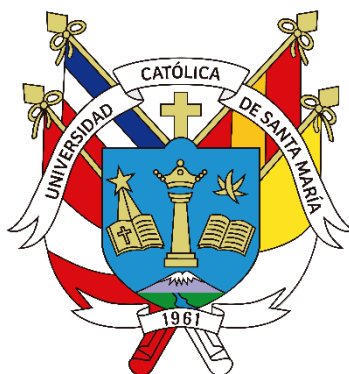


**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Medicina Humana**  
**Escuela Profesional de Medicina Humana**



**Identificación del potencial antidiabético de la *Minthostachys Mollis*  
(Muña) In Silico mediante la estimulación del GLP-1R por simulación  
de dinámica molecular**

Tesis presentada por la Bachiller:

**Demartini Lazo, Maria del Pilar Alejandra**

**ORCID: 0009-0004-6349-8245**

para optar el Título Profesional de Médico Cirujano

Asesor:

**Dr. Vargas Olivera, German Augusto**

**ORCID: 0000-0002-7511-0971**

Arequipa - Perú

2025

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**

**MEDICINA HUMANA**

**TITULACIÓN CON TESIS**

**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 16 de Octubre del 2024

**Dictamen: 011873-C-EPMH-2024**

Visto el borrador del expediente 011873, presentado por:

**2018700672 - DEMARTINI LAZO MARIA DEL PILAR ALEJANDRA**

Titulado:

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA MINTHOSTACHYS MOLLIS (MUÑA)  
IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

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

**MEDICO CIRUJANO**

**29389055 - DEL CASTILLO SOLORIZANO NOEMI  
DICTAMINADOR**



**29722452 - BARRIONUEVO POQUET ALEJANDRO  
DICTAMINADOR**



**29420612 - MANRIQUE SAM MARIA CECILIA  
DICTAMINADOR**



# Identificación del potencial antidiabético de la *Mintostachys Mollis* (Muña) In Silico mediante la estimulación del GLP-1R por simulación de dinámica molecular

## INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

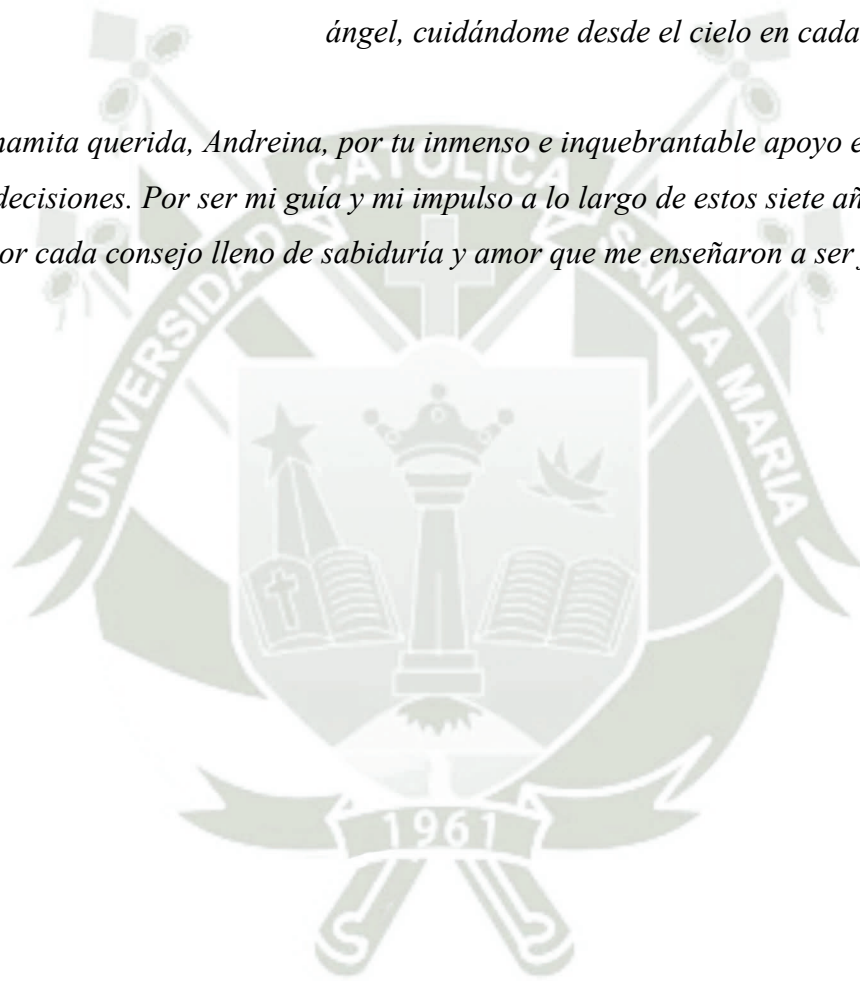
## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Católica de Santa María	Trabajo del estudiante	4%
2	<a href="https://tesis.ucsm.edu.pe">tesis.ucsm.edu.pe</a>	Fuente de Internet	1%
3	<a href="https://repositorio.ucsm.edu.pe">repositorio.ucsm.edu.pe</a>	Fuente de Internet	1%
4	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a>	Fuente de Internet	1%
5	<a href="https://idoc.pub">idoc.pub</a>	Fuente de Internet	1%
6	<a href="https://de.slideshare.net">de.slideshare.net</a>	Fuente de Internet	1%
7	<a href="https://accessmedicina.mhmedical.com">accessmedicina.mhmedical.com</a>	Fuente de Internet	<1%
8	<a href="https://zagan.unizar.es">zagan.unizar.es</a>	Fuente de Internet	<1%

## DEDICATORIA

*A mi Mamanina, fuiste mi inspiración y motivo para emprender este grandioso camino llamado Medicina, por enseñarme valores que siempre predicaste con el ejemplo y que a pesar de no haberte tenido físicamente durante mis años de estudio, siempre fuiste mi ángel, cuidándome desde el cielo en cada paso que doy.*

*A mi mamita querida, Andreina, por tu inmenso e inquebrantable apoyo en cada una de mis decisiones. Por ser mi guía y mi impulso a lo largo de estos siete años de carrera, por cada consejo lleno de sabiduría y amor que me enseñaron a ser fuerte y nunca rendirme.*



## AGRADECIMIENTO

*A Dios y a la Virgen María porque a través de mi fe encaminaron mi vida.  
A mis abuelitos Mamanina y Papisixto por ser mis angelitos guardianes desde el cielo.  
A mi mamá Andreina por su amor infinito y a mi papá Duilio que me apoyó siempre; en  
mi corazón queda guardado cada consejo y cada abrazo que me dió, ahora sé que  
desde el cielo me está cuidando, te extraño mucho papi...  
A mis hermanos Ana y Duilio por siempre estar ahí para mí, alentándome y siendo mi  
ejemplo a seguir.  
Al doctor Richar por ser mi mentor, motivándome siempre a cumplir mis sueños a lo  
largo de todos mis años de estudio.  
A mi padrino de carrera, Alonso, por cada uno de sus consejos que me han orientado  
en mi vocación.  
Al Dr. Badhin por enseñarme sobre Ingeniería Molecular y ampliar mi visión al mundo  
de la investigación en estudios in silico y a Sebastián quien me ayudó a culminar un  
objetivo muy importante para mí.  
A mi asesor, Dr. Germán Vargas y a mis dictaminadores Dra. Noemi del Castillo, Dra.  
Cecilia Manrique y Dr. Alejandro Barrionuevo por ser mis maestros y orientarme en la  
realización de esta tesis.  
A la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Católica de Santa María, donde  
inicié y desarrollé habilidades para ser médico.  
A la Clínica Arequipa, donde puse en práctica todos mis conocimientos, y aprendí de  
grandes médicos, de quienes me llevo valiosas enseñanzas que me acompañarán en mi  
futuro profesional.*

## RESUMEN

**Introducción:** La Diabetes Mellitus Tipo 2 es una enfermedad muy prevalente a nivel mundial, incluido el Perú, por lo que, es importante su diagnóstico y tratamiento. Entre los diversos esquemas terapéuticos que existen, se ha comprobado que el agonismo de la GLP-1R es eficaz. El GLP-1R es una proteína diana importante porque regula los niveles de glucosa en sangre, mediante la cascada metabólica que una vez activada libera calcio permitiendo que las células beta pancreáticas puedan producir insulina. Sin embargo, su sustrato fisiológico, el GLP-1, es rápidamente degradado por la DPP-4 impidiendo la activación del receptor y, consecuentemente, la cascada de reacciones. Por lo tanto, el presente estudio, tuvo como objetivo analizar la interacción entre posibles agonistas, como los fitoquímicos presentes en la *Minthostachys mollis* (Mentona, Carvacrol y Timol), y el GLP-1R, demostrando su acción hipoglucemiante mediante un análisis teórico-computacional.

**Materiales y Métodos:** Se realizó un estudio experimental in silico, en el que se obtuvo la estructura GLP-1R a partir de la base de datos Protein Data Bank, y a los compuestos moleculares: Timol, Carvacrol y Mentona de la base de datos PubChem. Dichas estructuras fueron optimizadas para formar el sistema proteína-ligando, con el cual se realizó la simulación de dinámica molecular utilizando el software GROMACS. Los resultados se analizaron mediante las gráficas RMSD (Root Mean Square Deviation), RMSF (Root Mean Square Fluctuation), radio de giro y Ramachandran. Finalmente, se calculó la energía de interacción entre los componentes del sistema, ligando y proteína.

**Resultados:** La proteína GLP-1R fue estabilizada durante una simulación de 200 ns, mientras que los complejos conformados por los ligandos: timol, carvacrol y mentona fueron estabilizados a lo largo de una trayectoria de 100 ns en un sistema isocórico, isotérmico e isobárico; logrando un equilibrio y evidenciando su afinidad de acuerdo con el lugar de acoplamiento que se obtuvo y a la energía de interacción calculada.

**Conclusión:** Tras validar los modelos estructurales, la variación conformacional y la energía generada por las interacciones moleculares entre los diferentes ligandos con el GLP-1R, se determinó un alto potencial antidiabético del Timol y la Mentona contribuyendo así al planteamiento de nuevos potenciales tratamientos para la DM2 con el uso de recursos naturales.

**Palabras claves:** Diabetes Mellitus tipo 2, Receptor del Péptido Similar al Glucagón Tipo 1, Dinámica Molecular.

## ABSTRACT

**Introduction:** Type 2 Diabetes Mellitus is a highly prevalent disease worldwide, including in Peru, underscoring the importance of its accurate diagnosis and effective treatment. Among the various therapeutic strategies available, GLP-1R agonism has been proven effective. GLP-1R is a critical protein target that regulates blood glucose levels through the activation of its metabolic pathway. This reaction cascade triggers calcium release into the beta pancreatic cells, enabling them to secrete insulin. However, its substrate, GLP-1, is inactivated by DPP-4, preventing receptor activation and, consequently, the downstream signaling. Therefore, the aim of this study was to analyze the interaction between potential agonists, such as the phytochemicals found in *Minthostachys mollis* (Menthone, Carvacrol, and Thymol), and GLP-1R, demonstrating their probable hypoglycemic activity through a theoretical-computational analysis.

**Materials and Methods:** An in silico experimental study was conducted to evaluate the interaction between GLP-1R and selected molecular compounds. The GLP-1R structure was retrieved from the Protein Data Bank, while the molecular structures of Thymol, Carvacrol, and Menthone were obtained from the PubChem database. These structures were optimized before assembling the protein-ligand system. Molecular dynamics simulations were performed using the GROMACS software package. The results were analyzed through Root Mean Square Deviation (RMSD), Root Mean Square Fluctuation (RMSF), radius of gyration, and Ramachandran plots. Finally, the interaction energy between the ligand and the receptor was calculated to evaluate their binding affinity.

**Results:** GLP-1R protein achieved stabilization during a 200 nanosecond (ns) simulation, while the ligand-receptor complexes (Thymol, Carvacrol, and Menthone) maintained stability throughout a 100 ns simulation under isochoric, isothermal, and isobaric conditions. The analysis demonstrated equilibrium and highlighted the affinity of each ligand based on their binding sites and calculated interaction energies.

**Conclusion:** Validation of structural models, conformational variations, and molecular interaction energies revealed that Thymol and Menthone exhibits significant antidiabetic potential due to its high affinity for GLP-1R and the formation of multiple stabilizing bonds with the receptor. These findings contribute to the development of novel therapeutic strategies for Type 2 Diabetes Mellitus with the use of natural sources.

**Keywords:** Type 2 Diabetes Mellitus, Glucagon-Like Peptide-1 Receptor, Molecular Dynamics

## ÍNDICE:

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN .....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....	4
1.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA .....	4
1.2 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	4
1.2.1 ÁREA DE INTERVENCIÓN DE CONOCIMIENTO .....	4
1.2.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES .....	4
1.2.3 INTERROGANTES BÁSICAS: .....	5
1.2.4 TIPO DE INVESTIGACIÓN .....	6
1.2.5 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN .....	6
1.2.6 NIVEL DE INVESTIGACIÓN .....	6
1.3 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA .....	6
1.3.1 JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA: .....	6
1.3.2 JUSTIFICACIÓN SOCIAL: .....	6
1.3.3 JUSTIFICACIÓN PERSONAL .....	7
1.3.4 JUSTIFICACIÓN CONTEMPORÁNEA .....	7
1.3.5 FACTIBILIDAD .....	7
2. OBJETIVOS .....	7
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	8
3. MARCO TEORICO .....	8
3.1 DIABETES MELLITUS TIPO 2 .....	8
3.1.1 DEFINICIÓN .....	8
3.1.2 EPIDEMIOLOGÍA .....	9
3.1.3 FACTORES DE RIESGO .....	9
3.1.4 FISIOPATOLOGÍA .....	11
3.1.5 CLÍNICA .....	15
3.1.6 DIAGNÓSTICO .....	19
3.1.7 TRATAMIENTO .....	20
3.2 PÉPTIDO SIMILAR AL GLUCAGÓN 1 (GLP-1) .....	22
3.3 RECEPTOR DEL PÉPTIDO SIMILAR AL GLUCAGÓN (GLP-1R) .....	23
3.4 <i>MINTHOSTACHYS</i> (MUÑA) .....	24
3.4.1 MENTHONE (MENTONA) - MTN .....	26
3.4.2 CARVACROL - CVC .....	27
3.4.3 THYMOL (TIMOL) - TML .....	27
3.5 BIOINFORMÁTICA .....	27

3.5.1	DEFINICIÓN .....	27
3.5.2	HERRAMIENTAS COMPUTACIONALES .....	27
3.5.3	DISEÑO, OBTENCIÓN Y MODELAMIENTO DE PROTEÍNAS .....	28
3.5.4	MECÁNICA Y DINÁMICA MOLECULARES .....	29
3.5.5	ACOPLAMIENTO PROTEÍNA-LIGANDO (DOCKING).....	30
4.	ANTECEDENTES .....	31
4.1	ANTECEDENTES GENERALES .....	31
4.2	ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS .....	32
5.	HIPÓTESIS .....	36
CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS.....		37
1.	TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN .....	38
1.1	TÉCNICAS: COMPONENTES DEL MÉTODO IN SILICO .....	38
1.2	INSTRUMENTOS.....	42
2.	CAMPO DE VERIFICACIÓN .....	42
2.1	ÁMBITO:.....	42
2.2	TEMPORALIDAD .....	42
2.3	UNIDADES DE ESTUDIO.....	42
2.4	CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	42
3.	ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....	43
3.1	ORGANIZACIÓN .....	43
3.2	RECURSOS .....	45
3.3	VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO .....	45
3.4	CRITERIOS ÉTICOS.....	46
CAPÍTULO III RESULTADOS.....		47
1.	OBTENCIÓN DE ESTRUCTURAS DE LAS BASES DE DATOS .....	48
1.1	GLP-1R.....	48
1.1	COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL PROVENIENTES DE <i>MINTHOSTACHYS MOLLIS</i> .....	50
2.	CONSTRUCCIÓN DEL COMPLEJO GLP1R- DPPC .....	51
3.	SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA MOLECULAR DEL COMPLEJO GLP1R-DPPC .....	52
4.	ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LIGANDOS NATURALES AL COMPLEJO FORMADO.....	57
5.	SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA MOLECULAR DE LOS COMPLEJOS GLP1R-DPPC Y LIGANDOS NATURALES .....	60
6.	ANÁLISIS DE INTERACCIÓN RECEPTOR-LIGANDO: .....	66
6.1	ENLACES FORMADOS: .....	66
6.2	CÁLCULO DE MM/PBSA (Molecular Mechanics Poison-Boltzmann Surface Area):....	67
6.3	RESULTADOS DE APBS: .....	68
CAPÍTULO IV DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		72
	DISCUSIÓN .....	73
	CONCLUSIONES .....	77
	RECOMENDACIONES .....	79
REFERENCIAS.....		80

