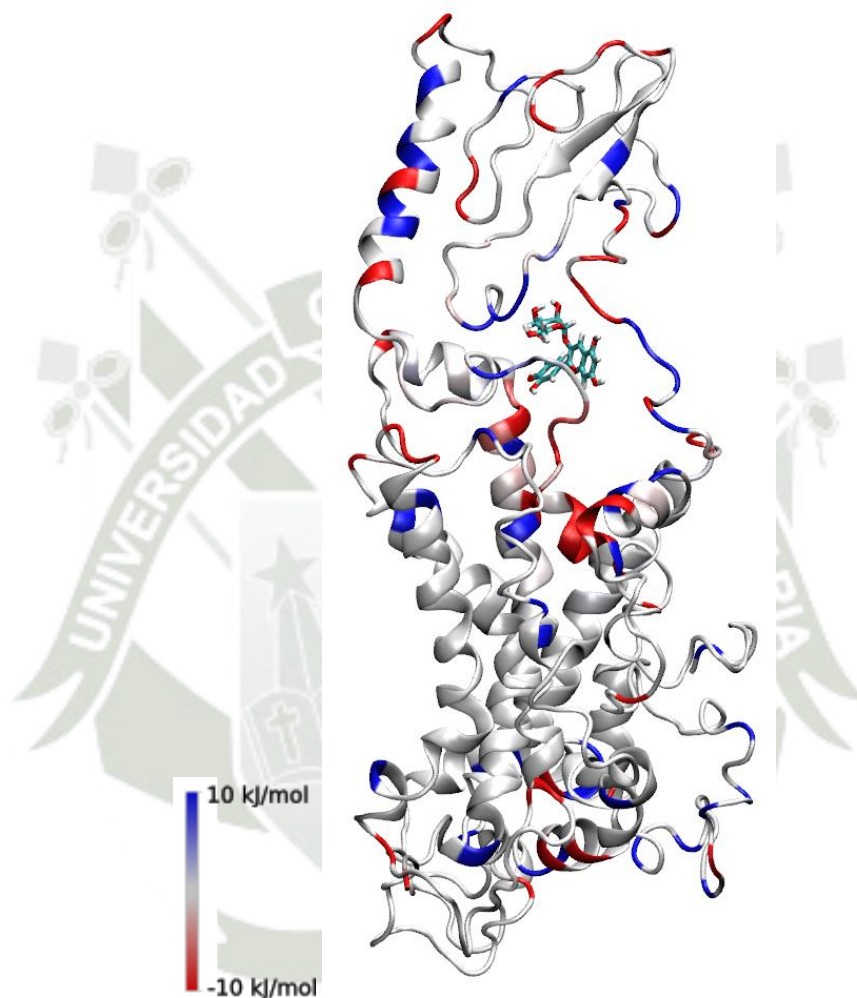
CGS-GLP – 1R			
<b>Energía de van der Waals</b>	-202.722	+/-	26.148 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-475.852	+/-	38.489 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	183.906	+/-	17.309 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-184.589	+/-	26.283 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-700.325	+/-	46.314 kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo CGS-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con CGS ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.72:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción CGS-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo CGS-GLP – 1R, siendo estos 16 residuos interaccionantes con el CGS, de este número total de 16 residuos solo 5 residuos forman enlaces de hidrógeno (Gln29, Glu137, Lys139, Ser215, Gln219). Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 7 residuos los que presentan energías positivas.

**Tabla 3.76:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción CGS-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

CGS-GLP – 1R			
Gln29	-5.87	Tpr100	9.39
Glu137	-47.19	Ser103	15.41
Lys139	61.92	Val104	41.04
Ser215	-5.99	Ser138	15.77
Gln219	-1.01	Glu142	-40.49
Leu27	-15.49	Arg143	62.73
Phe28	-7.44	Met213	-5.76
Ala32	4.35	Tyr214	-102.23

**Fuente: Elaboración propia**

#### **3.10.4. Energía de afinidad en el complejo PDA-GLP – 1R**

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de PDA-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -226.349 +/- 135.563 kJ/mol, esta es una energía bastante baja, es la energía de unión menos favorable de los metabolitos secundarios, esto es debido a que el ligando no permaneció con alguna interacción con la proteína GLP – 1R, esta energía nos da indicios que no se logró una unión. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

Tabla 3.77:

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PDA-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

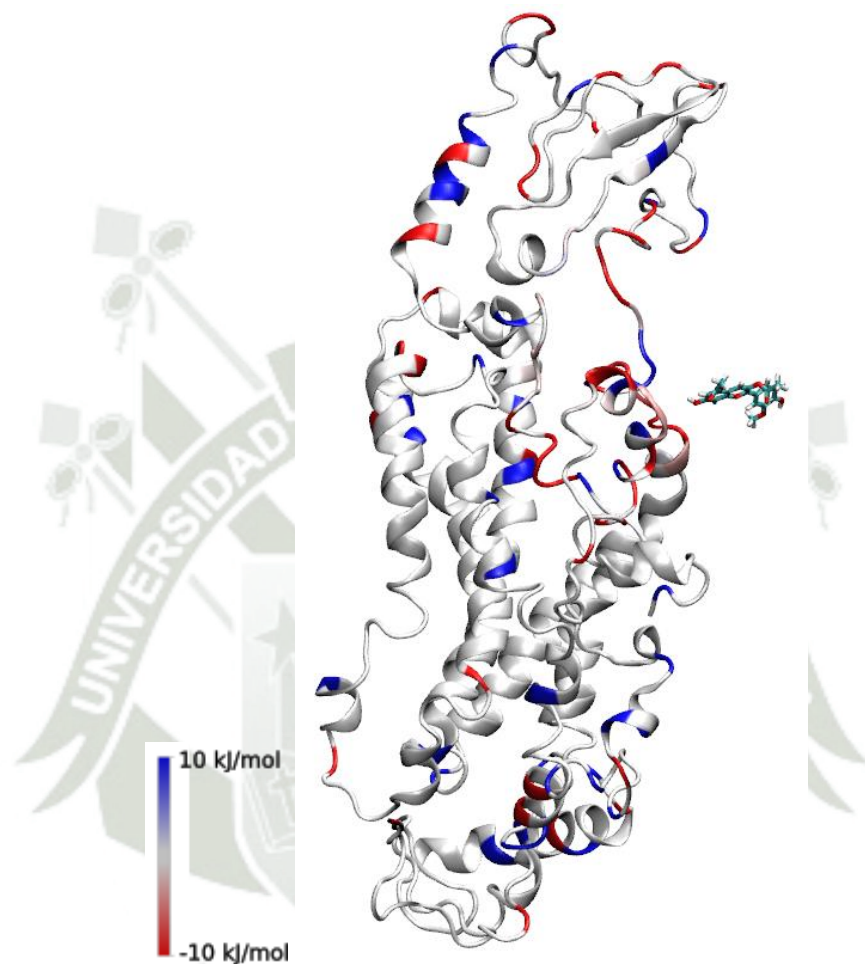
PDA-GLP – 1R		
<b>Energía de van der Waals</b>	-76.231 +/-	51.969 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-95.646 +/-	64.160 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	29.597 +/-	32.614 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-74.082 +/-	70.480 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-226.349 +/-	135.563 kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo PDA-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito se aleja de la proteína, causando que la interacción con el receptor sea inexistente. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). En la estructura se visualiza que el metabolito secundario se alejó de la proteína, dejando atrás cualquier interacción que haya podido tener con la proteína, en el momento del acoplamiento, pero la proteína aún mantiene zonas pintadas de rojo las cuales en algún momento interaccionaron con el metabolito (91).

**Figura 3.72:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PDA-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo PDA – GLP – 1R, al estar PDA alejado de GLP – 1R no logra interactuar con este, por lo que ningún residuo de la proteína diana está en contacto con el metabolito secundario, no habiéndose formado interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrogeno ni puentes de sal.