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura A. Cascada de reacciones implicadas en la secreción de insulina en las células beta en condiciones fisiológicas (A) y condiciones patológicas (B) (29) .....	13
Figura B. Estructura de la preproinsulina humana (32).....	13
Figura C. Esquema de la estructura del gen de la insulina (32).....	14
Figura D. Clasificación de Wagner (43).....	19
Figura E. Vía metabólica de la secreción de insulina (51) .....	23
Figura F. Diagrama de Flujo del Proceso de Investigación .....	44
Figura 1. Estructura obtenida del Protein Data Bank con el código 7KI1, sombreado de morado tenemos a la GLP-1R, el resto comprende la GLP-1 y el complejo G .....	48
Figura 2. Proceso de construcción del complejo GLP1R-DPPC (a) Membrana dilatada; y, (b) Membrana comprimida .....	51
Figura 3. Sistema isocórico-isotérmico-isobárico estable después de una simulación de la dinámica molecular de la GLP-1R de 200 ns. ....	52
Figura 4. Gráfico de la desviación de la raíz media cuadrática de la posición de los átomos en nm del receptor GLP-1R durante 200 ns (81).....	53
Figura 5. Gráfico de la fluctuación de la raíz media cuadrática, en nanómetros, de cada uno de los residuos del receptor GLP-1R.....	54
Figura 6. Gráfico que explica la variación del radio de giro, en nanómetros, del receptor GLP-1R a lo largo de 200 ns de simulación.....	55
Figura 7. Gráfico de Ramachandran de la GLP-1R después de haber sido procesada. Residuos en regiones más favorecidas: 78.5%. Residuos en regiones permitidas adicionales: 19.7%. Residuos en regiones generosamente permitidas: 0.9%. Residuos en regiones no permitidas: 0.9%. Total de residuos: 100%..	56
Figura 8. Representación gráfica del acoplamiento molecular de los compuestos de origen natural (a) CVC, (b) TML y (c) MTN en la estructura del receptor GLP-1.....	58
Figura 9. Representación gráfica de la estructura resultante al término de la simulación de la dinámica molecular de los complejos (a) CVC-GLP1R-DPPC, (b) TML-GLP1R-DPPC y (c) MTN-GLP1R-DPPC .....	61
Figura 10. Gráfico de la desviación media cuadrática de la posición de los átomos en nanómetros de cada sistema formado con los respectivos ligandos a lo largo de 100 ns. Se muestra en anaranjado se muestra la curva de trayectoria del complejo formado por el ligando CVC; de celeste, por MTN; y de verde, por TML .....	63
Figura 11. Gráfico de la fluctuación media cuadrática de la posición de los residuos del receptor GLP-1 en nanómetros de cada sistema formado con los respectivos ligandos a lo largo de 200 ns. Se muestra en anaranjado se muestra la curva de trayectoria del complejo formado por el ligando CVC; de celeste, por MTN; y de verde, por TML. ....	64
Figura 12. Gráfico que dibuja la variación del radio de giro del receptor GLP-1 en nanómetros de cada sistema formado con los respectivos ligandos a lo largo de 200 ns. Se muestra en anaranjado se muestra la curva de trayectoria del complejo formado por el ligando CVC; de celeste, por MTN; y de verde, por TML .....	65
Figura 13. Representación de las interacciones entre ligandos naturales (a) CVC, (b) TML y (c) MTN y el receptor GLP-1, especificando los enlaces y contactos formados con ciertos residuos de la proteína. .	66
Figura 14. Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e de la GLP-1R antes de pasar por el proceso de simulación de la dinámica molecular del complejo Ligando-GLP1R-DPPC.....	68
Figura 15. Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e del complejo TML-GLP1R después de la simulación de la dinámica molecular. ....	69

Figura 16. Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e del complejo MTN-GLP1R después de la simulación de la dinámica molecular. .... 70

Figura 17. Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e del complejo CVC-GLP1R después de la simulación de la dinámica molecular. .... 71



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla A. Variables .....	4
Tabla B. Clasificación de la CAD.....	16
Tabla C. Composición de la muña.....	24
Tabla 1. Secuencia de Aminoácidos de GLP-1R.....	49
Tabla 2. Compuestos de Origen Natural provenientes de la <i>Minthostachys mollis</i> .....	50
Tabla 3. Energía de afinidad presente en la interacción proteína-ligando del mejor ensayo de cada complejo formado por los diferentes compuestos. ....	57
Tabla 4. Construcción de los sistemas isocóricos, isotérmicos e isobáricos de los complejos GLP1R-DPPC y los ligandos naturales.....	60
Tabla 5. Energía libre de unión de interacción proteína-ligando de los respectivos complejos formados. 67	



## INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2), es una enfermedad crónica que afecta mundialmente a adultos, adolescentes y niños, la cual está caracterizada por la resistencia periférica o por una deficiencia relativa de insulina.

A nivel mundial, la Federación Internacional de Diabetes estimó 537 millones de adultos con diabetes y pronosticó un aumento continuo hasta alcanzar los 783 millones para el 2045 (1). Así mismo, en el Perú, el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades (CDC Perú) del Ministerio de Salud (MINSA) notificó 9,586 casos de diabetes en el primer trimestre del 2022 correspondiendo a DM2 el 98% (2).

Los mecanismos fisiopatológicos de la DM2 son variados y complejos, se relacionan en muchos casos con el sobrepeso y la obesidad. Así mismo, el diagnóstico de la DM2 lleva tiempo, ya que los síntomas clásicos pasan desapercibidos en varias ocasiones; sin embargo, no diagnosticarlo trae consigo mayor riesgo de daño, disfunción y falla de órganos diana como el riñón, el corazón, los vasos sanguíneos, etc. (3)

Existen varias formas de tratamiento para la reducción de complicaciones, entre los principales medicamentos se encuentran las biguanidas (metformina), secretagogo de insulina (sulfonilurea), sensibilizadores de insulina (tiazolidinediona), inhibidores o moduladores de sodio-glucosa cotransportador 2 (SGLT2), inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4) y agonistas de GLP-1R (4,5). Entre todas las terapias, los agonistas de GLP-1R son una prometedora estrategia para el tratamiento de la diabetes.

El Péptido Similar al Glucagón tipo 1 (GLP-1) es una incretina que actúa estimulando al Receptor del Péptido Similar al Glucagón tipo 1 (GLP-1R), y así aumentando la secreción de insulina estimulada por glucosa en las células beta del páncreas e inhibiendo la liberación de glucagón de las células alfa con ello reduciendo la glucosa en sangre, además de otros efectos beneficiosos (6–8). No obstante, una de las limitaciones de la GLP-1 es su corta vida media en sangre por su rápida degradación de parte de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4). Esta limitación ha sido parcialmente resuelta con los análogos sintéticos de GLP-1. Sin embargo, las propiedades de estos péptidos como su estabilidad, su síntesis, así como su coste sigue siendo un desafío importante y por tanto su aplicación y uso masivo sigue siendo escasa, sin hablar de los efectos secundarios que traen consigo (7,9,10).

Una de las formas de descubrir y desarrollar nuevos tratamientos es a través del enfoque computacional o de simulación que se puede dar a través del uso de la bioinformática. Estos estudios evalúan las propiedades fisicoquímicas, termodinámicas, entre otras, de la

interacción entre cierto fármaco, metabolito o componente químico con un receptor, todo este proceso es factible hacerlo in silico, es decir, por simulaciones vía computadora que predicen interacciones moleculares de manera más rápida y eficiente que los métodos experimentales tradicionales (11,12).

Últimamente se ha estado investigando con este método sobre el uso de hierbas para el tratamiento de diversas enfermedades, ya que, en ellas se encuentran diversos componentes que pueden actuar como moduladores para mejorar ciertas patologías. En este caso, se ha demostrado en varios estudios que más de 200 especies de plantas medicinales tienen propiedades antidiabéticas de las cuales tan solo el 33% han sido científicamente estudiadas hasta ahora, los cuales podrían considerarse como una nueva forma terapéutica para normalizar la glucemia (13,14).

Es por ello, que en el presente trabajo de investigación se examinaron 3 monoterpenos de origen natural encontrados en la *Minthostachys mollis* (muña) como posibles análogos del GLP-1, analizando su interacción con el GLP-1R mediante el uso de herramientas computacionales que permiten analizar diversos parámetros que simulan la realidad para así poder determinar si tienen potencial como tratamiento hipoglucemiante, aumentando cada vez la investigación en este campo, con el fin de mejorar el manejo de la DM2 y propagar la medicina herbaria en el mundo.



**CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 ENUNCIADO DEL PROBLEMA

Identificación del potencial antidiabético de la *Minthostachys mollis* (muña) in silico mediante la estimulación del GLP-1R por simulación de dinámica molecular.

### 1.2 DESCRIPCION DEL PROBLEMA

#### 1.2.1 ÁREA DE INTERVENCIÓN DE CONOCIMIENTO

- a. **Área general:** Ciencias de la salud
- b. **Área específica:** Medicina Humana
- c. **Especialidad:** Ingeniería Biomédica Computacional
- d. **Línea:** Endocrinología

#### 1.2.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla A. Variables

Variables		Indicador	Unidad/Categoría	Escala
Fitoquímicos de la Muña	Timol (TML)	Presencia de compuesto (bibliográfico)	Residuos (molécula)	Cuantitativa discreta de razón
	Mentona (MTN)	Presencia de compuesto (bibliográfico)	Residuos (molécula)	Cuantitativa discreta de razón
	Carvacrol (CVC)	Presencia de compuesto (bibliográfico)	Residuos (molécula)	Cuantitativa discreta de razón
Metodología		Indicador	Unidad/Categoría	Escala
Simulación de dinámica molecular	Glucagon like peptide 1 receptor (GLP-1R)	Presencia de proteína	Residuos (aminoácidos)	Cuantitativa discreta de razón
	Número de moléculas	Presencia de moléculas	Átomos	Cuantitativa discreta de razón
	Volumen	Volumen de distribución	L/kg	Cuantitativa continua de razón
	Temperatura	Directo	Grados Celsius (C°)	Cuantitativa continua de intervalo
	Tiempo de optimización	Directo	Nanosegundos (ns)	Cuantitativa discreta de razón

<b>Análisis de las interacciones moleculares</b>	Desviación de la raíz media cuadrática	RMSD (root-mean-square deviation)	RMSD (nm)/tiempo (ps)	Cuantitativa continua de razón
	Fluctuación de la raíz media cuadrática	RMSF (root-mean square fluctuation)	RMSF (nm)/residuos (aminoácidos)	Cuantitativa continua de razón
	Radio de giro	Distancia del radio de giro	Radio de giro (nm)/tiempo (ps)	Cuantitativa continua de razón
	Sitios activos	Presencia de sitios activos	Número de sitios activos	Cuantitativa discreta
	Interacciones de Van-der-Waals	Energía atómica de contacto	kcal/mol -1 - kJ/mol-1	Cuantitativa continua de razón
	Número de residuos de la región favorita	Presencia de proteína	Residuos (aminoácidos)	Cuantitativa discreta
	Número de residuos de la región permitida	Presencia de proteína	Residuos (aminoácidos)	Cuantitativa discreta
	Número de residuos de la región atípica	Presencia de proteína	Residuos (aminoácidos)	Cuantitativa discreta
	Calidad general del modelo estructural	Directo	Z-score	Cuantitativa continua de intervalo

### 1.2.3 INTERROGANTES BÁSICAS:

- ¿Cuál es la capacidad estructural y estabilidad molecular del Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) tras la interacción con los compuestos de la *Minthostachys mollis* (Timol, Mentona y Carvacrol) mediante simulación de dinámica molecular?
- ¿El Timol presenta potencial antidiabético tras la interacción con el Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) analizando su naturaleza de interacción mediante simulación de dinámica molecular?
- ¿La Mentona presenta potencial antidiabético tras la interacción con el Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) analizando su naturaleza de interacción mediante simulación de dinámica molecular?

- d) ¿El Carvacrol presenta potencial antidiabético tras la interacción con el Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) analizando su naturaleza de interacción mediante simulación de dinámica molecular?
- e) ¿Cuál es la capacidad antidiabética de los fitoquímicos de la *Minthostachys mollis* (Timol, Mentona y Carvacrol)?

#### 1.2.4 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Investigación experimental

#### 1.2.5 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Experimental

#### 1.2.6 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Nivel experimental in silico exploratorio

### 1.3 JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

#### 1.3.1 JUSTIFICACIÓN CIENTÍFICA:

El GLP-1 es un reconocido tratamiento antidiabético, que actúa en el intestino en respuesta a la glucosa ingerida, aumentando la secreción de insulina en las células beta del páncreas (6). Además, retrasa el vaciamiento gástrico y con ello favorece la pérdida de peso (6,7,15). Es por todos estos beneficios, y otros más, por lo que buscar análogos del GLP-1R en recursos naturales como la *Minthostachys mollis* (muña) podría contribuir al tratamiento de la DM2, evitando los efectos adversos que traen consigo los fármacos sintéticos.

Actualmente, no se reportan muchas investigaciones teóricas acerca de un posible tratamiento antidiabético por parte de la “muña”; pero recientes estudios han analizado diversas plantas como una nueva estrategia para normalizar los niveles de glucosa en sangre. En este contexto, la presente investigación busca demostrar, mediante dinámica molecular, la capacidad hipoglucemiante de las sustancias bioactivas presentes en la “muña” para el manejo de la DM2.

#### 1.3.2 JUSTIFICACION SOCIAL:

Dentro de todos los tipos de diabetes, la DM2 es la más frecuente, con una prevalencia de 90 a 95%. Afecta a individuos de todo el mundo produciendo resistencia a la insulina. En el Perú, de todos los casos de diabetes reportados el 98% corresponde a DM2 (2,3). Ante su alta prevalencia, es fundamental

diagnosticarla y tratarla de manera temprana y efectiva para prevenir complicaciones graves. Por ello, encontrar un tratamiento natural que esté al alcance de la economía de los peruanos, como lo es la *Minthostachys mollis* (muña), podría ser clave para el control de esta enfermedad a largo plazo.

### 1.3.3 JUSTIFICACIÓN PERSONAL

Durante todos los años de carrera, he podido observar de cerca como las enfermedades crónicas afectan la calidad de vida de las personas, una de ellas es la Diabetes Mellitus Tipo 2, que, al ser tan prevalente en el Perú, considero que es de suma importancia encontrar tratamientos eficaces que estén al alcance de todos sin tantos efectos adversos como los que tienen los fármacos sintéticos. Además, pretendo promover la investigación en el campo de la bioinformática, estudiando compuestos naturales como la *Minthostachys mollis* (muña), una planta nativa de Sudamérica y oriunda del Perú, como posible solución a este problema de salud pública y para la innovación de nuevos agonistas del GLP-1R como tratamiento de la DM2.

### 1.3.4 JUSTIFICACIÓN CONTEMPORÁNEA

En la actualidad, los estudios in silico permiten analizar la estructura, función e interacción de moléculas, proporcionando modelos que predicen su comportamiento farmacocinético. Esto permite optimizar tratamientos y diseñar posibles fármacos para enfermedades complejas, como la Diabetes Mellitus Tipo 2, que aún sigue en investigación. Con ello, se podría llegar a obtener un tratamiento personalizado que se adapte a las necesidades específicas de cada paciente que enfrente esta enfermedad (16).

### 1.3.5 FACTIBILIDAD

Estudiar el potencial antidiabético de los fitoquímicos de la *Minthostachys mollis* (muña) a través de su interacción con el receptor de GLP-1 es posible mediante técnicas computacionales avanzadas de biología molecular.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

- Identificar el potencial antidiabético de los metabolitos de la *Minthostachys mollis* (muña) in silico mediante la estimulación del GLP-1R por simulación de dinámica molecular.

## 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la naturaleza de interacción entre el Timol con el Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) para determinar su potencial antidiabético mediante simulación molecular.
- Analizar la naturaleza de interacción entre la Mentona con el Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) para determinar su potencial antidiabético mediante simulación molecular.
- Analizar la naturaleza de interacción entre el Carvacrol con el Glucagon Like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) para determinar su potencial antidiabético mediante simulación molecular.
- Determinar la capacidad antidiabética del timol, mentona y carvacrol.

## 3. MARCO TEORICO

### 3.1 DIABETES MELLITUS TIPO 2

#### 3.1.1 DEFINICIÓN

La Diabetes es una de las enfermedades más antiguas conocidas por la humanidad, remontándonos hasta hace unos 3000 años en el que fue descrita por la cultura egipcia en un manuscrito; caracterizada por alterar la metabolización de carbohidratos, lípidos y proteínas, lo que conlleva a la disminución en la secreción de insulina, resistencia a esta o una combinación de ambas (17). Se clasifica convencionalmente en tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional, entre otras. Catalogarlos es necesario para establecer un tratamiento adecuado y personalizado, aunque diferenciarlos puede no ser tan claro al momento del diagnóstico (3,18).

La DM2 es un trastorno metabólico crónico complejo relacionado estrechamente al sobrepeso y obesidad. Sin embargo, es necesario entender que esta enfermedad no se desarrolla hasta que las células beta pancreáticas sean incapaces de producir cantidades suficientes de insulina o por la condición de resistencia a esta hormona, todo esto ocurre debido a factores genéticos y ambientales (19).

### 3.1.2 EPIDEMIOLOGÍA

La Diabetes Mellitus Tipo 2, o diabetes insulino-resistente, es uno de los principales problemas de salud pública. A nivel mundial, la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés) estimó 537 millones de adultos con diabetes en el año 2021, en América del Sur y Central 32 millones entre las edades de 20 a 79 años y pronosticó un aumento continuo hasta alcanzar los 49 millones para el año 2045 de los cuales 1 de cada 3 adultos con diabetes no están diagnosticados (1,18).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en 2019 la diabetes fue la sexta causa de muerte y el 44% ocurrió antes de los 70 años (20).

Así mismo, en el Perú, el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades (CDC Perú) del MINSA notificó 37 919 casos de diabetes en el año 2023 correspondiendo a DM2 el 98%, siendo Lima el departamento con mayor cantidad de casos, seguido de La Libertad y en tercer lugar Lambayeque (21).

### 3.1.3 FACTORES DE RIESGO

#### a) No modificables:

- **Edad:** la incidencia de la DM2 es directamente proporcional al aumento de la edad, 18.4% de las personas con 65 años a más, tienen diabetes (22); lo más frecuente, es que la DM2 se presente en adultos de edad media, es decir, a partir de los 45 años y este riesgo disminuye de los 75 años hacia adelante, según algunos estudios (18).
- **Genéticos:** tener un familiar en primer o segundo grado con diabetes aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad por el componente genético (18), últimos estudios indican que el riesgo de DM2 entre los hijos de un padre con diabetes es 3.5 veces mayor y para aquellos con dos padres diabéticos es 6 veces mayor en comparación con los hijos de padres sin diabetes (22).

Aún no se ha encontrado un gen específico, existen varias mutaciones de genes que cumplen la función de controlar los niveles de glucosa y potencian el riesgo poligénico de tener diabetes, hasta ahora hay más de 20 genes relacionados a la DM2 dentro de los cuales tenemos:

- TCF7L2 implicado en el desarrollo de las células beta del páncreas (23)
- PPARG está involucrado en la adipogénesis y la sensibilidad a la insulina (23)
- FTO regula el apetito y el metabolismo de la grasa (23)
- KCNJ11 regula la secreción de insulina (23)
- HNF1A y HNF4A influyen en el desarrollo y función del páncreas (23)
- GCK codifica a la enzima glucokinasa que convierte a la glucosa en glucosa 6 fosfato, siendo este el primer paso de la glucólisis (23)
- GLUT2 traslada la glucosa al páncreas (23)
- **Raza u origen étnico:** el riesgo de desarrollar diabetes es mayor en hispanos/latinos, asiáticos, afroamericanos e indígenas norteamericanos que en la raza caucásica (24).
- **Historia de diabetes gestacional:** las mujeres que desarrollaron este tipo de diabetes durante el embarazo tienen 7.5 veces más riesgo de tener DM2 a lo largo de su vida, por lo que deben tener controles rutinarios cada 3 años para prevenir la enfermedad (22). Además, se ha comprobado que un bajo peso (< 2.500 kg) o un alto peso (> 4.000 kg) al nacer y los niños prematuros se asocian a un mayor riesgo de DM2 (18).

#### b) Modificables

- **Sobrepeso y obesidad:** son los factores más importantes para el desarrollo de DM2. La obesidad ( $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) y sobrepeso ( $IMC 25-30 \text{ kg/m}^2$ ) están directamente relacionados con la resistencia a la insulina. Durante los últimos años, las tasas de sobrepeso y obesidad se han triplicado en Latinoamérica según la Organización de las Naciones Unidas (ONU) (25), intentar disminuir este número influirá directamente en una menor frecuencia de la enfermedad. La circunferencia abdominal también es un factor importante, ya que refleja indirectamente la cantidad de grasa visceral (22).
- **Sedentarismo:** no practicar ejercicios y estar la mayor parte del tiempo en reposo, promueven el incremento del peso corporal poniendo en riesgo la salud de las personas. Para contrarrestar el sedentarismo se debe crear una

rutina de ejercicio, se recomienda realizar actividad física de intensidad moderada al menos 30 minutos, 3 a 5 veces a la semana para disminuir la incidencia de DM2 (18).

- **Factores dietéticos:** la alimentación es uno de los factores de riesgo modificables más importantes para prevenir la diabetes. El alto consumo de alimentos procesados como frituras, carnes rojas, harinas, refrescos azucarados, grasas saturadas, etc. y el bajo consumo de frutas, vegetales, pescado y cereales integrales se asocia a un mayor riesgo de desarrollar síndrome metabólico y DM2, independientemente del índice de masa corporal (IMC). Tener una dieta mediterránea según el estudio PREDIMED reduce en un 40% la aparición de DM2 (26).
- **Tabaco y alcohol:** fumar aumenta el riesgo de DM2 directamente asociado a la cantidad de cigarrillos y el consumo de alcohol, puede inflamarse al páncreas afectando su función de producir insulina; además, puede dañar al hígado y agregar más azúcar que el organismo tendrá que utilizar o almacenar en forma de grasa (18).
- **Hipertensión arterial:** además de afectar al sistema cardiovascular, está implicada como un factor de riesgo para la diabetes, a partir de una presión arterial elevada  $\geq 130/80$  mmHg y para los que reciben tratamiento antihipertensivo (27).
- **Dislipidemia:** el nivel bajo del colesterol HDL  $< 35$  mg/dL ( $< 0.9$  mmol/L) se relaciona a la resistencia insulínica y la hipertrigliceridemia  $> 250$  mg/dL (2.8 mmol/L) ambos son criterios para la detección de diabetes por ser factores de riesgo en adultos asintomáticos (18).
- **Prediabetes:** es la elevación de la glucosa sin llegar a reunir los criterios para ser DM2, como una glucosa alterada en ayunas (GAA) de 100-125 mg/dL y/o una intolerancia a la prueba de glucosa (ITG) de 140-199 mg/dL a las 2 horas tras la ingesta oral de 75 gramos de glucosa, ambas alteraciones implican un riesgo alto para el futuro desarrollo de DM2 (27).

#### 3.1.4 FISIOPATOLOGÍA

La fisiopatología de la DM2 es variada y compleja, una de las causas es la secreción defectuosa de insulina por parte de las células beta pancreáticas debido a la influencia genética, se ha demostrado que el gen HNF1A confiere

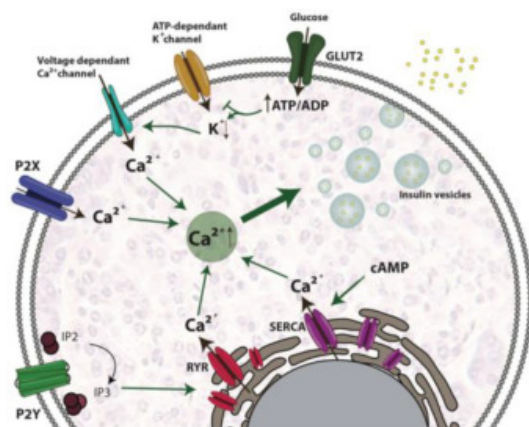
un riesgo 4 veces mayor de desarrollar DM2 en poblaciones latinas, además el gen TCF7L2 codifica el factor involucrado en la vía de señalización WNT necesaria para el desarrollo normal del páncreas, el locus PPARG tiene un papel crítico en la diferenciación de los adipocitos, su supervivencia y función; la identificación de estos genes en los pacientes aumenta el riesgo poligénico de padecer DM2 (23).

Las células beta pancreáticas son células endocrinas que sintetizan, almacenan y secretan insulina para efectos hipoglucemiantes, que se encuentran predominantemente en los islotes pancreáticos (28). Según la fisiología normal, cuando aumenta la glucosa en sangre, las células beta del páncreas la absorben a través del transportador de glucosa 2 (GLUT2), una vez dentro se activa una cascada de reacciones, aumentando la relación ATP/ADP intracelular, cerrando los canales de potasio y abriendo los canales de calcio, para así, los gránulos secretores liberen insulina (29).

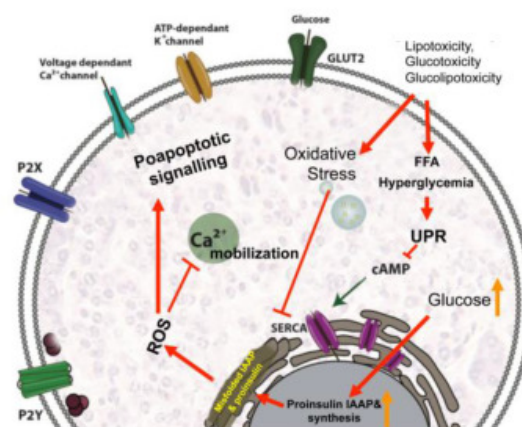
Según estudios la falla de las células beta en la diabetes tipo 2 es relativamente específica a la glucosa; ya que, las respuestas a otros secretagogos de insulina como el isoproterenol o la arginina están preservadas (30).

Por el déficit de la insulina en inhibir a la glucosa, hay una excesiva producción de glucosa en el hígado, que puede llevar a un aumento de ácidos grasos libres en la sangre, debido a que, la resistencia a la insulina afecta el metabolismo de los lípidos contribuyendo a la acumulación de grasa en el hígado y a la dislipidemia (31). Esta alteración en el metabolismo de los ácidos grasos predispone a la obesidad, la cual se asocia a un estado de inflamación crónica mediada por citoquinas proinflamatorias como la leptina, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y la resistina secretados por los adipocitos (31). Además, promueven el estrés oxidativo generando ROS que inhibe la movilización de calcio y activa señales proapoptóticas.

**A**  $\beta$ -cell physiology

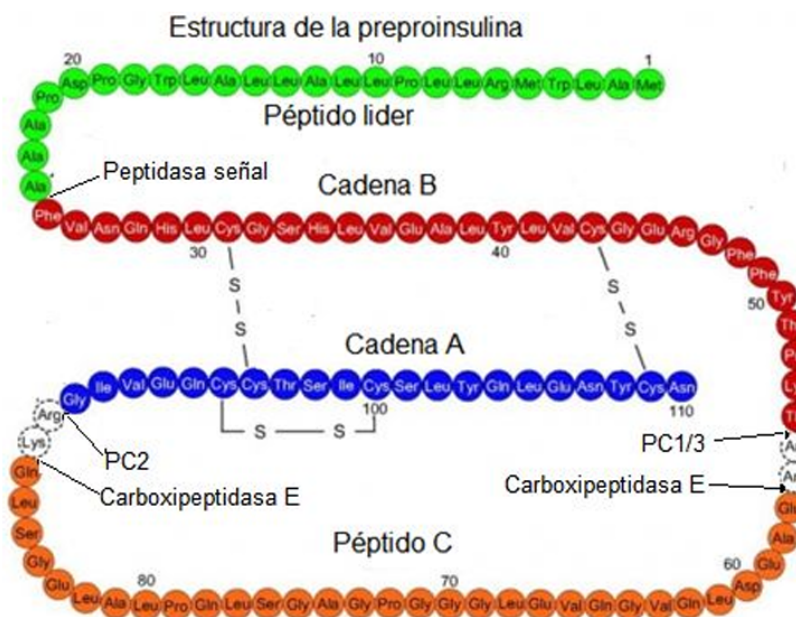


**B** Mechanisms leading to dysfunction



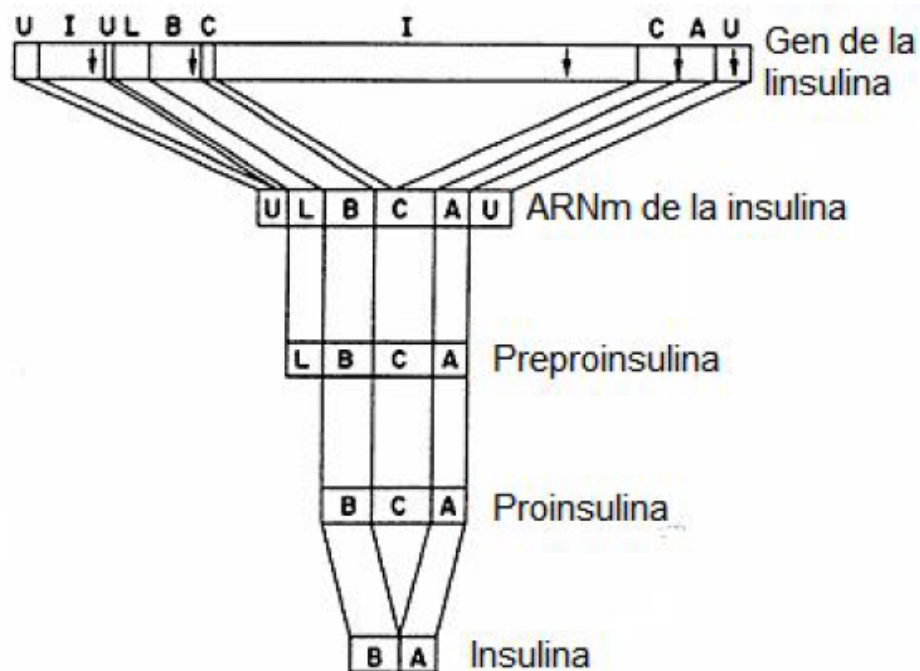
**Figura A.** Cascada de reacciones implicadas en la secreción de insulina en las células beta en condiciones fisiológicas (A) y condiciones patológicas (B) (29)

La maduración de proinsulina a insulina está alterada en la DM2, normalmente la insulina es una hormona polipeptídica de 51 aminoácidos, pero se sintetiza como una preproinsulina de 110 aminoácidos, a partir del gen ubicado en el brazo corto del cromosoma 11, el cual está constituido por 3 exones que codifican al ácido ribonucleico mensajero (ARNm), traducido, da a la preproinsulina que por su péptido señal (SRP por sus siglas en inglés) pasa a la cisterna del retículo endoplasmático donde la enzima peptidasa genera a la proinsulina (32).



**Figura B.** Estructura de la preproinsulina humana (32)

Esta proinsulina comparte varias características con la insulina haciendo pensar que la estructura de la insulina esta conservada dentro de la proinsulina junto con el péptido C (32). Finalmente, la proinsulina tiene que pasar al aparato de Golgi y entrar a vesículas secretoras inmaduras llamados también gránulos secretorios, donde existen 2 endoproteasas (PC2 y PC1/3) que participan en la conversión de proinsulina a insulina junto con la enzima carboxidasa E, la insulina sintetizada se acumula en el interior de los más de 13 mil gránulos secretorios que contienen las células beta de los islotes pancreáticos (32).



**Figura C.** Esquema de la estructura del gen de la insulina (32)

Pero la disfunción de la célula beta produce un aumento de la secreción de proinsulina provocando que la insulina no se libere adecuadamente, además las altas concentraciones del polipéptido amiloide (amilina) almacenado en los gránulos secretores de los islotes junto con la insulina disminuyen la captación de la glucosa e inhiben la secreción endógena de insulina relacionándose directamente con la patogénesis de la DM2 (31). Algunos estudios en ratas han demostrado que la administración de un antagonista de la amilina disminuye la glucosa en la sangre y aumenta la secreción de insulina.