**Tabla 3.78:**

**No se encontraron residuos de GLP – 1R que tengan alguna interacción con el metabolito secundario, debido a que PDA se alejó de la proteína. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

PDA – GLP – 1R	
-	-

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.5. Energía de afinidad en el complejo PDM-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de PDM-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -856.726 +/- 49.016 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, aunque no tan alta como CDM, pero muy cercana a esta, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.79:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PDM-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

PDM-GLP – 1R	
<b>Energía de van der Waals</b>	-246.966 +/- 20.733 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-585.024 +/- 45.212 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	243.684 +/- 23.502 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-241.399 +/- 31.399 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-856.726 +/- 49.016 kJ/mol

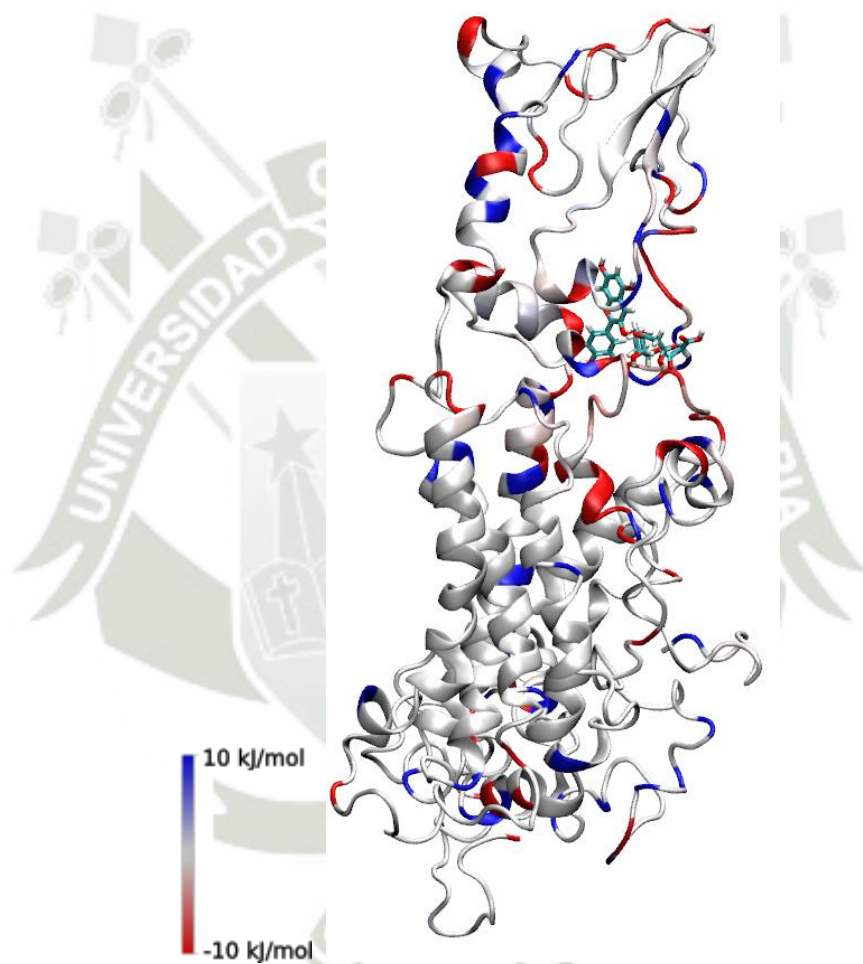
**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo PDM-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con PDM ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se

vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.73:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PDM-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo PDM-GLP – 1R, siendo estos 15 residuos interaccionantes con el PDM, de este número total de 15 residuos solo 1 residuo forma enlace de hidrógeno (Gln106). Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 5 residuos los que presentan energías positivas (91).

**Tabla 3.80:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PDM-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

<b>PDM-GLP – 1R</b>			
Gln106	21.15	Glu137	-49.52
Pro31	-2.87	Ser138	-2.29
Ala32	-20.26	Glu142	-72.40
Gln35	-23.46	Ser144	-25.93
Trp100	-21.84	Tyr214	-47.74
Ser103	0.11	Thr216	-13.10
Val104	33.42	Gln219	1.79
Cys135	7.76		

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.6. Energía de afinidad en el complejo PEG-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de PEG-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de  $-398.989 \pm 144.812$  kJ/mol, esta es una energía bastante baja, es la segunda energía de unión menos favorable de los metabolitos secundarios, esto es debido a que el ligando presenta una interacción muy baja con la proteína GLP – 1R, esta energía nos da indicios que no se logró una unión. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.81:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PEG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

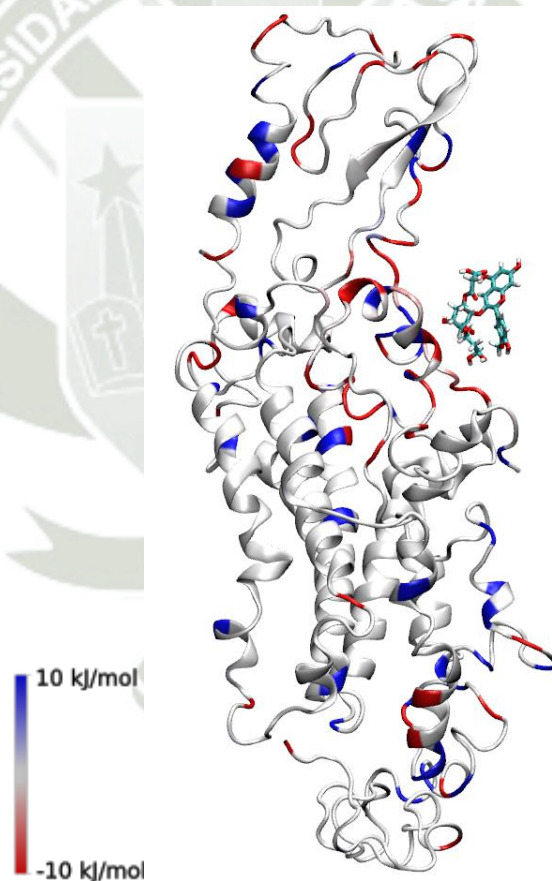
<b>PEG-GLP – 1R</b>		
<b>Energía de van der Waals</b>	-94.181	$\pm 47.377$ kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-246.828	$\pm 107.387$ kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	52.329	$\pm 50.569$ kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-98.211	$\pm 54.072$ kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-398.989	$\pm 144.812$ kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizó la película de la DM del complejo PEG-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito se aleja de la proteína, causando que la interacción con el receptor sea muy baja. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). En la estructura se visualiza que el metabolito secundario se alejó de la proteína, provocando que la interacción que tiene con la proteína sea muy baja, pero GLP – 1R aún mantiene zonas pintadas de rojo las cuales en algún momento interaccionaron con el metabolito (91).

**Figura 3.74:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PEG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interaccionan entre el complejo PEG-GLP – 1R, siendo estos 2 residuos interaccionantes con PEG, de este número total de 2

residuos que presentan energías negativas, ninguna forma enlaces de hidrogeno o puentes de sal, esto debido a que se encuentran alejados de la proteína diana, causando que no pueda interactuar con el ligando en su totalidad (91).

**Tabla 3.82:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PEG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

PEG-GLP – 1R	
Phe390	-53.89
Phe394	-25.50

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.7. Energía de afinidad en el complejo PEM-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de PEM-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -767.861 +/- 55.206 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, aunque no tan alta como CDM, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.83:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PEM-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

PEM-GLP – 1R		
<b>Energía de van der Waals</b>	-222.333	+/- 14.073 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-445.492	+/- 71.418 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	146.636	+/- 37.148 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-222.363	+/- 27.297 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-767.861	+/- 55.206 kJ/mol

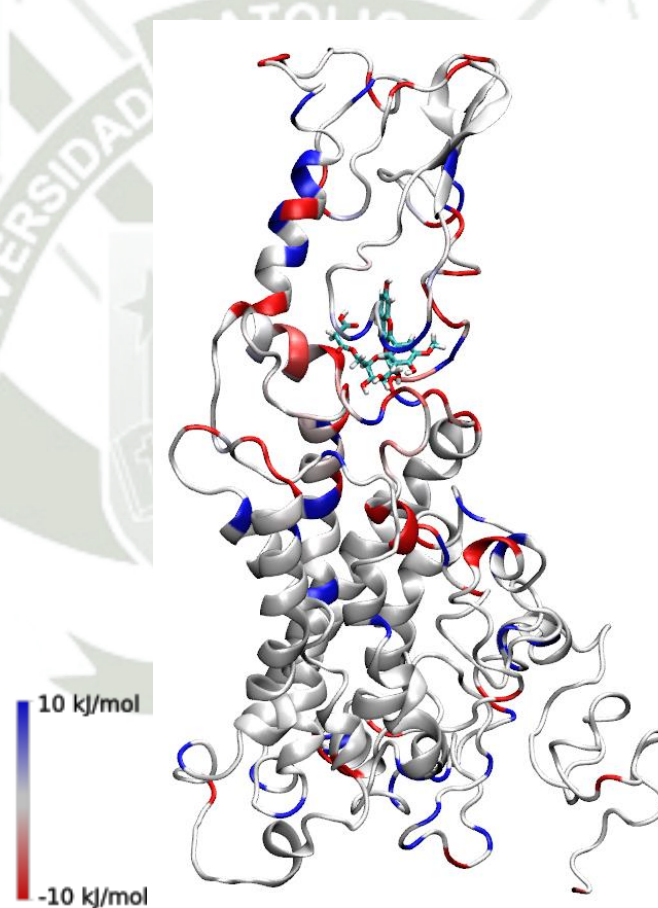
**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo PEM-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con PEM ha sido representado con método de

dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.75:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PEM-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo PEM-GLP – 1R, siendo estos 14 residuos interaccionantes con el PEM, de este número total de 14 residuos solo 2 residuos forman enlaces de hidrógeno (Gln35, Ser103). Las energías

del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 7 residuos los que presentan energías positivas (91).