### 3.1.5 CLÍNICA

Los síntomas y signos dependerán de las etapas de la enfermedad, es asintomático en la mayoría de las personas sobretodo en los primeros años, pero algunas personas pueden presentar las “4P”: poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso que son los síntomas clásicos tanto en pacientes con DM tipo 1 como en los de tipo 2 (18).

Cuando el páncreas se “agota” y no puede satisfacer las demandas de insulina, sobreviene las complicaciones de la diabetes.

#### a) Complicaciones agudas:

- **Cetoacidosis diabética (CAD):** la hiperproducción hepática de glucosa y la disminución de captación de insulina por los tejidos produce cetogénesis; ya que, sin insulina los ácidos grasos se convierten en cuerpos cetónicos en el hígado por acción del glucagón, suscitando acidosis metabólica lo que reduce el pH y el bicarbonato de la sangre (33); por otro lado, en el riñón esto produce glucosuria (diuresis osmótica) que termina en deshidratación por la poliuria que intenta compensar al inicio la hiperglucemia pero se ve frustrada por los vómitos que acompañan a la cetoacidosis y la disminución del flujo sanguíneo que reduce la capacidad de los riñones de excretar glucosa, para finalmente aumentar las cifras de glucosa de forma aguda (34). Aunque es más frecuente en la DM tipo 1, en la DM tipo 2 la cetoacidosis se puede generar tras un traumatismo grave, infecciones u otras causas de estrés que aumentan a las hormonas contrarreguladoras como glucagón, cortisol, catecolaminas y hormonas de crecimiento (33,35).

Los criterios diagnósticos de la CAD son (36):

- Glucosa en sangre > 250 mg/dL
- pH venoso < 7.3
- Bicarbonato < 15 mmol/L
- Osmolaridad < 320 mOsm/kg
- GAP > 10 mEq/L
- Glucosuria, cetonuria y cetonemia

De acuerdo con estos valores la CAD se puede clasificar en leve, moderada o severa.

**Tabla B.** Clasificación de la CAD (33)

Parámetro	Leve	Moderado	Severo
pH arterial	7,25-7,3	7,0-7,24	<7,0
Bicarbonato sérico (mEq/L o mmol/L)	15-18	10-15	<10
Anion Gap	>10	>12	>12
Estado de conciencia	Alerta	Alerta-somnoliento	Estupor-coma
Cetonas en plasma/orina	Positivo	Positivo	Positivo

El manejo de la cetoacidosis diabética es mediante el reemplazo de agua y electrolitos ( $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ ) con suero salino 0.9% o Lactato de Ringer en 2 etapas: la corrección a razón de 1000 – 1500 cc en la primera hora y la fase de mantenimiento dependiendo de las necesidades hídricas (36); luego administrar insulina en bolo y en infusión continua a una dosis baja de 0.1 U/kg/h por vía endovenosa hasta resolver la cetoacidosis. Además, como en la CAD existe un déficit de potasio se debe administrar 20 mEq/L para alcanzar concentraciones plasmáticas entre 3.5 – 5 mEq/L junto con la infusión de insulina (37).

- **Estado hiperosmolar hiperglucémico (EHH):** esta complicación es consecuencia de una deshidratación grave que obstaculiza la depuración del exceso de glucosa, pero a diferencia de la CAD, la escasa cantidad de insulina que presenta es suficiente para prevenir la cetogénesis y la lipólisis (36). Hay varios factores que precipitan esta complicación como las enfermedades cardiovasculares, los fármacos tipo glucocorticoides, tiazidas o las infecciones; por lo que, la mortalidad es 10 veces más alta que la CAD (34).

Los síntomas y signos son oliguria, polidipsia, mucosas secas, pérdida de peso, hipotensión, letargia, entre otros. Además de la clínica para diagnosticar a la EHH se debe cumplir los siguientes criterios (36):

- Glucosa en sangre > 600 mg/dL
- pH arterial > 7.3
- Bicarbonato > 18 mmol/L
- Osmolaridad > 320 mOsm/kg

- GAP > 12 mEq/L

El tratamiento es similar al de la CAD con hidratación, insulina y administración de potasio; el manejo rápido y eficaz evitarán que el paciente llegue al coma hiperosmolar.

- **Hipoglucemia:** el tratamiento con insulina o antidiabéticos orales pueden producir esta complicación, que se puede definir como glucosa en sangre inferior a 60 mg/dL (34). A menudo, la hipoglucemia ocurre con el ejercicio o el ayuno, por una disminución de la secreción de insulina en respuesta a una glucosa baja. En compensación a esto, aumentan las hormonas contrarreguladoras como el glucagón que normalmente repondrían las cifras de glucosa, pero en pacientes diabéticos estas acciones fracasan produciendo síntomas neurogénicos, respuestas adrenérgicas como temblor, palpitaciones, ansiedad y respuestas colinérgicas como hambre estimulando la búsqueda de carbohidratos (38). El tratamiento de la hipoglucemia es la administración por vía oral de dos raciones de hidratos de carbono, conociendo que una ración corresponde a 100 ml de zumo o gaseosa o 2 cucharadas de miel (35,38). En caso de estar inconsciente se administrará 1 mg de glucagón intramuscular, después de esto, puede ocurrir un efecto rebote de hiperglucemia llamado fenómeno de Somogyi (38).

#### b) **Complicaciones crónicas:**

La diabetes mal controlada origina complicaciones a largo plazo que se pueden dividir en enfermedades microvasculares y macrovasculares.

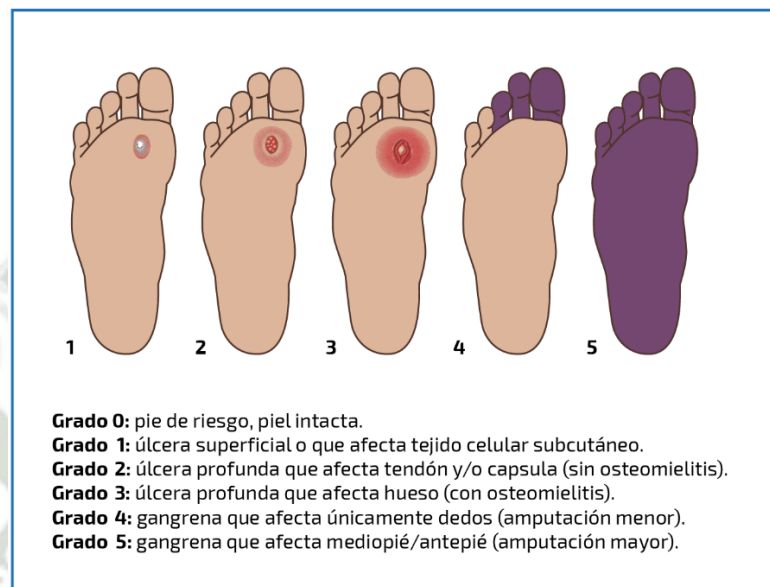
Dentro de las enfermedades microvasculares tenemos:

- **Retinopatía:** es la principal causa de ceguera en países desarrollados, está relacionada a la duración de la diabetes; ya que, después de 20 años se presenta en 60% de pacientes con DM tipo 2 (39). Esta complicación evoluciona en tres fases:
  - Retinopatía de origen o no proliferativa: se caracteriza por los microaneurismas y los exudados duros que a menudo se relacionan con edema macular (40).

- Retinopatía preproliferativa: aparecen áreas con exudados algodonosos por las anomalías venosas, arteriales y capilares como oclusiones, dilataciones y/o tortuosidades (40).
- Retinopatía proliferativa: destaca la neoformación de vasos nuevos, también puede haber hemorragia vítrea o desprendimiento de retina (40).
- **Nefropatía:** La diabetes es la principal causa de enfermedad renal terminal en todo el mundo, su prevalencia aumenta con el tiempo de evolución y la edad (39). Esta complicación se establece a partir de un valor de albuminuria entre 30 a 300 mg en 24 horas con la tasa de filtración glomerular  $< 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$  y dependiendo como estos valores se modifiquen se determinará el estadio de la enfermedad renal crónica (41). Si bien la pérdida de la función renal es devastadora, se puede acompañar de enfermedad cardiovascular que empeora el cuadro clínico. La nefropatía diabética produce una mortalidad 3 veces mayor que la población general.
- **Neuropatía:** La neuropatía diabética puede dividirse en tres tipos:
  - Polineuropatía distal: es la forma de presentación más frecuente, donde hay pérdida sensitiva de las extremidades inferiores debido a la desmielinización de los nervios periféricos, produciendo hormigueo, parestesias y entumecimiento (42).
  - Neuropatía autonómica: afecta al sistema cardiovascular produciendo taquicardia en reposo e hipotensión ortostática; la disfunción eréctil y la vejiga neurogénica son signos de daño del sistema genitourinario también complica al sistema gastrointestinal alterando la función del músculo liso (42).
  - Mononeuropatía y polineuropatía: se presenta en nervios craneales y periféricos. Con mayor frecuencia se afecta el nervio motor ocular externo (III par craneal), con ptosis palpebral y oftalmoplejía (42).

Dentro de las enfermedades macrovasculares tenemos la aterosclerosis que provoca arteriopatía coronaria, además puede presentarse déficit circulatorio en el encéfalo por isquemia o hemorragia (38).

Otras complicaciones son las úlceras de pie que son responsables del 1% de las amputaciones, los diabéticos tienen más probabilidad de presentar infecciones graves de heridas principalmente por *Cándida* (43).



**Figura D.** Clasificación de Wagner (43)

### 3.1.6 DIAGNÓSTICO

La DM2, representa uno de los principales problemas de salud pública en el Perú y el mundo, ya que es causante de alrededor de 1,6 millones de muertes al año (20). Es muy importante diagnosticarla y tratarla lo más antes posible; por ello, se recomienda medir la glucosa en ayunas de forma rutinaria a partir de los 40 años, y en personas con historia familiar de diabetes o síndrome de ovario poliquístico u otros factores de riesgo antes de los 40 años; si el resultado está dentro del rango normal, repetir el estudio cada 3 años a fin de evitar las complicaciones anteriormente mencionadas (24).

La Asociación Estadounidense de Diabetes (ADA en sus siglas en inglés) y el MINSA proponen los siguientes criterios diagnósticos:

- Hemoglobina glicosilada A1C (HbA1C)  $\geq 6.5\%$ , es la glucosa unida a la hemoglobina durante la vida útil del eritrocito (3,18).
- Glucosa plasmática en ayunas  $\geq 126$  mg/dL. El ayuno es definido como la no ingesta de alimentos de por lo menos 8 horas (3,18).
- Glucosa plasmática a las 2 horas  $\geq 200$  mg/dL, después de la prueba de tolerancia oral a la glucosa utilizando 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua (3,18).

- Glucemia plasmática aleatoria  $\geq 200$  mg/dL a cualquier hora del día en individuos con síntomas o crisis hiperglucémicas (3,18). Es la única prueba en la que sólo se requiere un resultado anormal para hacer el diagnóstico; ya que, en los demás criterios es importante tener 2 resultados anormales separados en máximo 72 horas.

### 3.1.7 TRATAMIENTO

Una vez realizado el diagnóstico adecuado de la DM2, es fundamental la atención integral del paciente implementando un programa educativo sobre nutrición, ejercicio, manejo de la diabetes durante una crisis y medicamentos que reducen la glucosa, para poder obtener una mayor tasa de éxito (44).

El manejo de la glucemia es el principal objetivo del tratamiento y además la principal forma de prevención de riesgos macro y microvasculares. Con un control adecuado de hemoglobina glicosilada menor o igual a 7%, se reduce exponencialmente las complicaciones a largo plazo (45). Así mismo, el paciente diagnosticado con DM2 debe modificar los factores de riesgo para las enfermedades relacionadas con ella como las cardiovasculares, que incluye: el control de presión arterial  $< 140/90$  mmHg y dislipidemias (46).

- **Medidas preventivas:**

- a. **Educación:** Los pacientes deben recibir una educación personalizada, con el fin de obtener un buen autocontrol de su enfermedad; los familiares y su ámbito social cercano también deben colaborar continuamente en el tratamiento y durante el transcurso de la enfermedad (18).
- b. **Nutrición:** un profesional capacitado (nutricionista, endocrinólogo, internista, etc.) debe brindar una dieta balanceada e hipocalórica baja en carbohidratos para los fines terapéuticos del paciente.

Se debe cumplir los siguientes requisitos:

- Dieta fraccionada distribuida en 5 comidas, con el objetivo de reducir los picos glucémicos (47).
- La reducción del peso del 5 al 10%, otorga beneficios significativos en el control de la glucemia, los lípidos y la presión arterial (48).

- Adecuada proporción de ingesta de acuerdo con el grupo alimentario, siendo: Grasas (20 al 35%), proteínas (15 al 20%), carbohidratos (45 al 55%) y fibra (25 a 50gr) (47).
  - No se ha reportado beneficios de la suplementación vitamínica (47).
- c. Actividad física:** Se debe realizar al menos 150 minutos semanales de ejercicio aeróbico de intensidad moderada, advirtiendo a las personas con tratamiento insulínico sobre el riesgo de hipoglucemia (26).
- d. Tabaco:** fumar es un factor de riesgo para la patología cardiovascular, por lo que, se recomienda evitarlo (48).
- e. Evaluación por personal de salud:** la evaluación médica continua, ya sea por el médico especialista, o médico de salud ocupacional es necesaria para cuantificar los progresos del paciente y el reforzamiento de la terapia propuesta (18).
- **Medidas terapéuticas:**  
Para iniciar con la terapia farmacológica en los pacientes con DM2, primero hemos debido instaurar todas las medidas preventivas antes mencionadas. En caso, no se alcancen los objetivos glucémicos individualizados, se iniciará con fármacos hipoglucemiantes orales, insulina u otros medicamentos que mejoren el control de la glucemia, para así cumplir los objetivos terapéuticos que son (45,49):
    - Control de síntomas
    - HbA1C < 7.0%
    - Glucosa plasmática capilar en ayunas de 80 a 130 mg/dL
    - Glucosa plasmática capilar postprandial (1 o 2 horas después de iniciar una comida) < 180 mg/dL
    - Presión arterial < 140/90 mmHg
    - Lipoproteínas de baja densidad < 100 mg/dL
    - Lipoproteínas de alta densidad > 40 mg/dL (varones)  
> 50 mg/dL (mujeres)
    - Triglicéridos < 150 mg/dL

Como la DM2 es una enfermedad crónica con múltiples comorbilidades existen varias formas de tratamiento para la reducción de complicaciones (48). Entre los principales medicamentos se encuentran las biguanidas (metformina), secretagogo de insulina (sulfonilurea), sensibilizadores de insulina (tiazolidinediona), inhibidores o moduladores de sodio-glucosa cotransportador 2 (SGLT2), inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4) y agonistas de GLP-1R (4,5).

– **Agonistas del receptor GLP-1**

Estos fármacos simulan a la GLP-1 que actúa estimulando al GLP-1R, cuyo mecanismo de acción es aumentar la secreción de insulina estimulada por glucosa en las células beta del páncreas, suprimir al glucagón y enlentecer el vaciamiento gástrico (6–8). Su beneficio a diferencia de los otros tratamientos es no producir hipoglucemia, además ayuda con la pérdida de peso moderado y la disminución del apetito (50).

La vida corta de los GLP-1 nativos hizo que se crearan versiones sintéticas peptídicas como exenatida, liraglutida, dulaglutida, entre otros, que actúan de forma prolongada sobre los receptores de GLP-1, pero su uso se ve limitado por sus efectos adversos como náuseas, vómitos y diarrea. Asimismo, está contraindicado en personas con carcinoma medular de la tiroides o neoplasia endocrina múltiple (10).

Por las limitaciones que presentan los métodos tradicionales con fármacos sintéticos, se está ampliando las investigaciones para usar métodos alternativos como plantas medicinales o sus fitoquímicos, versiones no peptídicas, con efectos hipoglucemiantes como tratamiento futuro.