**Tabla 3.84:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PEM-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

PEM-GLP – 1R			
Gln35	-12.64	Glu136	-48.12
Ser103	30.82	Lys139	52.22
Tyr78	2.67	Glu142	-72.02
Trp100	39.92	Tyr214	-25.29
Val104	18.19	Thr216	-57.81
Gln106	2.61	Gln219	-8.02
Cys135	0.43	Gln220	-6.49

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.8. Energía de afinidad en el complejo PGG-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de PGG-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -762.580 +/- 51.859 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, aunque no tan alta como CDM, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.85:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PGG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

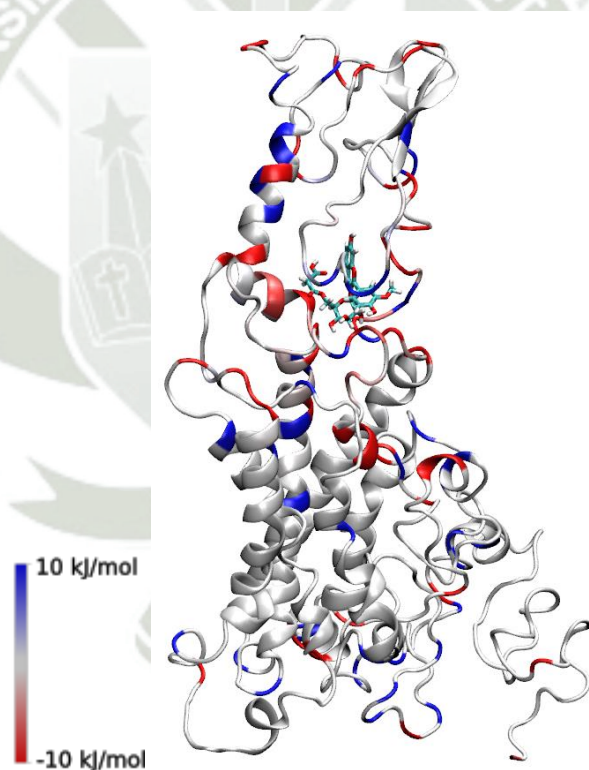
PGG-GLP – 1R		
<b>Energía de van der Waals</b>	-188.147	+/- 15.795 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-573.683	+/- 55.572 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	206.079	+/- 37.946 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-185.842	+/- 26.767 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-762.580	+/- 51.859 kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizó la película de la DM del complejo PGG-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con PGG ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.76:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PGG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre PGG-GLP – 1R, siendo estos 15 residuos interaccionantes con PGG, de este número total de 15 residuos solo 4 residuos forman enlaces de hidrógeno (Pro95, Glu137, Lys139, Ser215). Las

energías del total de residuos son variantes, predominan las energías negativas siendo solo 9 residuos los que presentan energías positivas, pero siendo estas en su mayoría pequeñas (91).

**Tabla 3.86:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PGG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

<b>PGG-GLP – 1R</b>			
Pro95	1.52	Val104	13.71
Glu137	-85.27	Glu134	24.18
Lys139	59.64	Cys135	16.19
Ser215	0.84	Glu136	-61.97
Gln35	1.59	Tyr214	-45.16
Cys94	9.43	Thr216	-11.44
Trp100	-14.67	Gln219	4.26
Ala101	-2.33		

**Fuente: Elaboración propia**

### **3.10.9. Energía de afinidad en el complejo PMG-GLP – 1R**

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de PMG-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -783.850 +/- 44.869 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, aunque no tan alta como CDM, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

Tabla 3.87:

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo PMG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

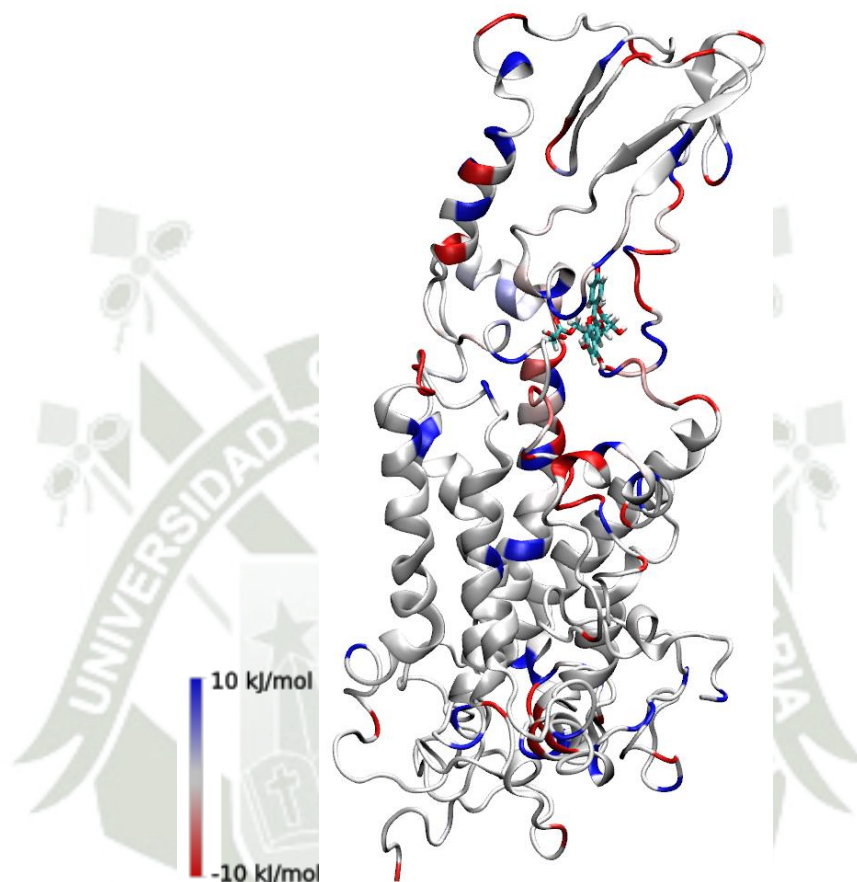
PMG-GLP – 1R		
<b>Energía de van der Waals</b>	-224.296	+/- 20.857 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-532.445	+/- 42.460 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	212.249	+/- 20.144 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-214.975	+/- 28.030 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-783.850	+/- 44.869 kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo PMG-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con PMG ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.77:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción PMG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo PMG-GLP – 1R, siendo estos 16 residuos interaccionantes con el PMG, de este número total de 16 residuos solo 4 residuos forman enlaces de hidrógeno (Ser103, Cys135, Ser138, Tyr214). Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 7 residuos los que presentan energías positivas (91).

**Tabla 3.88:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción PMG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

PMG-GLP – 1R			
Ser103	16.02	Gln106	21.73
Cys135	11.53	Glu137	-69.64
Ser138	-1.13	Lys139	74.32
Tyr214	-78.13	Glu142	-68.78
Phe28	-15.36	Ser144	-5.75
Gln35	3.09	Met213	-6.37
Trp100	15.71	Ser215	-4.96
Val104	29.98	Thr216	-2.17

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.10. Energía de afinidad en el complejo POG-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de POG-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de  $-603.124 \pm 121.304$  kJ/mol esta es una energía bastante favorable, aunque no tan alta como CDM, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (91).

**Tabla 3.89:**

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo POG-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

POG-GLP – 1R		
<b>Energía de van der Waals</b>	-121.779	+/- 27.677 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	- 515.083	+/- 140.823 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	189.736	+/- 71.953 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-139.125	+/- 44.332 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-603.124	+/- 121.304 kJ/mol

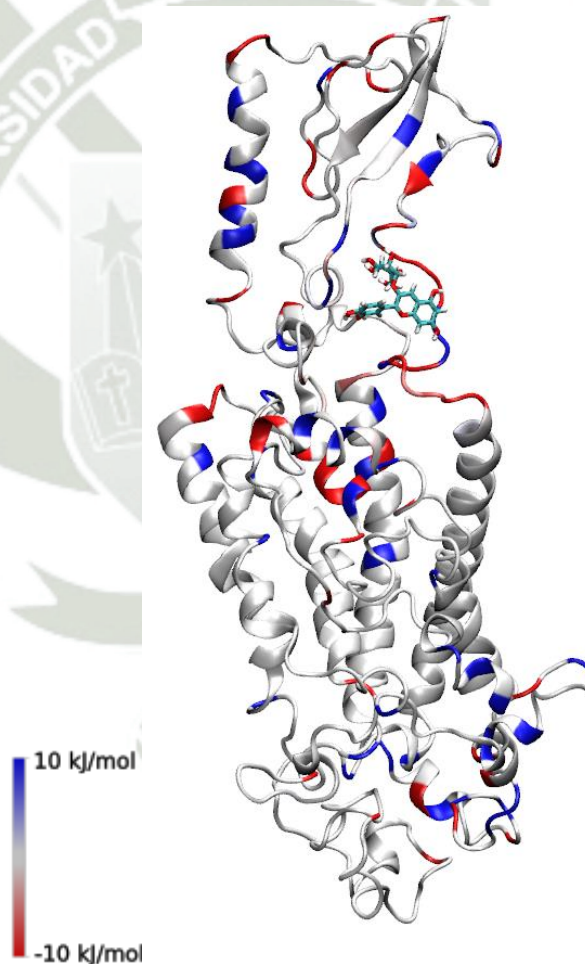
**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo POG-GLP – 1R y se logró apreciar como el metabolito mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada

residuo que participa en la interacción con PMG ha sido representado con método de dibujo Beta para visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (91).

**Figura 3.78:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción POG-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interaccionan entre el complejo POG-GLP – 1R, siendo estos 13 residuos interaccionantes con POG, de este número total de 13 residuos solo 2 residuos forman enlaces de hidrogeno (Pro105, Gln106). Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo 8 residuos los que presentan energías positivas, pero siendo estas en su mayoría pequeñas (91).

**Tabla 3.90:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción POG-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

POG-GLP – 1R			
Pro105	-2.91	Cys135	3.92
Gln106	12.83	Glu136	-50.04
Pro31	0.83	Glu137	-67.55
Ser103	1.40	Ser138	-11.91
Val104	14.26	Lys139	25.91
Ser133	2.50	Arg140	41.34
Glu134	-39.99		

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.11. Energía de afinidad en el complejo GLP – 1-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de GLP – 1-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -873.449 +/- 134.278 kJ/mol, esta es una energía bastante favorable, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (92).

Tabla 3.91:

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo GLP – 1-GLP – 1R. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

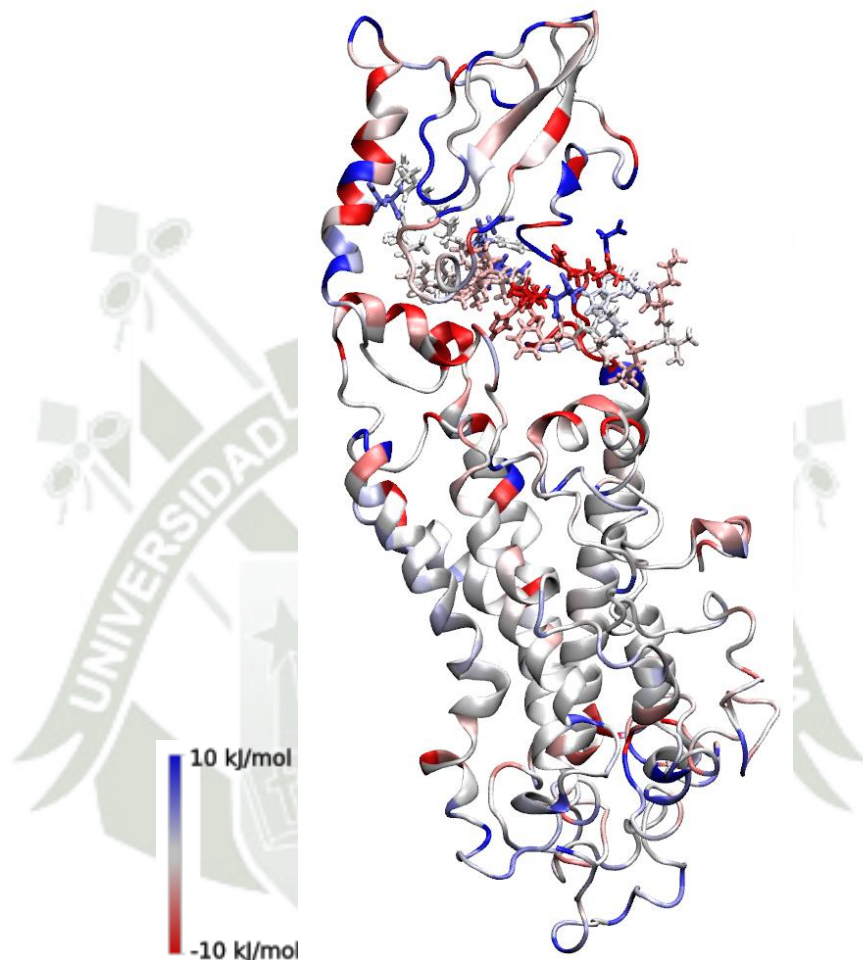
GLP – 1-GLP – 1R		
Energía de van der Waals	-389.636	+/- 34.751 kJ/mol
Energía electrostática	-811.719	+/- 199.024 kJ/mol
Energía de solvatación polar	896.717	+/- 93.977 kJ/mol
Energía SAV	-507.776	+/- 81.740 kJ/mol
Energía de unión	-873.449	+/- 134.278 kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo GLP – 1-GLP – 1R y se logró apreciar como el ligando mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con GLP – 1 ha sido representado con método de dibujo Beta, los residuos del ligando están representados con el método de dibujo Licorice para observar los átomos que tienen contactos con el receptor, de esta forma se puede visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (92).

**Figura 3.79:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción GLP – 1-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo GLP – 1-GLP – 1R, siendo estos 26 residuos interaccionantes con GLP – 1, de este número total de 26 residuos solo 10 residuos forman enlaces de hidrógeno (Gln35, Arg52, Glu77, Trp100, Gln106, Arg130, Glu134, Cys135, Ser144, Gln220) y solo 3 residuos (Arg52, Arg130, Glu134) forman puentes de sal. Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 8 residuos los que presentan energías positivas (92).

Tabla 3.92:

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción GLP – 1-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

GLP – 1-GLP – 1R			
Gln35	-18.00	Cys94	-0.17
Arg52	-143.76	Leu98	-2.33
Glu77	91.81	Ala101	1.51
Trp100	2.18	Glu136	63.08
Gln106	28.12	Glu137	-30.20
Arg130	-106.72	Lys139	-47.75
Glu134	-17.52	Arg143	-14.15
Cys135	22.33	Ser145	-14.67
Ser144	-33.75	Tyr214	-4.08
Gln220	-62.07	Thr216	-56.32
Pro31	-6.95	Gly386	-6.46
Asp76	95.11	Arg389	-18.77
Tyr78	24.05	Phe390	-51.76

**Fuente: Elaboración propia**

### 3.10.12. Energía de afinidad en el complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R

Después de someter nuestras estructuras a un análisis de MM/PBSA, para la interacción de GLP – 1 Amida-GLP – 1R se obtuvo una energía de unión de -1534.886 +/- 151.373 kJ/mol, esta es la energía más alta de las hormonas y también de los flavonoides, esta energía nos da indicios de una unión espontánea. Si profundizamos en las energías que se observa, las energías electrostáticas son más negativas que las energías de van der Waals (92).