### 3.2 PÉPTIDO SIMILAR AL GLUCAGÓN 1 (GLP-1)

Esta hormona es conocida como *incretina*, así se les llama a las moléculas intestinales que regulan la glucosa en sangre. El GLP-1 es producido por las células enteroendocrinas L ubicadas en el íleon distal y colón principalmente para la producción de un 50% a un 70% de la insulina total postprandial (6). Se origina a partir del gen proglucagón y reduce los niveles de glucosa estimulando la

secreción de insulina en el páncreas en 2 fases, la primera es por estimulación del sistema nervioso autónomo, mientras que la segunda se da en respuesta directa a la ingesta de alimentos, ya que, los niveles de GLP-1 se triplican (10).

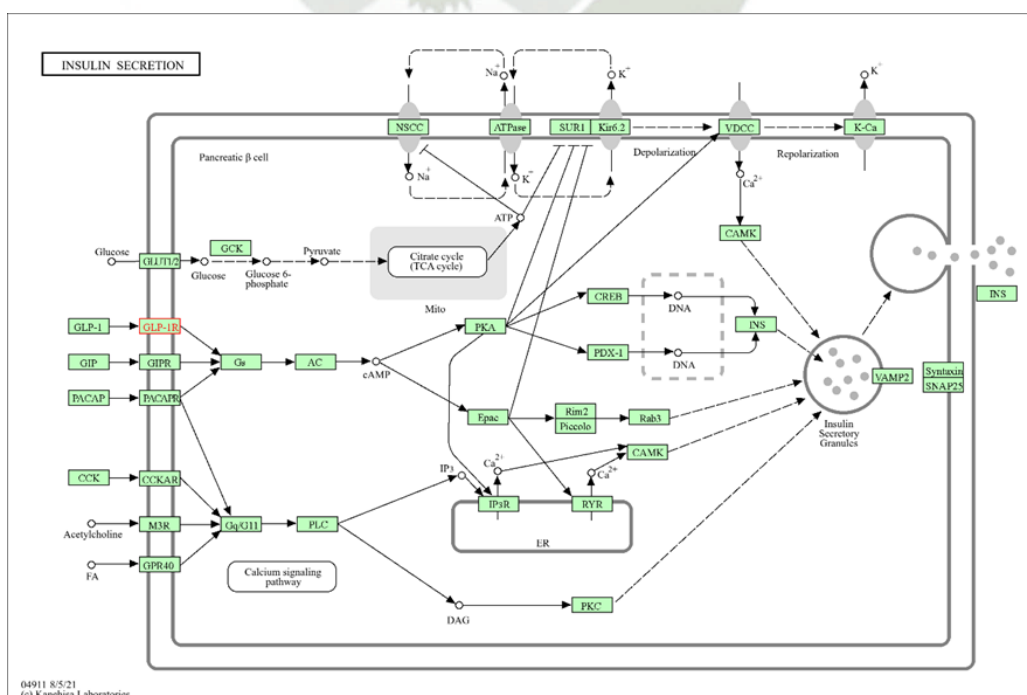
La forma activa del GLP-1 es corta por la degradación e inactivación de la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4) ubicada en múltiples tejidos como riñón, pulmón, hígado y células endoteliales de los vasos sanguíneos, donde impiden que más del 50% del GLP-1 ingrese activo a la circulación sistémica (6).

La vía de eliminación del GLP-1 es por medio del riñón, por lo que, en pacientes con insuficiencia renal los metabolitos del GLP-1 aumentan, pero el GLP-1 activo es igual que un individuo sano (50).

### 3.3 RECEPTOR DEL PÉPTIDO SIMILAR AL GLUCAGÓN (GLP-1R)

El receptor de la GLP-1, como su mismo nombre lo dice, es la proteína encargada de recibir al péptido y con este desencadenar una cascada de reacciones para la secreción de insulina en las células beta pancreáticas. Otros productos secundarios, también importantes, de esta vía metabólica son el cAMP y el calcio intracelular como se puede observar en la [Figura E](#).

En el caso de los tratamientos para la DM2, en los que se usan compuestos basados en la estructura de la GLP-1, el principal objetivo de estos es la GLP-1R, por lo que es un target de importancia.



**Figura E.** Vía metabólica de la secreción de insulina (51)

### 3.4 *MINTHOSTACHYS* (MUÑA)

El Perú es un país megadiverso, con una gran heterogeneidad vegetal fuente natural de moléculas bioactivas, un ejemplo es la *Minthostachys*, una planta que crece entre los 2500-3500 m.s.n.m de nuestra serranía, principalmente en los departamentos de Ayacucho, Huancavelica y Puno (52).

Pertenece a la familia Lamiaceae (Labiatae) y cuenta con hasta 17 subespecies de la cuales 6 son las que más se encuentran: *M. glabrescens*, *M. salicifolia*, *M. cetosa*, *M. spicata*, *M. tomentosay*, *M. mollis* (HKB) griseb, dentro de las cuales la *Minthostachys mollis* fue la que más predominó y de la que más investigaciones se han hecho. Debido a su alta variabilidad morfológica es muy complicado entender su diversidad, es por esto, por lo que popularmente se le puede llamar “muña” a múltiples especies del mismo género (53).

A la infusión o cocimiento de las flores u hojas de la muña se le atribuyen propiedades digestivas que sirven para tratamiento de dolores de estómago, acidez, meteorismo, cólicos, así como mareos, cefaleas y resfríos desde tiempos ancestrales; además el aceite esencial tiene actividad antitusígena, antiasmática, antiespasmódica, antibacteriana, analgésica, antiinflamatoria, etc. (54)

La composición completa de la muña se presenta en la [Tabla C](#) (55), obtenida a través del análisis de la composición química, actividad citotóxica y antioxidante in vitro del aceite esencial de la *Minthostachys mollis* Griseb.

**Tabla C.** Composición de la muña.

Número	Fitoquímico	CID
1	$\alpha$ -Thujene	637518
2	$\alpha$ -Pinene	6654
3	Camphene	6616
4	Sabinene	18818
5	1-Octen-3-ol	18827
6	$\beta$ -Pinene	440967
7	Myrcene	31253
8	$\alpha$ -Terpinene	7462
9	p-Cymene	7463
10	1,8-Cineole	2758

11	$\beta$ -Phellandrene	11142
12	Limonene	22311
13	cis- $\beta$ -Ocimene	5320250
14	trans- $\beta$ -Ocimene	5281553
15	$\gamma$ -Terpinene	7461
16	trans-Sabinene hydrate	12315151
17	Linalool	6549
18	Menthone	26447
19	Citronellal	7794
20	Isomenthone	6432469
21	cis-Isopulegone	519954
22	Terpinen-4-ol	11230
23	cis-Dihydrocarvone	443181
24	$\alpha$ -Terpineol	442501
25	trans-Dihydrocarvone	167338
26	Dihydrocarveol	12072
27	Pulegone	442495
28	Carvone	7439
29	Piperitone	6987
30	cis-Piperitone epoxide	250138671
31	Bornyl acetate	93009
32	Thymol	6989
33	Carvacrol	10364
34	Dihydrocarveol acetate	30248
35	Piperitenone	381152
36	Thymol acetate	68252
37	Piperitenone oxide	442497
38	$\alpha$ -Terpenyl acetate	111037
39	Carvacrol acetate	204763
40	Geranyl acetate	1549026

41	$\beta$ -Bourbonene	62566
42	$\beta$ -Caryophyllene	5281515
43	Aromadendrene	91354
44	$\alpha$ -Humulene	5281520
45	Germacrene-D	91723653
46	Bicyclogermacrene	13894537
47	Spathulenol	92231
48	$\beta$ -Caryophyllene oxide	1742210

Los aceites esenciales son productos volátiles del metabolismo secundario de las plantas, en el caso de la muña (*Minthostachys mollis*) su aceite esencial está formado por diversos alcaloides, terpenoides, flavonoides, etc. que en conjunto le confieren a la planta su amplia gama de propiedades terapéuticas antes mencionadas (55).

Los terpenos son hidrocarburos de origen orgánico formados por cadenas de carbono, generalmente estos compuestos biológicos son derivados del isopreno. Esta clase de moléculas puede ser subdividida en hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesteterepenos, triterpenos, tretaterpenos y politerpenos. Por otro lado, tenemos a los terpenoides, que igualmente son compuestos derivados del isopreno, teniendo la característica distintiva de poseer grupos funcionales conteniendo oxígeno; y se subdividen al igual que los terpenos (56). En resumen, siendo los terpenoides la forma oxidada de los terpenos. En algunas investigaciones, se encontraron que los principales compuestos del aceite esencial de *Minthostachys mollis* son el carvacrol, la menthone (mentona) y el thymol (timol) (57).

#### 3.4.1 MENTHONE (MENTONA) - MTN

Monoterpenoide que proviene de una ciclohexanona en la que se sustituyeron los carbonos en las posiciones 5 y 2 por los grupos funcionales metil e isopropil, respectivamente (58). Puede encontrarse en diferentes organismos del reino Plantae como por ejemplo las de género *Clinopodium*, *Mentha*, *Minthostachys*, y otros organismos más (59).

### 3.4.2 CARVACROL - CVC

Este monoterpenoide es un fenol con los grupos funcionales metil y un isopropil en las posiciones 2 y 5, respectivamente, también se define como un derivado del cimeno (60). Puede encontrarse en una variedad de plantas como por ejemplo del género *Satureja*, *Thymus*, *Origanum* y *Minthostachys* (59).

### 3.4.3 THYMOL (TIMOL) - TML

Es un monoterpenoide derivado del cimeno, este es un fenol en el que se sustituyen los carbonos 5 y 2 con los grupos funcionales metil y isopropil, respectivamente; y presenta la característica de ser un aceite volátil (61). El aceite puede ser extraídos de diferentes plantas del género *Teucrium*, *Thymus*, *Minthostachys*, *Origanum*, etc (59).

## 3.5 BIOINFORMÁTICA

### 3.5.1 DEFINICIÓN

La bioinformática es un campo interdisciplinario que combina la biología y la informática para analizar y comprender datos biológicos, utiliza técnicas computacionales y algoritmos para almacenar, recuperar y analizar información biológica, como secuencias de ADN, proteínas, estructuras celulares y datos genómicos (62).

La bioinformática se utiliza en las investigaciones científicas y médicas, específicamente en un proceso llamado in silico que se define como un método para hacer experimentos por computadora, transformando la medicina moderna al minimizar el complejo proceso que antes se utilizaba para descubrir fármacos y que ahora gracias a la tecnología in silico se puede lograr con menos costo y tiempo, prediciendo la farmacocinética y farmacodinamia de un potencial fármaco con su receptor en el cuerpo humano (16). Este campo busca generar datos a través de la representación virtual de un sistema biológico para mejorar o innovar la práctica clínica y los tratamientos de las ciencias biomédicas.

### 3.5.2 HERRAMIENTAS COMPUTACIONALES

Las herramientas que utiliza la bioinformática en el desarrollo del proceso in silico de una investigación comienzan por el hardware de la computadora que

son la memoria interna, RAM, tarjeta gráfica y procesador (CPU) los cuales analizarán todos los datos que ingresemos en ellos (12,63).

Los softwares son los programas que nos ayudarán a visualizar, calcular, simular y descargar toda la información necesaria para obtener resultados que en este trabajo fue Linux, un sistema operativo que permite realizar múltiples tareas usando comandos, el cual usa diferentes lenguajes de programación, mayormente Python, pero también se utilizan en sus distribuciones lenguajes como Bash, Perl, Java o C (63).

Las bases de datos, por ejemplo, PubMed que es una biblioteca de publicaciones científicas, GenBank del NCBI donde se encuentra secuencias de genes y ácidos nucleicos, Protein Data Bank (PDB) como su nombre en inglés lo dice en esta web se encuentra la estructura 3D de las proteínas obtenidas por resonancia magnética nuclear o cristalografía de rayos X, otro es KEGG (Enciclopedia de Genes y Genomas de la Universidad de Kyoto en Japón), etc. Todas estas bases de datos nos brindan información sobre las estructuras moleculares de interés dependiendo de cada investigación (7,63).

Además, los servidores en línea como LigParGen, CHARMM, AutoDock, ChEMBL y RCSB PDB nos ayudan a generar parámetros y visualizar estructuras útiles para las simulaciones moleculares (63).

Finalmente, los programas de visualización y análisis de estructuras biomoleculares tipo PyMol, Chimera, Visual Molecular Dynamics (VMD), Jmol, BioLuminate, o los que permiten simular dinámicas moleculares como GROMACS, AMBER, Desmond y GROMOS forman parte de diversas estrategias de investigación con el objetivo de representar los sistemas biológicos (64).

### **3.5.3 DISEÑO, OBTENCIÓN Y MODELAMIENTO DE PROTEÍNAS**

Para poder analizar el comportamiento de una estructura molecular-proteica es fundamental conocer su composición y estructura tridimensional. Esto se logra mediante diversas bases de datos especializadas en formular las estructuras mediante técnicas experimentales como cristalografía de rayos X, criomicroscopía electrónica (Cryo-EM) y espectroscopía de resonancia magnética nuclear (NMR). Un ejemplo de donde obtener estas estructuras es RCSB PDB, una base de datos que contiene información de átomos, cadenas

de aminoácidos, ligados y otras características determinando la morfología de cada estructura proteica (65). La calidad de la muestra obtenida in vitro se mide a través de angstroms (Å), mientras menos Å mejor la calidad. Finalmente, las estructuras deben ser modeladas y optimizadas utilizando programas de predicción de estructuras proteicas como MODELLER y AlphaFold, que optimizan la estructura para poderla usar en simulaciones de dinámica molecular, además los softwares GROMACS o AMBER nos permiten estudiar el comportamiento de la proteína a lo largo del tiempo (64).

### 3.5.4 MECÁNICA Y DINÁMICA MOLECULARES

La mecánica y la dinámica molecular son dos ramas interrelacionadas de la bioinformática que se utilizan para estudiar el comportamiento y las interacciones de partículas a nivel atómico y molecular (63).

La mecánica molecular es una técnica computacional que utiliza modelos simplificados para predecir el comportamiento y las propiedades de las moléculas. Estos modelos se basan en principios de la física clásica, como las leyes de Newton, y pueden proporcionar información sobre la estructura, la energía y las fuerzas intermoleculares de los sistemas estructurales. La mecánica molecular se utiliza ampliamente en el diseño de fármacos, en química computacional, biología estructural y otros campos relacionados (66). La dinámica molecular es una técnica de simulación computacional que modela el movimiento y la evolución temporal de un sistema molecular. A diferencia de la mecánica molecular, la dinámica molecular tiene en cuenta la dinámica de las moléculas y sus interacciones a lo largo del tiempo, utilizando métodos numéricos para resolver las ecuaciones de movimiento de Newton (12). Esto permite simular el comportamiento de sistemas moleculares complejos en condiciones realistas, como la temperatura y la presión, y proporciona información detallada sobre la dinámica, la estructura y las propiedades termodinámicas de las moléculas.

La dinámica molecular se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, incluyendo la simulación de proteínas, el estudio de interacciones biomoleculares, el diseño de materiales y la química computacional, todo esto se incluye en una investigación y proceso in silico (62).

Además, para calcular y analizar la trayectoria de la dinámica molecular de la proteína a estudiar se realizan estos métodos:

- **Desviación de la raíz media cuadrática (RMSD)**

Es una herramienta que sirve para analizar el equilibrio de un sistema y comparar dos estructuras proteicas a lo largo de una trayectoria de tiempo, cuya unidad es el nanosegundo (ns), un valor bajo de RMSD indica que las estructuras comparadas son muy similares (64,67).

- **Fluctuación de la raíz media cuadrática (RMSF)**

Mide el desplazamiento de cada residuo respecto a su posición promedio durante toda la simulación de la dinámica molecular, valores altos predicen la región donde el átomo es más flexible (64,67).

- **Radio de giro (Rg)**

Determina que tan compacta es la estructura de una molécula, es decir, calcula la distancia de cada átomo al centro de masa de la molécula, un valor bajo sugiere que sus átomos están más cercanos al centro (64,67).

### 3.5.5 ACOPLAMIENTO PROTEÍNA-LIGANDO (DOCKING)

El "docking" es una técnica computacional para predecir de manera estocástica cómo interactúan y se unen dos moléculas, generalmente una proteína (o receptor) y un ligando (o molécula pequeña). El objetivo principal del docking es predecir la orientación y la conformación preferida del ligando cuando se une al sitio activo de la proteína, así como estimar la energía de unión entre el ligando y la proteína (68).