Tabla 3.93:

**Energía de unión (kJ/mol) de la interacción del complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R.****Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

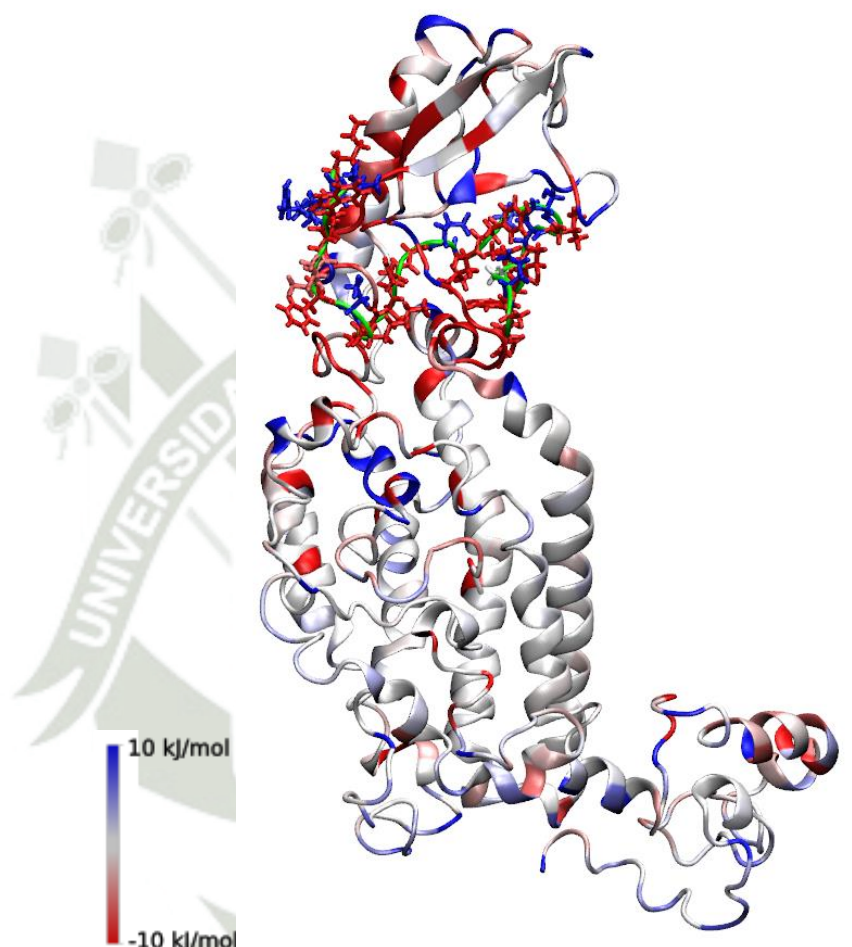
<b>GLP – 1 Amida-GLP – 1R</b>		
<b>Energía de van der Waals</b>	-657.006	+/- 33.862 kJ/mol
<b>Energía electrostática</b>	-1327.550	+/- 180.210 kJ/mol
<b>Energía de solvatación polar</b>	1284.596	+/- 82.664 kJ/mol
<b>Energía SAV</b>	-750.746	+/- 74.159 kJ/mol
<b>Energía de unión</b>	-1534.886	+/- 151.373 kJ/mol

**Fuente: Elaboración propia**

Se visualizo la película de la DM del complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R y se logró apreciar como el ligando mantiene su interacción con el receptor de manera estable. Cada residuo que participa en la interacción con GLP – 1 Amida ha sido representado con método de dibujo Beta, los residuos del ligando están representados con el método de dibujo Licorice para observar los átomos que tienen contactos con el receptor, de esta forma se puede visualizar mejor la estructura química de los residuos. A cada residuo se le calculó su energía MM/PBSA y este se representa por una escala de colores que va desde rojo (-10 kJ/mol) hasta azul (10 kJ/mol). Mientras más tonalidades rojas se vean en la representación, es signo de más energías negativas entre los residuos, la que indica una mayor energía de unión. En la estructura se visualiza muchas tonalidades rojas lo que corresponde a que las interacciones son altamente favorables (92).

**Figura 3.80:**

**Visualización de la contribución de energía de cada residuo en la interacción GLP – 1 Amida-GLP – 1R en una escala de colores que va desde 10 a -10 kJ/mol según el valor de las energías.**



**Fuente: Elaboración propia**

Con LigPlot se obtuvo los residuos que interactúan entre el complejo GLP – 1 Amida-GLP – 1R, siendo estos 32 residuos interaccionantes con GLP – 1 Amida, de este número total de 32 residuos solo 13 residuos forman enlaces de hidrógeno (Gln29, Gly30, Gln35, Gln106, Pro128, Arg130, Glu134, Cys135, Glu136, Gly141, Glu142, Ser144, Gln220) y solo 3 residuos (arg130, glu136, glu142) forman enlaces de puentes de sal. Las energías del total de residuos son variantes, pero predominan las energías negativas siendo solo 10 residuos los que presentan energías positivas (92).

**Tabla 3.93:**

**Residuos que han tenido algún contacto en la interacción GLP – 1 Amida-GLP – 1R, las energías en kJ/mol se encuentran al costado de cada residuo y resaltados en azul son los que formaron un enlace de hidrógeno. Brindado por la herramienta MM/PBSA.**

<b>GLP – 1 Amida-GLP – 1R</b>			
Gln29	-82.53	Tyr78	64.66
Gly30	-33.03	Pro95	18.40
Gln35	-17.32	Tpr96	-45.22
Gln106	-87.96	Leu98	0.99
Pro128	14.77	Trp100	-21.43
Arg130	-203.94	Ala101	-4.97
Glu134	-8.60	Val104	28.27
Cys135	15.63	Pro105	-116.04
Glu136	-30.30	Gly107	-62.00
Gly141	-23.22	His108	-69.06
Glu142	-106.31	Leu127	29.04
Ser144	-22.64	Glu137	24.12
Gln220	-51.23	Lus139	-48.14
Phe28	-30.98	Tyr214	-49.03
Pro31	-24.69	Ser215	5.56
Asp76	109.53	Ala217	-42.58

**Fuente: Elaboración propia**

## CONCLUSIONES

- Se obtuvo la estructura terciaria de cada proteína de la base de datos Protein Data Bank, GLP – 1 presenta una secuencia aminoacídica de 31 residuos, en su estructura secundaria tiene una hélice  $\alpha$ , dos giros  $\beta$ , un giro  $\gamma$ , en el diagrama de ramachandran presente un 96.2% en la región más favorecida, con ese porcentaje llega a ser una estructura de buena calidad. GLP – 1 Amida presenta una secuencia aminoacídica de 30 residuos, en su estructura secundaria tiene dos hélices  $\alpha$ , una interacción helice-helice, cuatro giros  $\beta$  y un giro  $\gamma$ , en el diagrama de ramachandran presenta un 64.0% en la región más favorecida, por lo que con ese porcentaje no llegó a ser una estructura de buena calidad. Por último, GLP – 1R, presenta una secuencia aminoacídica de 491 residuos, en su estructura secundaria tiene veintinueve hélices  $\alpha$ , treinta y siete interacciones helice-helice, cuarenta y dos giros  $\beta$ , ocho giros  $\gamma$ , cinco  $\beta$  strands, dos  $\beta$  sheets y cuatro puentes disulfuro, en el diagrama de ramachandran presenta un 83.2% en la región más favorecida, por lo que con ese porcentaje no llegó a ser una estructura de buena calidad. Se obtuvo los metabolitos secundarios del maíz morado mencionados en Mazewski, Liang, & Gonzalez de Mejia, 2017 (81), Paulsmeyer, M., Chatham, L., Becker, T., West, M., West, L., & Juvik, J, 2017 (82), y Ramirez, LB; Salcedo, HER; Aulis, MFF; Lopez, MAR; Ocana, AN; Radillo, 2018 (83). Para la obtención de sus estructuras en formato .pdb se utilizó para graficarlos la herramienta GaussView.
- Cuando se realizó la minimización se observó una mayor estabilidad estructural debido al acomodamiento de los átomos de cada una de las proteínas, como lo son GLP – 1, GLP – 1 Amida y GLP – 1R, este efecto de la optimización se reflejó debido a que no se encontraron Bad Contacts entre los átomos de las proteínas. La estructura de GLP – 1 presenta un RMSD de 0.573 Å con respecto a la estructura obtenida en el Protein Data Bank por lo que se concluye que son estructuras muy estables, en el análisis del diagrama de ramachandran, la estructura presentó un 96% en las regiones más favorecidas. La estructura de GLP – 1 Amida presenta un RMSD de 0.741 Å con respecto a la estructura obtenida en el Protein Data Bank por lo que se concluye que son estructuras muy estables, en el análisis del diagrama de ramachandran, la estructura presentó un 84% en las regiones más favorecidas, por lo que la minimización mejora el porcentaje. La estructura de GLP – 1R presenta un RMSD de 1.285 Å con respecto a la estructura obtenida en el Protein Data Bank por lo que se concluye que son estructuras muy estables, en el análisis del diagrama de ramachandran, la estructura presentó un 78.5% en las regiones más favorecidas por lo que con ese porcentaje no llegó a ser una estructura de buena calidad
- La preparación de cada metabolito secundario del maíz morado para su acoplamiento y posterior dinámica molecular inició al obtener la topología en el servidor LigParGen con el cual se

reparametrizo el campo de fuerza OPLSAA de GROMACS, seguidamente mediante el programa Gaussian y una serie de funcionales se obtuvieron las cargas de Hirshfeld con las cuales los metabolitos están listos para el acoplamiento y posterior dinámica molecular.