El docking se utiliza ampliamente en la investigación de interacciones biomoleculares, ya que permite identificar posibles candidatos a fármacos y comprender los mecanismos de reconocimiento molecular. Sin embargo, es importante tener en cuenta que las predicciones de docking son aproximaciones teóricas y deben ser validadas experimentalmente con la simulación de dinámica molecular.

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1 ANTECEDENTES GENERALES

Debido a lo expuesto anteriormente, observamos que es una preocupación comprender e investigar las alteraciones fisiopatológicas de la DM2, por lo que es necesario encontrar formas alternativas de tratamiento, además de los que existen hasta la actualidad. En este sentido, el uso de productos naturales ha contribuido en la gestión de diversas enfermedades a lo largo de los años.

Encontrar metabolitos que tengan afinidad con el GLP-1R es una forma de disminuir los niveles de glucosa en sangre, ya que fisiológicamente el GLP-1 cuando interacciona con su receptor (GLP-1R) incrementa la insulina y reduce el glucagón, además este receptor se expresa en varios órganos diana como el Sistema Nervioso Central (SNC) produciendo el efecto de saciedad y contribuyendo a la disminución del peso; en el corazón tiene efecto vasodilatador reduciendo moderadamente la presión arterial y el estrés oxidativo, entre otros efectos positivos que presenta (69).

Por ello, es beneficioso encontrar compuestos naturales que tengan interacción con el GLP-1R, ya que, en distintas referencias se menciona que los análogos sintéticos que tienen como farmacóforo a la GLP-1 producen diversos efectos secundarios como náuseas, vómitos y diarrea (50), incluso no es recomendado a personas con antecedente de cáncer de tiroides o alguna neoplasia endocrina, sin mencionar que con el tiempo generan resistencia sobre el sitio catalítico.

Dentro de los principales compuestos de la *Minthostachys* se encuentra al timol, carvacrol y mentona, los mismos que están en el Diccionario de Productos Naturales (DNP) como metabolitos secundarios con propiedades antidiabéticas (8).

Hasta el momento no hay investigaciones de los fitoquímicos de la muña como potenciales antidiabéticos, pero si hay estudios sobre los monoterpenos que son la clase a la que pertenecen algunos de los principales compuestos de los aceites esenciales extraídos de la muña antes mencionados (70). Por ello, se ve el potencial y la necesidad de realizar estudios computacionales de interacción con plantas medicinales como es la *Minthostachys* para observar su efecto antidiabético en relación con la GLP-1R.

## 4.2 ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

- **Phytochemicals of *Minthostachys diffusa* Epling and Their Health-Promoting Bioactivities**
  1. **Autores:** Immacolata Faraone, Daniela Russo, Lucia Chiummiento, Eloy Fernandez, Alka Choudhary, Magnus Monné, Luigi Milella and Dilip K. Rai.
  2. **Revista y año:** MDPI, 2020
  3. **Resumen:** El género *Minthostachys* pertenece a la familia Lamiaceae y es un importante género sudamericano que se utiliza comúnmente en la medicina popular como aroma en la cocina. Las muestras ricas en fitoquímicos de las partes aéreas de *Minthostachys diffusa* Epling. Se analizaron bioactividades farmacológicas y que promueven la salud mediante ensayos químicos y enzimáticos in vitro. Una gama de actividades eliminadoras de radicales de las muestras contra radicales biológicos como el óxido nítrico y el anión superóxido y contra el ácido 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo y 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) sintéticos. Los radicales, el poder antioxidante reductor férrico y la inhibición de la peroxidación lipídica se determinaron y clasificaron utilizando el 'índice de capacidad antioxidante relativa' (RACI). La fracción de acetato de etilo mostró el RACI más alto de +1,12. El análisis de la capacidad inhibidora de las distintas fracciones contra las enzimas implicadas en la diabetes ( $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa) y contra las enzimas asociadas con las enfermedades de Parkinson o Alzheimer (acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa) también sugirió que la fracción de acetato de etilo era la más activa. El análisis de cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem de la fracción de acetato de etilo mostró más de 30 compuestos polifenólicos, incluidos triterpenos. Los efectos inhibidores de la colinesterasa de los triterpenos identificados en *M. diffusa* se analizaron más detalladamente mediante el acoplamiento in silico de estos compuestos en estructuras tridimensionales de acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa. Este es el primer estudio sobre las actividades farmacológicas y el perfil fitoquímico de las partes aéreas de *M. diffusa*, y muestra que esta planta, normalmente utilizada como alimento en América del Sur, también es rica en fitoquímicos que promueven la salud (71).

- **In-silico and In-vitro Hybrid Approach to Identify Glucagon-Like Peptide1 Receptor Agonists From Anti-Diabetic Natural Products**
  1. **Autores:** Debanjan Chatterjee, Nazmina Vhora, Ashutosh Goswami, Aishwarya Hiray, Alok Jain and Abhijeet S. Kate
  2. **Revista y Año:** Taylor & Francis, 2022
  3. **Resumen:** Los productos naturales han contribuido enormemente al tratamiento de diversas enfermedades, incluida la diabetes. Aquí se analizó y preseleccionó una base de datos de pequeñas moléculas naturales con propiedades antidiabéticas en función de su diversidad estructural. Posteriormente, esas estructuras fueron analizadas mediante estudios de acoplamiento in silico para comprender su afinidad hacia el receptor del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1R). Las moléculas seleccionadas se aislaron e investigaron más a fondo mediante enfoques integrados in vitro e in silico. Se descubrió que la alfa-mangostina era adecuada debido a su excelente puntuación de acoplamiento y rendimiento de aislamiento. Se utilizó una línea de células beta pancreáticas para probar la actividad de la alfa-mangostina y se observó un aumento de 3 veces en la secreción de insulina en comparación con el control de glucosa 15 mM. Además, los estudios de simulaciones de dinámica molecular in-silico han validado su objetivo al mostrar cambios conformacionales en la parte funcionalmente activa del receptor GLP-1. Esta estrategia de detección se puede aplicar para identificar rápidamente productos naturales pertinentes para diversos objetivos terapéuticos (8).
  
- **Novel insights into the dynamics behavior of Glucagon-Like Peptide-1 Receptor with its small molecule Agonists**
  1. **Autores:** Khyati Girdhar, Budheswar Dehury, Mahender Kumar Singh, Vineeth P Daniel, Abhinav Choubey, Surbhi Dogra, Sunil Kumar & Prosenjit Mondal
  2. **Revista y Año:** Taylor & Francis, 2018
  3. **Resumen:** El receptor del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1R) es un objetivo bien conocido de las industrias terapéuticas para el tratamiento de diversas enfermedades metabólicas como la diabetes tipo 2 y la obesidad. Las relaciones estructurales y funcionales de los agonistas de moléculas pequeñas

y el GLP-1R aún no se comprenden. Por lo tanto, se hizo un intento con agonistas de GLP-1R estructuralmente conocidos (Compuesto 1, Compuesto 2, Compuesto A, Compuesto B y (S)-8) para estudiar su interacción con el dominio extracelular de GLP-1R. En este estudio, exploramos la dinámica, la estabilidad intrínseca y los mecanismos de unión de estas moléculas mediante modelado computacional, acoplamiento, simulaciones de dinámica molecular (MD) y estimación de la energía libre de unión de MM/PBSA. El estudio de acoplamiento molecular demostró que la interacción hidrofóbica (apilamiento de pipis) desempeña un papel crucial en el mantenimiento de la estabilidad del complejo, lo que también fue respaldado por el análisis intermolecular del estudio de simulación MD. El análisis de componentes principales sugirió que los extremos terminales junto con las vueltas/bucles que conectan hélices y hebras adyacentes exhiben un movimiento comparativamente mayor de los átomos de la cadena principal en la mayoría de los complejos. El estudio de energía libre de unión de MM/PBSA reveló que la energía de solvatación no polar (van der Waals y electrostática) subsidia significativamente la energía de unión total y la energía de solvatación polar se opone a los agonistas de unión a GLP-1R. En general, proporcionamos información sobre las características estructurales de los complejos GLP-1R que serían propicias para el descubrimiento de nuevos agonistas de GLP-1R en el futuro para el tratamiento de diversas enfermedades metabólicas (7).

- **Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil of Peruvian *Minthostachys mollis* Griseb**
  1. **Autores:** Julio Benites, Angélica Guerrero-Castilla, Felipe Salas, José L. Martinez, Rafael Jara-Aguilar, Edmundo A. Venegas-Casanova, Luz Suarez-Rebaza, Juana Guerrero-Hurtado & Pedro Buc Calderon.
  2. **Revista y Año:** Boletín latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 2018.
  3. **Resumen:** La composición del aceite esencial obtenida por hidrodestilación a partir de partes aéreas de *Minthostachys mollis* Griseb (Lamiaceae) se procesa mediante GC y GC/MS. Mentona (13,2%), pulegona (12,4%), junto con cis-dihidrocarvona (9,8%) y acetato de carvacrol (8,8%) fueron los principales componentes del aceite esencial. La actividad citotóxica del aceite

esencial se midió in vitro utilizando el ensayo colorimétrico MTT tanto en células sanas no tumorales (HEK-293) como en tres líneas celulares de cáncer humano (T24, DU-145 y MCF-7). Los valores de IC50 calculados fueron alrededor de 0,2 mg/mL. Además, se considera la actividad antioxidante por su interacción con el radical libre 2,2"-difeníl-1-picrilhidrazilo. El aceite esencial tiene baja actividad antioxidante, lo que indica que su acción antiproliferativa depende de otro mecanismo desconocido (52).

- **Antidiabetic Potential of Monoterpenes: A Case of Small Molecules Punching above Their Weight**

1. **Autores:** Solomon Habtemariam

2. **Revista y Año:** MDPI, 2018

3. **Resumen:** Los monoterpenos pertenecen a la clase de terpenoides de productos naturales y se biosintetizan a través de la vía del ácido mevalónico. Su pequeño peso molecular, junto con su alta naturaleza no polar, los convierte en los componentes más abundantes de los aceites esenciales, que a menudo se considera que tienen algunos efectos antioxidantes y antimicrobianos generales en concentraciones bastante altas. Sin embargo, en los últimos años se ha informado que estos compuestos tienen efectos antidiabéticos. Gracias a la ingeniosa maquinaria biosintética de la naturaleza, también muestran un buen grado de complejidad/diversidad estructural para su mayor consideración en estudios de estructura-actividad. En la presente comunicación, se examina el mérito de los monoterpenos como agentes antidiabéticos mediante la evaluación de estudios recientes in vitro e in vivo publicados en la literatura científica. Tanto las agliconas como los glucósidos de estos compuestos de tamaño estructural bastante pequeño parecen mostrar efectos antidiabéticos junto con efectos antiobesidad e hipolipemiantes. Se discute la diversidad de estos efectos vis-a-vis sus estructuras y mecanismos de acción. Algunos objetivos farmacológicos clave incluyen las vías de señalización de la insulina y/o la PI3K-AKT (proteína quinasa B) asociada, el receptor  $\gamma$  activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR $\gamma$ ), el transportador de glucosa 4 (GLUT4) y la proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK). caminos; citoquinas proinflamatorias y la vía NF- $\kappa$ B; glucogenólisis y gluconeogénesis en el hígado; receptor tipo glucagón-1 (GLP-1R); entre otros (72).

## 5. HIPÓTESIS

Mediante el uso de herramientas avanzadas de química teórica y biología computacional, es factible determinar con precisión las propiedades fisicoquímicas y termodinámicas de la interacción entre el receptor GLP-1 con diversos metabolitos presentes en la *Minthostachys mollis* (muña), lo que permitirá identificar a los metabolitos que activan al receptor GLP-1 como posibles agentes terapéuticos para la diabetes.

**Alternativa (H1):** Al menos uno de los metabolitos secundarios estudiados de la *Minthostachys mollis* interactúa de manera significativa con el GLP-1R, generando una alta energía de afinidad con el receptor representando un potencial efecto antidiabético.

**Nula (H0):** No hay interacción significativa entre los metabolitos secundarios de la *Minthostachys mollis* y el GLP-1R, lo que implica que estos metabolitos no generan una alta energía de afinidad con el receptor ni tienen efecto antidiabético.



## **CAPÍTULO II MATERIALES Y MÉTODOS**

## 1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

### 1.1 TÉCNICAS: COMPONENTES DEL MÉTODO IN SILICO

#### 1.1.1 OBTENCIÓN DE ESTRUCTURAS DE LAS BASES DE DATOS:

Extraer mediante el uso de páginas web de recolección de estructuras moleculares los diferentes archivos que describen las coordenadas de las estructuras necesarias tanto del receptor de la GLP -1 en la base de datos Protein Data Bank (RCSB PDB), y de los compuestos moleculares Timol, Carvacrol y Mentona provenientes de la *Minthostachys mollis* (muña) de la base de datos PubChem.

#### 1.1.2 PROCESAMIENTO DE ESTRUCTURAS MOLECULARES:

Optimizar la estructura proteica cristalizada de la GLP-1R limpiando las moléculas de agua y completando con los aminoácidos o residuos correspondientes la secuencia faltante del receptor con el programa UCSF CHIMERA y la extensión del programa mencionado MODELLER. Por otro lado, en el caso de los compuestos interactuantes o ligandos, ya habiendo obtenido el archivo de las coordenadas, también será necesario obtener el archivo de su topología, con el servidor en línea LigParGen, para el mejoramiento de las cargas atómicas de los ligandos con ayuda del programa Gaussian 16, específicamente usando el método AM1 para hallar las posiciones atómicas más exactas; y, CAM-B3LYP junto con Hirshfeld para obtener cargas más reales de los átomos.

#### 1.1.3 CONSTRUCCIÓN DEL COMPLEJO GLP1R-DPPC:

- **Generar una topología para la proteína:** orientar de manera adecuada a la proteína en el eje XYZ y definir la topología de este eligiendo el campo de fuerza OPLSAA en GROMACS.
- **Ampliar el campo de fuerza:** obtener la estructura de la membrana DPPC, limpiarla y definir su topología, modificando el campo de fuerza OPLSAA describiendo las moléculas que componen la membrana.
- **Empaquetar los lípidos alrededor de la proteína:** debido al tamaño de la proteína debemos modificar el tamaño de la membrana multiplicándolo por cuatro, luego definiremos una caja para poder colocar en este espacio las estructuras de la proteína y membrana. Luego pasaremos a ejecutar un script que nos permite expandir la membrana en el cual se borrarán los

lípidos que pueden interceptar la estructura de la GLP-1R y así obtener un sistema adecuado y realista, finalmente compactaremos la membrana alrededor de la proteína con el uso de otro script.

- **Solvatar y neutralizar sistema:** generar nueva topología, añadir agua como solvente e iones para neutralizarlo y de esta manera obtener una solución con un pH neutral.
- **Realizar minimización de energía:** para garantizar que se tiene un sistema equilibrado para los próximos procesos es necesario este paso.
- **Equilibrar sistema:** Se deberá realizar con un pequeño tiempo de simulación un ensamble NVT, que es el número constante de moléculas, volumen y temperatura; y un ensamble NPT, que es número constante de moléculas, presión y temperatura para poder verificar que el sistema se encuentra en equilibrio.

#### 1.1.4 SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA MOLECULAR DEL COMPLEJO GLP1R-DPPC:

- **Generar la topología de la GLP1R-DPPC:** Con el uso de la opción PDB2GMX se creará la topología, la cual contiene toda la información necesaria para definir la molécula dentro de una simulación.
- **Definir la caja y el solvente:** Al realizar este paso podremos ubicar al complejo en un espacio con una forma cúbica, triclinica, de octaedro y dodecaedro para posteriormente solvatar este espacio con moléculas de agua.
- **Añadir iones:** para poder mantener una solución neutralizada o con un nivel de pH requerido, en este caso, el del cuerpo humano que es 7.40, se tendrá que añadir átomos de sodio y cloro.
- **Realizar una minimización de energía:** es necesario este proceso para mantener estable el complejo a lo largo de la simulación y no existan choques estéricos ni una geometría inapropiada. En este proceso utilizaremos una serie de archivos importantes que nos proporcionarán la topología del sistema armado, las coordenadas de los átomos incluidos en el sistema y las instrucciones para el desarrollo del cálculo.
- **Equilibrar sistema:** ya habiendo construido el sistema isocórico será necesario hacer que este sistema además sea isotérmico (NVT) e isobárico

(NPT), de la misma manera que en la minimización de energía, también serán de gran utilidad los archivos que nos dan las coordenadas, la topología y las instrucciones en donde definiremos la magnitud de la presión (1 bar) y la temperatura (309.65 K = 36.5°C). Se debe realizar la simulación del NVT con un tiempo de 50 ns y del NPT con un tiempo de 200 ns.

- **Analizar la simulación:** se graficará RMSD (Root Mean Square Deviation), RMSF (Root Mean Square Fluctuation) y radio de giro para poder determinar el comportamiento del sistema a lo largo del tiempo simulado.
- **Realizar gráfico de Ramachandran:** utilizando el servidor en línea PDBSum podremos determinar si la estructura del complejo después de ser procesado es factible en la realidad o naturaleza.

### 1.1.5 ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LOS LIGANDOS NATURALES AL COMPLEJO FORMADO (DOCKING):

Mediante el uso del programa AutoDockVina, complemento del programa UCSF Chimera, se realizarán mil ensayos con un método estocástico en los cuales determinaremos la posición de los ligandos Timol, Carvacrol y Mentona en la superficie del receptor de la GLP-1 mediante la elección del mejor ensayo teniendo en cuenta la menor energía de afinidad.

### 1.1.6 SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA MOLECULAR DE LOS COMPLEJOS GLP1R-DPPC Y LIGANDOS NATURALES:

- **Preparar estructuras de los complejos formados:** Después de la selección del ensayo más factible será necesario editar el archivo que contiene las coordenadas del complejo para poder usarlo en la simulación junto con la topología de ambas estructuras que componen el complejo.
- **Generar la topología de la GLP1R-DPPC-ligando:** Con el uso de la opción PDB2GMX se creará la topología, la cual contiene toda la información necesaria para definir las estructuras dentro de una simulación.
- **Definir la caja y el solvente:** Al realizar este paso podremos ubicar al complejo en un espacio con una forma cúbica, triclinica, de octaedro y dodecaedro posteriormente solvatar el espacio con moléculas de agua.

- **Añadir iones:** para poder mantener una solución neutralizada o con un nivel de pH requerido, en este caso, el del cuerpo humano que es 7.40, se tendrá que añadir átomos de sodio y cloro.
- **Realizar una minimización de energía:** es necesario este proceso para mantener estable el complejo a lo largo de la simulación y no existan choques estéricos ni una geometría inapropiada. En este proceso utilizaremos una serie de archivos importantes que nos proporcionaran la topología del sistema armado, las coordenadas de los átomos incluidos en el sistema y las instrucciones para el desarrollo del cálculo.
- **Equilibrar sistema:** ya habiendo construido el sistema isocórico será necesario hacer que este sistema además sea isotérmico (NVT) e isobárico (NPT), de la misma manera que en la minimización de energía, también serán de gran utilidad los archivos que nos dan las coordenadas, la topología y las instrucciones en donde definiremos la magnitud de la presión (1 bar) y la temperatura (309.65 K). Se debe realizar la simulación del NVT con un tiempo de 10 ns y NPT con un tiempo de 100 ns.
- **Analizar la simulación:** graficar RMSD, RMSF y radio de giro para poder determinar el comportamiento del sistema a lo largo del tiempo simulado.

#### 1.1.7 ANÁLISIS DE INTERACCIÓN RECEPTOR-LIGANDO:

- **Enlaces formados:** Usar el servidor en línea PDBSum para poder determinar los contactos y enlaces formados entre la GLP-1R y los ligandos después de la simulación de la dinámica molecular del complejo.
- **Cálculo de MM/PBSA (Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area):** Con la función `g_mmpbsa` del programa GROMACS se calculará las energías implicadas en la interacción proteína-ligando. Aquí se podrán obtener los valores de diferentes energías como Van Der Waals, electrostática, de solvatación polar, de superficie y de volumen que como suma nos darán el valor de la energía de unión.
- **Cálculo de APBS:** Con la asistencia del servidor en línea Poisson-Boltzmann se usarán las herramientas PDB2PQR para poder convertir el archivo `.pdb` final de la simulación de la dinámica molecular al archivo `.pqr`, y APBS, para determinar el potencial energético de la superficie de

la estructura de la GLP-1R y poderlo visualizar en el programa UCSF Chimera.

## 1.2 INSTRUMENTOS

### 1.2.1 Muestras

Estructuras moleculares como proteínas, receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1R) y compuestos químicos como Timol, Carvacrol y Mentona que tienen la función de agonistas, extraídos de las bases de datos PDB (Protein Data Bank) y PubChem.

### 1.2.2 Hardware

Computadora de alto rendimiento con las siguientes características:

- Estación de Trabajo: Procesador Ryzen 5 con una velocidad de Reloj 3.5GHz, Memoria RAM de 32GB, 02 GPUs GTX 4070, con 4 discos duros de 6Tb, 4Tb, 1Tb y 1Tb M2.

### 1.2.3 Softwares

Gromacs v.2023.3, UCSF Chimera v.1.16, UCSF ChimeraX v.1.8, Python v.3.8.10, Gaussian 16, AutoDock Vina v.1.2.0 y APBS v.3.4.1.

Servidores en línea: Lig Par Gen y PDB sum.

## 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 2.1 ÁMBITO:

La investigación se realizará virtualmente en el Centro de Investigación de Ingeniería Molecular-CIIM de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa. Perú.

### 2.2 TEMPORALIDAD

El presente trabajo de investigación se ejecutará en el periodo comprendido entre marzo del 2024 y diciembre del 2024.

### 2.3 UNIDADES DE ESTUDIO

Se utilizará estructuras moleculares presentes en la base de datos Gaussian View y Protein Data Bank.

### 2.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN

#### 2.4.1 Criterios de Inclusión

- Compuestos moleculares presentes en la *Minthostachys mollis*.

- Compuestos que hayan demostrado en investigaciones anteriores su afinidad con la GLP-1R.
- Estructuras completas en las bases de datos y con buena resolución.
- Estructuras en 3D.

#### 2.4.2 Criterios de Exclusión

- Compuestos moleculares que no se encuentren en la *Minthostachys mollis*.
- Compuestos de la muña los cuales no presentan afinidad con la GLP-1R según investigaciones anteriores.
- Estructuras incompletas en las bases de datos y con baja resolución.
- Estructuras en 2D.

### 3. ESTRATEGIAS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

#### 3.1 ORGANIZACIÓN

Para comenzar la presente investigación se hará una exhaustiva revisión bibliográfica asociada a la búsqueda de base de datos en Protein Data Bank, lo que nos permitirá seleccionar las estructuras moleculares de la GLP-1R y a través de PubChem los ligandos: carvacrol, timol y mentona.

Luego se procederá a ejecutar cada uno de los pasos presentes en la [Figura F](#) para optimizar las estructuras y simular el complejo GLP-1R-DPPC, para después hacer posible el acoplamiento molecular del complejo mediante el software AutoDockVina.

Se emplearán posteriormente técnicas de simulación de dinámica molecular de los complejos usando la opción PDB2GMX de GROMACS.

Para el cálculo de las diferentes energías se utilizará la función `g_mmpbsa` de APBS que servirá para determinar el potencial energético de la superficie de la estructura de la GLP-1R y así poder analizar los resultados, a través de los diferentes visualizadores como MM/PBSA y LigPlot.

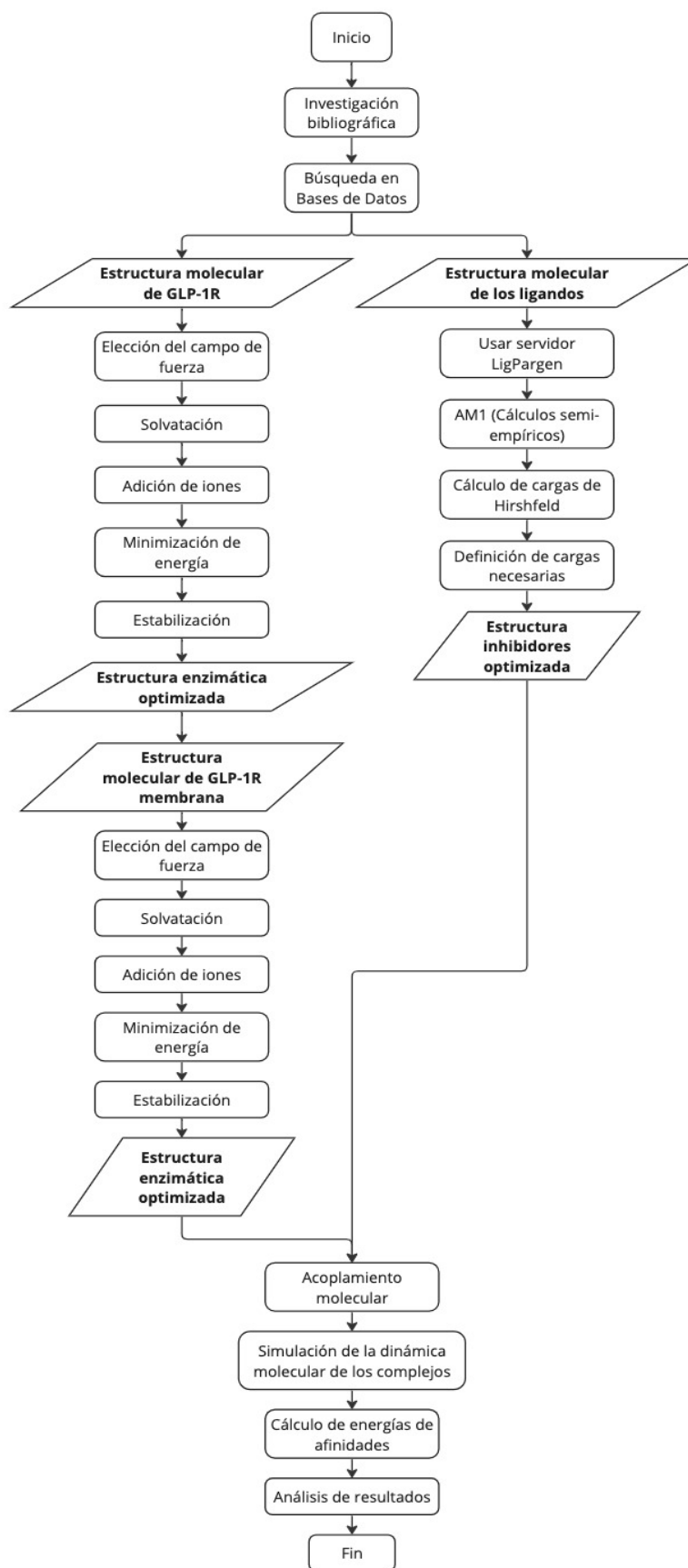


Figura F. Diagrama de Flujo del Proceso de Investigación

## 3.2 RECURSOS

### 3.2.1 Humanos

- Investigador
- Asesores

### 3.2.2 Institucionales

- Facultad de Medicina Humana de la Universidad Católica de Santa María.
- Centro de Investigación en Ingeniería Molecular – CIIM

### 3.2.3 Materiales

- Muestras: Estructuras moleculares como proteínas, receptor del péptido similar al glucagón 1 (GLP-1R) y compuestos químicos como thymol, carvacrol y carvona que tienen la función de agonistas, extraídos de bases de datos como PDB (Protein Data Bank) o PubChem.
- Hardware: Computadora de alto rendimiento las siguientes características:
  - Estación de Trabajo: Procesador Ryzen 5 con una velocidad de Reloj 3.5GHz, Memoria RAM de 32GB, 02 GPUs GTX 4070, con 4 discos duros de 6Tb, 4Tb, 1Tb y 1Tb M2.
- Softwares:
  - Gromacs v.2023.3, Chimera UCSF v.1.16, Python v.3.8.10, Gaussian 16, AutoDock Vina v.1.2.0 y APBS v.3.4.1.
  - Servidores en línea: Lig Par Gen, PDB sum.

### 3.2.4 Financieros

Autofinanciado

## 3.3 VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

El presente estudio no requiere validación de instrumento, ya que, la validación en estudios de docking molecular generalmente implica la comparación de los resultados de la predicción con datos experimentales conocidos o con datos de referencia, si están disponibles. Sin embargo, es importante destacar que, aunque la validación es crucial para garantizar la precisión y la fiabilidad de los resultados de docking, no se refiere a la validación de un instrumento físico en sí, sino más bien a la validación de los métodos y algoritmos computacionales utilizados en el proceso de predicción de interacciones moleculares.

### 3.4 CRITERIOS ÉTICOS

El presente trabajo no presenta dilemas éticos ni requiere la aprobación de un comité de ética, puesto que, no utiliza información personal ni muestras biológicas vivas, además no intervienen seres vivos como tal, todo es a través del uso de simulaciones en computadoras de alto rendimiento, por ello, no genera ningún potencial de riesgo ni vulnerabilidad de los principios éticos para las investigaciones médicas.





**CAPÍTULO III RESULTADOS**

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

**Figura 1.** Estructura obtenida del Protein Data Bank con el código 7KI1, sombreado de morado tenemos a la GLP-1R, el resto comprende la GLP-1 y el complejo G



### 1. OBTENCIÓN DE ESTRUCTURAS DE LAS BASES DE DATOS

#### 1.1 GLP-1R

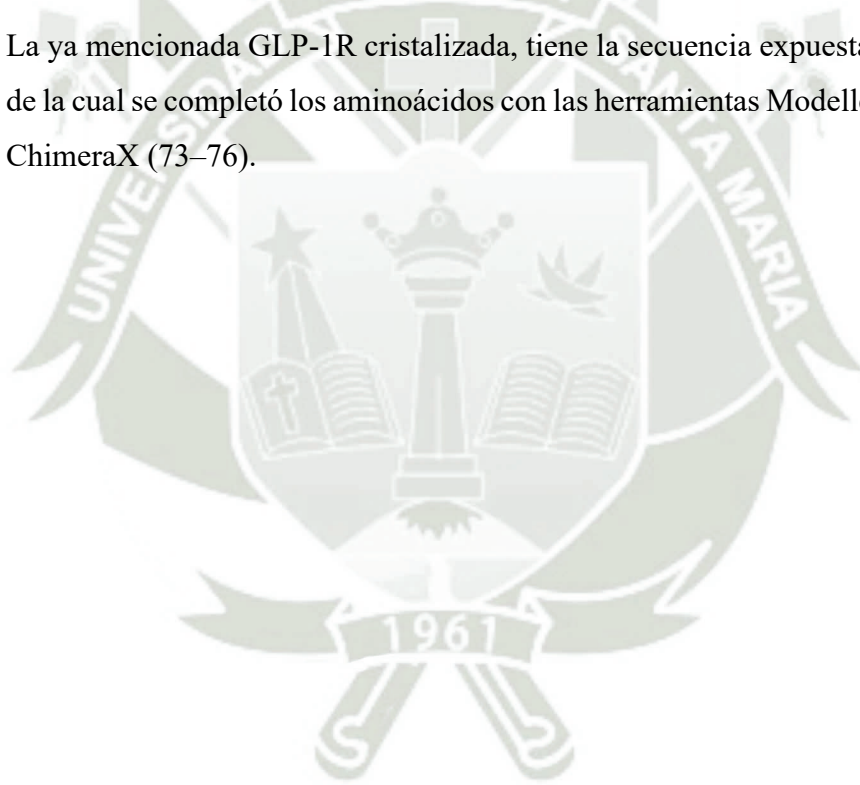
Para obtener la estructura molecular del Glucagon Protein Like 1 Receptor, la cual está sombreada de color morado, se requirió el uso de la base de datos Protein Data Bank, de la cual se obtuvo la estructura experimental con el código 7KI1 ([ver Figura 1](#)) que fue extraída mediante microscopía electrónica con una resolución de 2.5 Å<sub>(73)</sub>; además, contiene las estructuras del complejo de la proteína G y la GLP-1 coloreados de color gris.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Tabla 1.** Secuencia de Aminoácidos de GLP-1R

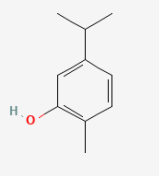
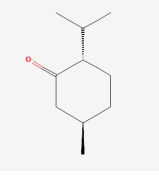
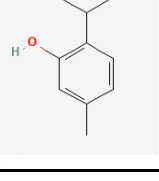
<b>Código</b>	<b>Nombre Científico</b>	<b>AA</b>	<b>Secuencia de aminoácidos</b>
7K11	GLP-1R	491	MKTII...HHHHH

La ya mencionada GLP-1R cristalizada, tiene la secuencia expuesta en la [Tabla 1](#) de la cual se completó los aminoácidos con las herramientas Modeller del software ChimeraX (73–76).