- Se realizó la DM a 100ns para la estabilización de cada una de las proteínas existiendo un cambio en la estructura secundaria de estas, en GLP – 1 se originaron dos hélices  $\alpha$ , una interacción hélice – hélice, seis giros  $\beta$  y un giro  $\gamma$ , para GLP – 1 Amida se originaron dos hélices  $\alpha$ , cinco giros  $\beta$  y un giro  $\gamma$ , por último, para GLP – 1R se originaron veintiocho hélices  $\alpha$ , veintiséis interacciones hélice – hélice, cuatro puentes disulfuro, setenta y ocho giros  $\beta$ , siete giros  $\gamma$  y una hoja  $\beta$ . Después de la DM se obtuvo un equilibrio estructural para cada una de las proteínas, esto se ve reflejado en sus análisis de RMSF, Radio de Giro y por último RMSD, en el cual para GLP – 1, GLP – 1 Amida y GLP – 1R tienen un promedio de 0.63, 0.57 y 0.41 nm respectivamente.
- Para realizar el acoplamiento molecular se utilizó la herramienta AutoDock Vina, se escogieron las mejores estructuras brindadas las cuales presentaban la mejor energía de unión para que se dé una interacción favorable en la unión ligando-proteína, se realizó 1000 simulaciones de acoplamiento para cada ligando. Además, todos los complejos presentaron un número elevado de enlaces de hidrogeno, puentes de sal y contactos hidrofóbicos entre los complejos de las estructuras cuaternarias.
- Después de realizar la dinámica molecular a 100 ns de las estructuras cuaternarias se concluyó que el complejo ligando-proteína en su mayoría mostro estabilidad de unión, al hacer un análisis de los contactos después de la simulación de dinámica molecular, el metabolito secundario CDM fue uno de los que presentaron mayores contactos hidrofóbicos así también como enlaces de hidrogeno, en el caso de las hormonas GLP – 1 y GLP – 1 Amida, se observó que GLP – 1 Amida presento muchos más contactos por la proteína diana a comparación de GLP – 1.
- Los análisis MM/PBSA mostraron que en la gran mayoría de estructuras cuaternarias se presentaron energías favorables, siendo el metabolito secundario con mejor energía de unión Cianidina-3-O(3,6-O-dimalonilglucosido) – CDM, con una energía de -900.330 kJ/mol, en comparación, para las hormonas GLP – 1 y GLP – 1 Amida que presentaron energías de -873.449 kJ/mol y -1534.886 kJ/mol respectivamente, por lo anterior se puede concluir que CDM tiene una mejor interacción y una mejor energía de unión con GLP – 1R que la hormona GLP – 1, pero es menor a GLP – 1 Amida,
- Se puede concluir del siguiente trabajo que 8 de los 10 metabolitos secundarios del maíz morado presentan un potencial antidiabético, siendo el mejor CDM debido a las interacciones que presenta, como lo son los contactos hidrofóbicos, puentes de hidrogeno y también a la energía de unión

favorable calculada con MM/PBSA, superando a GLP – 1. Estos metabolitos secundarios presentan aptitudes para ser usados como análogos de GLP – 1.



## RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar una investigación experimental para la corroboración de los resultados obtenidos en este trabajo, pudiendo utilizarse para la obtención de flavonoides presentes en el maíz morado la técnica de extracción acuosa o etanolica, siguiendo por una dilución y su posterior lectura de absorbancia a una longitud de 510 a 700nm. La evaluación en la interacción con GLP – 1R se daría en un estudio in vivo de ratones db/db, a los cuales se les debería administrar flavonoides del maíz morado, haciendo una evaluación en un periodo de tiempo con las pruebas de medición de glucosa e insulina en sangre con el equipo Accu-check Active de Roche y un kit ELISA de insulina de ratón respectivamente.
- Los resultados y conclusiones de este trabajo de investigación teórica son para realizar una evaluación en la interacción de GLP – 1 con su receptor intermenbranal, además de la interacción de metabolitos del maíz morado con el receptor intermenbranal de GLP – 1, para luego hacer una comparación en su energía de unión.
- Para la obtención de resultados más característicos de la interacción de GLP – 1 con GLP – 1R y metabolitos secundarios con GLP – 1R, se recomienda aumentar el tiempo de las dinámicas molecular de estos complejos hasta 500ns.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ling Su , Chuanxin Xin , Jintao Yang , Liran Dong , Heriban Mei , Xiaojing Dai , et al. A polysaccharide from *Inonotus obliquus* ameliorates intestinal barrier dysfunction in mice with type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022 Agosto; 214: 312-323. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.071> Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813022012752>.
2. Dos Santos A, da Silva Paiva L, Werneck de Carvalho LE, Affonso Fonseca FL, do Nascimento VB, Correa JA, et al. Mortality for type 2 diabetes mellitus in the state of São Paulo, Brazil, from 2008 to 2017. *Diabetes Epidemiology and Management*. 2022 Abril-Junio; 6(100067): Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.deman.2022.100067>.
3. Villena JE. Diabetes Mellitus in Peru. *Annals of Global Health*. 2016; 81(6): 765-775. Disponible en <http://doi.org/10.1016/j.aogh.2015.12.018>.
4. liying he , Fang-Qing Yang , Pan Tang , Ting-Hui Gao , Cai-Xia Yang , Li Tan , et al. Regulation of the intestinal flora: A potential mechanism of natural medicines in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022 Julio; 151(113091): Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113091>.
5. Berra C, R.Manfrini , D.Regazzoli , M.G.Radaelli , O.Disoteo , C.Sommese , et al. Blood pressure control in type 2 diabetes mellitus with arterial hypertension. The important ancillary role of SGLT2-inhibitors and GLP1-receptor agonists. *Pharmacological Research*. 2020 Octubre; 160(105052): Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105052>.
6. M.K.Unnikrishnan , Veeresh Veerapur , Yogendra Nayak , Piya Paul Mudgal , Geetha Mathew. Chapter 13 - Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of the Flavonoids. *Polyphenols in Human Health and Disease*. 2014; 1: 143-161. Disponible en <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00013-X>.
7. Díaz-García A, Salvá-Ruíz B, Bautista-Cruz N, Condezo-Hoyos L. Optimization of a natural low-calorie antioxidant tea prepared from purple corn (*Zea mays* L.) cobs and stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.). *LWT*. 2021 Octubre; 150(111952): Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111952>.
8. Almaguer-Herrera A , Miguel-Soca P , Reynaldo-Será C , Mariño-Soler A , Oliveros-Guerra R. Actualización sobre diabetes mellitus. *Correo Científico Médico*. 2012; 16(2): Disponible en <https://revcocmed.sld.cu/index.php/cocmed/article/view/507>.

9. Conget I. Diagnosis, classification and pathogenesis of diabetes mellitus. *Revista Española de Cardiología*. 2002; 55(5): 528-535. Disponible en <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300893202766463>.
10. Organización Mundial de la Salud. Diabetes. 2022 Septiembre; Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.
11. Rojas de P Elizabeth , Molina Rusty, Rodríguez Cruz. Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 2012; 10. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375540232003>.
12. Bueno, A. A. , De La Torre, C. A , Herrera, Q. G. , Reyes, J. V , Martínez, F. A. Factores que determinan una alimentación inadecuada en el paciente diabético tipo II en Mexicali. *Revista de Divulgación Científica*. 2021 Diciembre; 10(23): 10-13. Disponible en [http://www.xochicalco.edu.mx/galeria/dc/revistas/Divulgacion\\_Cientifica\\_23.pdf](http://www.xochicalco.edu.mx/galeria/dc/revistas/Divulgacion_Cientifica_23.pdf).
13. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*. 2009; 32(1): S62-S67. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2613584/>.
14. Yang, F. Q , Tang, P. , Gao, T. H , Yang, C. X , Tan, L , Yue, P. , et al. Regulation of the intestinal flora: A potential mechanism of natural medicines in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022 Julio; 151(113091): Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113091>.
15. Juan F. Ascaso. Type 2 diabetes mellitus: New treatments. *Medicina Clínica*. 2014 Agosto; 143(3): 117-123. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.05.041>.
16. L. Moreno-Altamirano , J.J. García-García , G. Soto-Estrada , S. Capraro , D. Limón-Cruz. Epidemiology and social determinants associated with obesity and type 2 diabetes in Mexico. *Revista Médica Del Hospital General De México*. 2014 Julio-Septiembre; 77(3): 114-123. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.hgmx.2014.07.002>.
17. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2016; 39(1): 13-22. Disponible en <https://diabetes.org/diabetes/a1c/diagnosis>.
18. Naya, L. D , Álvarez, E. D. Diabetes mellitus. Criterios diagnósticos y clasificación. *Epidemiología. Etiopatogenia. Evaluación inicial del paciente con diabetes. Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2016 Septiembre; 12(17): 935-946. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.med.2016.09.001>.

19. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles 2014. 2015;: Disponible en [http://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1212/Libro.pdf](http://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1212/Libro.pdf).
20. N Seclen , ME Rosas , AJ Arias. prevalencia de diabetes y glucosa alterada en ayunas en Perú: informe de PERUDIAB, un estudio longitudinal nacional basado en población urbana. BMJ Open Diabetes Res Care. 2015; 3: e000110. Disponible en <https://drc.bmj.com/content/3/1/e000110.short>.
21. Gil-Velázquez L. E , Sil-Acosta M. J , Domínguez-Sánchez E. R , Torres-Arreola L. D , Medina-Chávez J. H. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social. 2013; 51(1): 1-16. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745487015>.
22. Kok-HouLok , Nicholas J. Wareham , Rajesh Sreedharan Nair , Chee Wun How , Lay-Hong Chuaha. Revisiting the concept of incretin and enteroendocrine L-cells as type 2 diabetes mellitus treatment. Pharmacological Research. 2022 Junio; 180(106237): Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106237>.
23. RashmiSaini , Sachin L.Badole. Bioactive Compounds Increase Incretins with Beneficial Effects on Diabetes. Glucose Intake and Utilization in Pre-Diabetes and Diabetes. 2015; 2: 349-353. Disponible en <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800093-9.00028-4>.
24. Laurie L.Baggio , Daniel J.Drucker. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology. 2007 Mayo; 132(6): 2131-2157. Disponible en <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.054>.
25. G.Ruozi , F.Bortolotti , F.A.Recchia. Gut-Derived Hormones—Cardiac Effects of Ghrelin and Glucagon-Like Peptide-1. Endocrinology of the Heart in Health and Disease. 2017;: 139-166. Disponible en <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803111-7.00006-3>.
26. Luconi M, Mannucci E, Cantini G. Perspectives in GLP-1 Research: New Targets, New Receptors. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2016 Junio; 27(6): 427-438. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.03.017>.
27. E.Doyle M, M.Egan. Mechanisms of action of glucagon-like peptide 1 in the pancrea. Pharmacology & Therapeutics. 2007 Marzo; 113(3): 546-593. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.11.007>.
28. Duran, A. L. C , Medina, M. F. D , Valdivieso, M. R. A , Dunn, M. A. E , Torres, W. P. R , Barrera, L. N. A , et al. Terapia incretinomimética: evidencia clínica de la eficacia de los agonistas del GLP-

- 1R y sus efectos cardio-protectores. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*. 2018; 13(4): 400-415. Disponible en <https://www.redalyc.org/journal/1702/170263336018/html/>.
29. Requis Varillas, F. V. anejo agronómico del maíz morado en los valles interandinos del Perú. Instituto Nacional de Innovación Agraria. 2012; Disponible en [http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/151/1/Maiz\\_morado\\_valles\\_2012.pdf](http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/151/1/Maiz_morado_valles_2012.pdf).
30. Zhang, Q , de Mejia, E. G , Luna-Vital, D , Tao, T. , Chandrasekaran, S , Chatham, L , et al. Relationship of phenolic composition of selected purple maize (*Zea mays* L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. *Food Chemistry*. 2019; 289: 739-750. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.116>.
31. Ferron, L , Colombo, R , Mannucci, B. , Papetti, A. A new italian purple corn variety (Moradyn) byproduct extract: antiglycative and hypoglycemic in vitro activities and preliminary bioaccessibility studies. *Molecules*. 2020; 25(8): 1958. Disponible en <https://doi.org/10.3390/molecules25081958>.
32. Medina-Hoyos, A. , Narro-León, L. A , Chávez-Cabrera, A. cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) en zona altoandina de Perú: Adaptación e identificación de cultivares de alto rendimiento y contenido de antocianina. *Scientia Agropecuaria*. 2020; 11(3): 291-299. Disponible en <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.01>.
33. Wishart, D. S , Tzur, D , Knox, C , Eisner, R , Guo, A , Young, N , et al. HMDB: la base de datos del metaboloma humano. *Investigación de ácidos nucleicos*. 2007; 35(1): 521-526. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17202168/>.
34. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. 2022; Disponible en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23724697>.
35. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. 2022; Disponible en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cyanidin-3-O-glucoside>.
36. Mendoza Wilson AM. Estudio Computacional del Mecanismo Antioxidante de los Flavonoides Quercetina, Catequina y Cianidina. Basado en su Secuencia de Desprotonacion. Tesis Doctoral. Chihuahua: Centro de Investigacion en Materiales Avanzados; 2006. Report No.: |.
37. PubChem. Representación de la Peonidina-3-O-glucósido en su forma esquelética y tridimensional. [Online].; 2023. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
38. Wishart DS , Knox C , Guo AC. A Knowledgebase for the Human Metabolome. *Nucleic Acids Research*. 2009 37;: 603-610. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18953024/>.

39. Centro Nacional de Información Biotecnológica. Resumen de compuestos de PubChem. ; Disponible en [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pelargonidin-3-O-\\_6-O-malonyl-beta-D-glucoside](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pelargonidin-3-O-_6-O-malonyl-beta-D-glucoside).
40. Wishart DS , Jewison T , Guo AC , Wilson M , Knox C. The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic Acids Research*. 2013. 2013 Enero; 41: 801-807.
41. Biotecnológica CNdI. Resumen de compuestos de PubChem. ; Disponible en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peonidin-3-glucoside>.
42. Hong SH , Heo JI , Kim JH , Kwon SO , Yeo KM , Bakowska-Barczak AM , et al. Antidiabetic and Beta cell-protection activities of purple corn anthocyanins.: *Biomol Ther* ; 2013.
43. Martí, M. A. Simulación computacional de biomoléculas. un punto de encuentro entre la físico-química y la biología computacional. *Anales Acad. Nac. de Cs. Ex., Fís. y Nat.* 2013; 65: 43-49. Disponible en [https://www.ancefn.org.ar/user/FILES/ANALES/TOMO\\_65/17.pdf](https://www.ancefn.org.ar/user/FILES/ANALES/TOMO_65/17.pdf).
44. Guillén, M. V. L. Estructura y propiedades de las proteínas. *Bioquímica Médica*. 2009;: 1-34. Disponible en <http://www.uv.es>: [http://www.uv.es/tunon/pdf\\_doc/proteinas\\_09.pdf](http://www.uv.es/tunon/pdf_doc/proteinas_09.pdf).
45. Nelson DLCMM. *Lehninger Principles of Biochemistry*. H Freeman and Company. 2013; 6: 226-228.
46. H.M. Berman , J. Westbrook , Z. Feng , G. Gilliland , T.N. Bhat , H. Weissig , et al. The Protein Data Bank *Nucleic. Acids Research*. 2000.
47. Schrödinger, L. , DeLano, W.. PyMOL. ; <http://www.pymol.org/pymol>.
48. Humphrey, W. , Dalke, A. , Schulten, K.. *Journal of Molecular Graphics*. 1996; 14: 33-38.
49. Pettersen, E. F. , Goddard, T. D. , Huang, C. C. , Couch, G. S. , Greenblatt, D. M. , Meng, E. C. , et al. *Journal of Computational Chemistry*. 2004; 25: 1605-1612.
50. Johansson, M. U , Zoete, V , Michielin, O , Guex, N.. *BMC bioinformatics*. 2012; 13: 1-11.
51. Jmol. An open source Java viewer for 3D chemical structures. <http://www.jmol.org/> .
52. Sayle, R. A , Milner-White, E. J.. *Trends in biochemical sciences*. 1995; 20: 374-376.
53. Sebastián Yagüe, Á. , Pascual-García, A , Abascal, F. , Aguirre, J. , Bajic, D. , Baú,D. , et al. *Bioinformática con Ñ v1. 0*: a collaborative project of young Spanish scientists. 2014;: 206.
54. Sebastián Yagüe, Á , Pascual-García, A , Abascal, F. , Aguirre, J , Bajic, D. , Baú,D , et al. In *Bioinformática con Ñ v1. 0*: a collaborative project of young Spanish scientists. 2014;: 425-442.