**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Tabla 2.** Compuestos de Origen Natural provenientes de la *Minthostachys mollis*

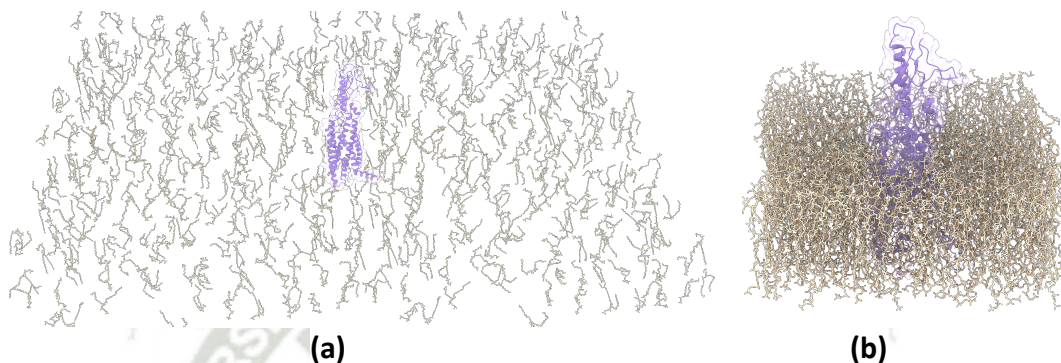
Compuesto	Código	Identificador	Estructura
Carvacrol	CID 10364	CVC	
Mentona	CID 26447	MTN	
Timol	CID 6989	TML	

### 1.1 COMPUESTOS DE ORIGEN NATURAL PROVENIENTES DE *MINTHOSTACHYS MOLLIS*

De la misma manera, se obtuvieron las estructuras de los compuestos químicos interactuantes utilizados en este estudio, de la base de datos PubChem, como podemos observar en la [Tabla 2](#) (77), luego se obtuvieron los archivos de coordenadas en el formato .gro y la topología del ligando utilizando el servidor en línea LigParGen (78), estos compuestos luego de ser descargados fueron optimizados en sus posiciones atómicas y su carga con el programa Gaussian 16 (79) con los métodos AM1 y CAM-B3LYP (Hirshfeld), respectivamente.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

**Figura 2.** Proceso de construcción del complejo GLP1R-DPPC (a) Membrana dilatada; y, (b) Membrana comprimida

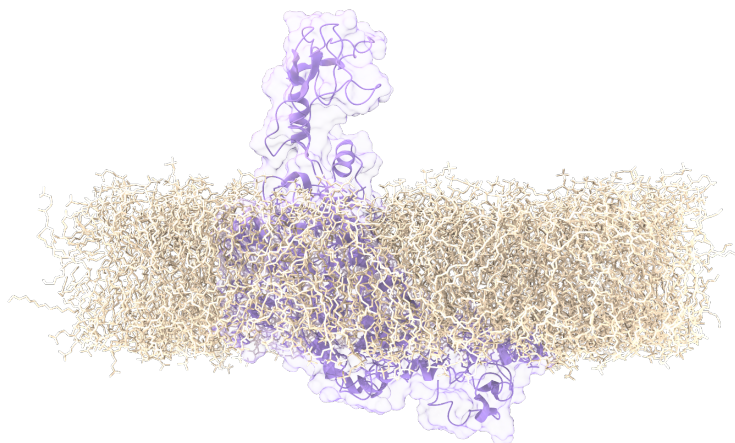


### 2. CONSTRUCCIÓN DEL COMPLEJO GLP1R- DPPC

Habiendo obtenido la estructura molecular completa de la GLP-1R y un modelo de la estructura de una membrana celular compuesta por moléculas de dipalmitoil fosfatidil colina (DPPC) (80) se procedió a la construcción de un sistema que comprenda ambos complejos moleculares para simular, de una manera más adecuada, la realidad. Para lograr lo anterior mencionado, se concatenaron ambos archivos que contienen las coordenadas de las estructuras; sin embargo, para obtener el complejo tal cual la realidad no es suficiente solo concatenar ambas estructuras; sino que se tuvo que realizar un proceso de dilatación y compresión de la membrana hasta obtener un área por lípido de  $62 \text{ \AA}^2$  (como se puede observar en la [Figura 2](#)); proceso en el cual se tuvieron que eliminar moléculas de DPPC, en la posición en la que se colocó el receptor, en un radio específico de  $14 \text{ \AA}$  para que estas no se superpongan en los residuos ni en los canales o los bolsillos que puedan haberse formado dentro de la GLP-1R.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

**Figura 3.** Sistema isocórico-isotérmico-isobárico estable después de una simulación de dinámica molecular de la GLP1R-DPPC de 200 ns.

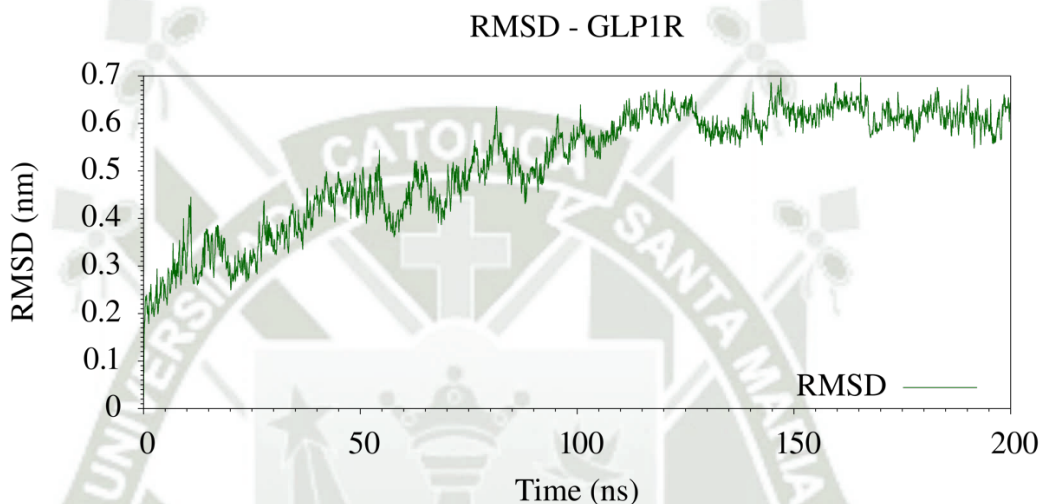


### 3. SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA MOLECULAR DEL COMPLEJO GLP1R-DPPC

Para poder replicar las condiciones en la que se puede desarrollar el receptor junto con la membrana, se construyó un sistema en un espacio triclinico solvatado con moléculas de agua a una concentración de 0.15 M de NaCl, además de ser isobárico, isotérmico e isocórico con 1.66171 bar, 309.65 K, 2493.32 nm<sup>3</sup> y 983.008 kg/m<sup>3</sup> constantes, respectivamente. El sistema se puso en estas condiciones a lo largo de una trayectoria de 200 ns ([Figura 3](#)), para garantizar la estabilidad del complejo formado dentro del sistema, con las condiciones establecidas.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

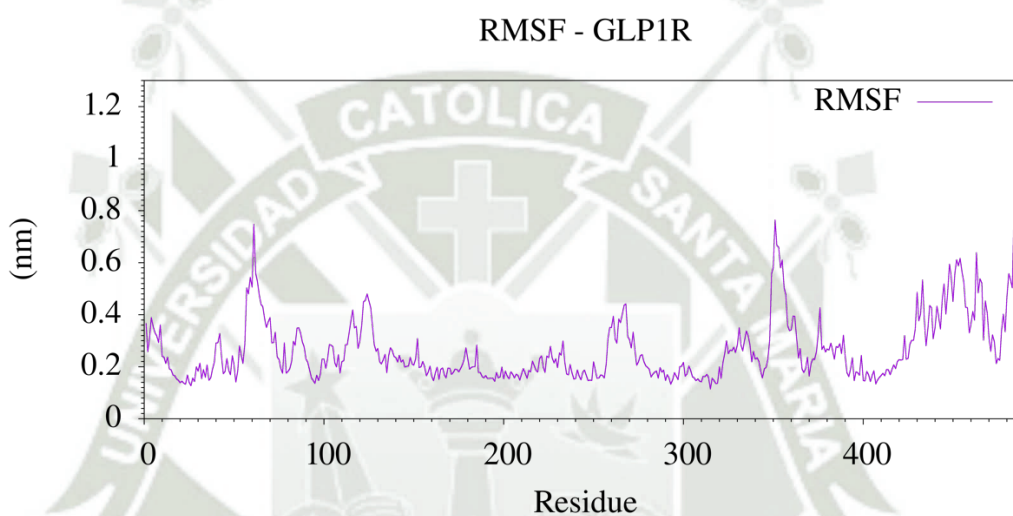
**Figura 4.** Gráfico de la desviación de la raíz media cuadrática de la posición de los átomos en nm del receptor GLP-1R, durante 200 ns.



Como se aprecia en la [Figura 4](#), en el gráfico de la raíz media cuadrática de la posición de los átomos del receptor GLP-1R, se pueden apreciar diferentes picos y valles que representan el movimiento y la trayectoria de los átomos de la proteína, en nanómetros (nm), a lo largo de un tiempo, puesto en nanosegundos (81). En la curva se puede ver claramente una oscilación significativa de la trayectoria en los primeros 130 ns, que a partir de los 150 ns disminuye, observando que solo varía en un rango menor de 0.2 nm, lo que significa que el sistema logra una estabilidad al final de la trayectoria.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

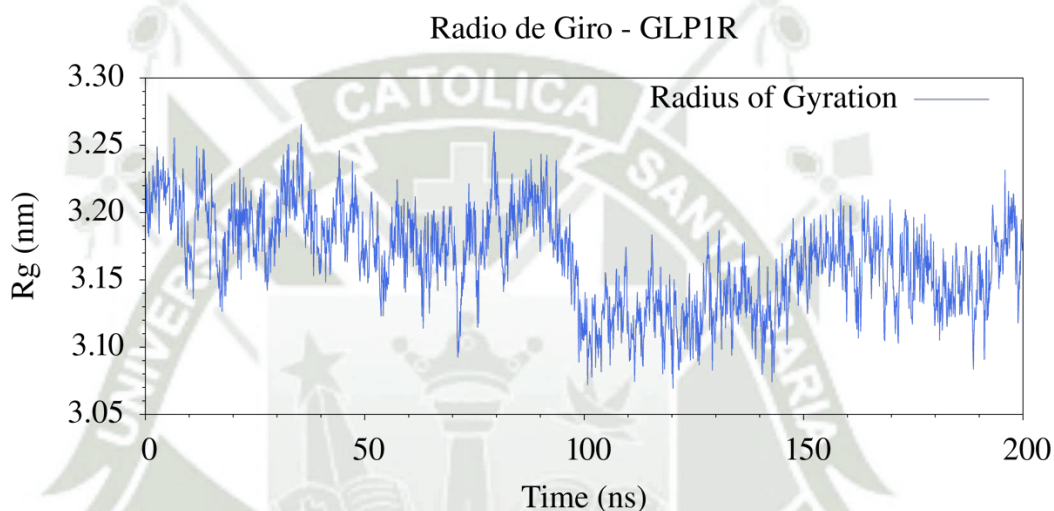
**Figura 5.** Gráfico de la fluctuación de la raíz media cuadrática, en nanómetros, de cada uno de los residuos del receptor GLP-1R.



Por otro lado, en la [Figura 5](#) podemos observar la fluctuación de la raíz media cuadrática de los residuos de la GLP-1R, de la que se puede discernir mediante los picos prominentes que residuos exactamente se mueven a lo largo de toda la dinámica molecular, en este caso particular vemos como los residuos del 50 al 70, 340 al 360 y 480 al 491 del receptor tienen un mayor movimiento. Esto luego será comparado con los sistemas construidos junto con los compuestos interactuantes de origen natural, en donde se verán diferencias con respecto a este gráfico y se podrá establecer que ligandos específicos ejercen un cambio en la GLP-1R.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

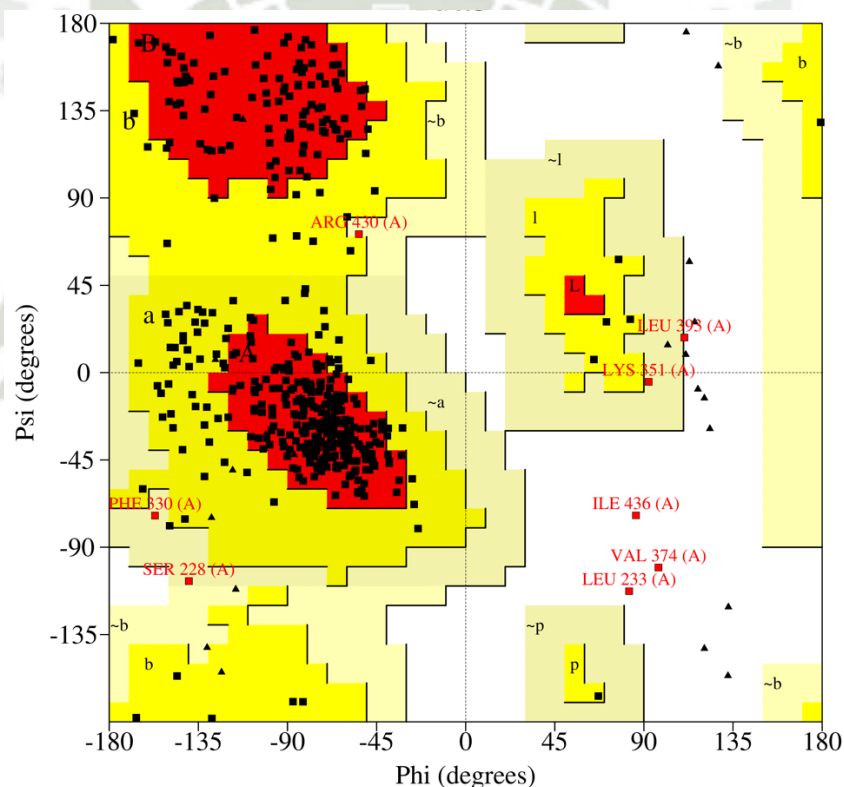
**Figura 6.** Gráfico de la variación del radio de giro, en nanómetros, del receptor GLP-1R a lo largo de 200 ns de simulación.



En el caso de la [Figura 6](#), podemos ver el radio de giro del receptor, o, en otras palabras, el grado de compactación o plegamiento de una proteína en su estructura tridimensional, puesta en nanómetros, a lo largo de toda la trayectoria, en nanosegundos. En dicha curva se puede ver como entre los 90 y 100 ns ocurre una drástica compactación en el sistema, que luego va aligerando permitiendo la flexibilidad de la proteína hasta llegar a un radio de 3.19 nm; viendo que esta comenzó con un radio de aproximadamente 3.23 nm, podemos concluir que la GLP-1R sufrió una muy ligera compactación después de la simulación de la dinámica molecular, en resumen, esta proteína se mantiene estable con su forma inicial obtenida en la base de datos PDB.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

**Figura 7.** Gráfico de Ramachandran de la GLP-1R después de haber sido procesada. Residuos en regiones más favorecidas (rojo): 78.5%. Residuos en regiones permitidas adicionales (amarillo): 19.7%. Residuos en regiones generosamente permitidas (crema): 0.9%. Residuos en regiones no permitidas (blanco): 0.9%. Total de residuos: 100%.



Como está expuesto en la [Figura 7](#) realizada con PDBsum (82), se puede concluir que la conformación de la estructura del receptor GLP-1R, después de haber pasado por el tratamiento de una simulación de la dinámica molecular, puede darse naturalmente y no es una estructura imposible, debido a que los aminoácidos ubicados en las regiones permitidas y favorables es más del 90%.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Tabla 3.** Energía de afinidad presente en la interacción proteína-ligando del mejor ensayo de cada complejo formado por los diferentes compuestos.