55. Chandler, D.. Mechanics. Oxford University Press, Oxford. 1987; 40.
56. Lushington, G. H. In Molecular Modeling of Proteins. Springer. 2015;: 3-26.
57. Kuzmanic A, Zagrovic B. Determination of Ensemble-Average Pairwise Root Mean-Square Deviation from Experimental B-Factors. Biophysical Journal. 2010 Marzo; 98(5): 861-871. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.11.011>.
58. Arumuganainar D, Kumar Yadalam , Alzahrani KJ, Alsharif KF, Alzahrani FM, Alshammeri S, et al. Inhibitory effect of lupeol, quercetin, and solasodine on *Rhizopus oryzae*: A molecular docking and dynamic simulation study. Journal of Infection and Public Health. 2023 Enero; 16(1): 117-124. Disponible en <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2022.12.006>.
59. Williams, D. H. , Stephens, E. , O'Brien, D. P. , Zhou, M.. Understanding noncovalent interactions: ligand binding energy and catalytic efficiency from ligand-induced reductions in motion within receptors and enzymes. Angewandte Chemie International. 2004 Diciembre; 43(48): 616. Disponible en <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15593167/>.
60. Sebastián Yagüe Á, Pascual-García A, Abascal F, Aguirre J, Bajic D, Baú D, et al. In Bioinformática con Ñ v1. 0: a collaborative project of young Spanish scientists to write a complete book about Bioinformatics. 2014;: 401-423.
61. Bank PD. Protein data bank. Nature New Biol. 1971; 233: 233.
62. Granchi, C. , Rizzolio, F. , Poli, G. , Tuccinardi, T.. Application of MM-PBSA methods in virtual screening.. Molecules. 2020; 25(8).
63. Kumari , Kumar R, Open Source Drug Discovery Consortium.. Lynn A. g\_mmpbsa—a GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. J. Chem. Inf. Model. 2014; 54(7): 1951-1962.
64. O'Leary, N. A.. Nucleic Acids Research. 2015; 44: D733-D745.
65. Berman, H. M. , Westbrook, J. , Feng, Z. , Gilliland, G. , Bhat, T. N. , Weissig, H. , et al. Nucleic Acids Research. 2000; 28: 235-242.
66. Kim, S. , Chen, J. , Cheng, T. , Gindulyte, A. , He, J. , He, S. , et al. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. Nucleic Acids Res. 2020 January; 49(D1): D1388-D1395.
67. Berendsen, H. , van der Spoel, D. , van Drunen, R.. Computer Physics Communications. 1995; 91: 43-56.

68. Van Der Spoel, D. , Lindahl, E. , Hess, B. , Groenhof, G. , Mark, A. E.. GROMACS: fast, flexible, and free. *Journal of computational chemistry*. 2005; 26(16): 1701-1718.
69. Pettersen, E. F. , Goddard, T. D. , Huang, C. C. , Couch, G. S. , Greenblatt, D. M. , Meng, E. C. , et al. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*. 2004; 25(13): 1605-1612.
70. Wallace AC, Laskowski RA, Thornton JM. LIGPLOT: a program to generate schematic diagrams of protein-ligand interactions. *Protein Engineering, Design and Selection*. 1995; 8(2): 127-134.
71. O'Boyle NM, Banck , Craig A J, Vandermeersch , Hutchison GR. Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*. 2011; 3(33).
72. J. Eberhardt , D. Santos-Martins , AF Tillack , S. Forli.. New docking methods, expanded force field, and Python bindings. *Journal of Chemical Modeling and Information*. 2021.
73. Miao , Feher VA, McCammon JA. Gaussian Accelerated Molecular Dynamics: Unconstrained Enhanced Sampling and Free Energy Calculation. *J. Chem. Theory Comput*. 2015; 11(8): 3584-3595.
74. Jorgensen, W. , Tirado-Rives, J.. Chemical theory and computation special feature: potential energy functions for atomic-level simulations of water and organic and biomolecular systems. In *Proceedings of the National Academy of Science*. 2005; 102(19): 6665-6670.
75. Dodda, L. S. , Vilseck, J. Z. , Tirado-Rives, J. , Jorgensen, W. L.. CM1A-LBCC: localized bond-charge corrected CM1A charges for condensed-phase simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2017; 121(15): 3864-3870.
76. Dodda, L. S. , Cabeza de Vaca, I. , Tirado-Rives, J. , Jorgensen, W. L.. LigParGen web server: an automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. *Nucleic acids research*. 2015; 45(W1): W331-W336.
77. Laskowski, R. A. , Jabłońska, J. , Pravda, L. , Vařeková, R. S. , Thornton, J. M.. PDBsum: Structural summaries of PDB entries. *Protein science*. 2018; 27(1): 129-134.
78. Yruela I, Sebastian A. *Macromoléculas biológicas: proteínas, DNA y RNA*. .
79. Mazewski, C. , Liang, K. , Gonzalez de Mejia, E.. Inhibitory potential of anthocyanin-rich purple and red corn extracts on human colorectal cancer cell proliferation in vitro. *Journal of Functional Foods*. 2017; 34: 254–265.

80. Paulsmeyer, M. , Chatham, L. , Becker, T. , West, M. , West, L. , Juvik, J.. Survey of Anthocyanin Composition and Concentration in Diverse Maize Germplasm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017; 65(21): 4341–4350.
81. Ramirez, LB. , Salcedo, HER. , Aulis, MFF. , Lopez, MAR. , Ocana, AN. , Radillo, J.. Anthocyanins from rose maize (*Zea mays* L.) grains. *Interciencia*. 2018; 43(3): 188-192.
82. Gonzalez Gomez DE. CÁLCULOS DE ENERGÍA LIBRE DE UNIÓN DE SISTEMAS ANFITRIÓN-HUÉSPED Y PROTEÍNA-LIGANDO UTILIZANDO CARGAS ATÓMICAS DERIVADAS DE LA DENSIDAD ELECTRÓNICA. Doctorado en Ciencias con Mención en Química. Concepcion: Universidad de Concepción, Facultad de Ciencias Químicas; 2022.
83. Kandt C, Ash WL, Tieleman. Setting up and running molecular dynamics simulations of membrane proteins. *Methods*. 2007; 41(4): 475-488.
84. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 2009; 31(2): 455-461.
85. Enrique-Relling, Alejandro; Pinos-Rodríguez, J Manuel; Mattioli, G Alberto. Un acercamiento a la relación de las hormonas gastrointestinales con el consumo de alimento en rumiantes. *Agrociencia*. 2011; 45(5): 561--572.
86. PDBsum. Estructura secundaria de GLP – 1 Amida, H representa las  $\alpha$  hélices,  $\gamma$  y  $\beta$  los giros respectivos.. [Online].; 2023. Available from: [https://bio.tools/pdbsum\\_generate](https://bio.tools/pdbsum_generate).
87. Protein Data Bank. Estructura de GLP – 1 Amida. [Online].; 2023. Available from: [https://bio.tools/pdbsum\\_generate](https://bio.tools/pdbsum_generate).
88. Ayqui Cueva, Flor Avelina. Determinación mediante simulación de dinámica molecular, de la influencia de la temperatura en la polcalcina PHL P 7 presente en maíz (*Zea mays*) respecto a su forma aislada e intercuante con la IGE: [Tesis para optar el título profesional de ingeniero biotecnólogo]; 2022.
89. Ravassa, Susana; Zudaire, Amaia; Díez, Javier. Glucagon-like peptide 1 and cardiac cell survival. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*. 2012; 59(9): 561--569.
90. O. Trott , AJ Olson. AutoDock Vina: mejora de la velocidad y precisión del acoplamiento con una nueva función de puntuación, optimización eficiente y subprocesos múltiples. *Journal of Computational Chemistry*. 2010; 31: 455-461.

91. Ravassa, Susana; Zudaire, Amaia; Díez, Javier. Glucagon-like peptide 1 and cardiac cell survival. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*. 2012; 59(9): 561--569.
92. Ravassa, Susana; Zudaire, Amaia; Díez, Javier. Glucagon-like peptide 1 and cardiac cell survival. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*. 2012; 59(9): 561--569.
93. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. 2023; Disponible en [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peonidin-3-\\_6\\_-malonyl-glucoside](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peonidin-3-_6_-malonyl-glucoside).
94. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary. 2022; Disponible en <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pelargonidin-3-glucoside>.



# ESTUDIO DE LA INTERACCION DEL RECEPTOR DE GLP – 1 CON LA GLP – 1 Y DIVERSOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN EL MAIZ MORADO MEDIANTE SIMULACION MOLECULAR

## INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

INDICE DE SIMILITUD

3%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1

[id.scribd.com](https://id.scribd.com)

Fuente de Internet

2%

2

Gómez Zaldívar Francisco Javier. "Análisis estructural de la proteína AKR1B1 para la identificación de dominios de interacción proteína-proteína", TESIUNAM, 2022

Publicación

1%

3

[hdl.handle.net](https://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

1%

4

[revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe](https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe)

Fuente de Internet

1%

5

Submitted to Escuela Politecnica Nacional

Trabajo del estudiante

1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado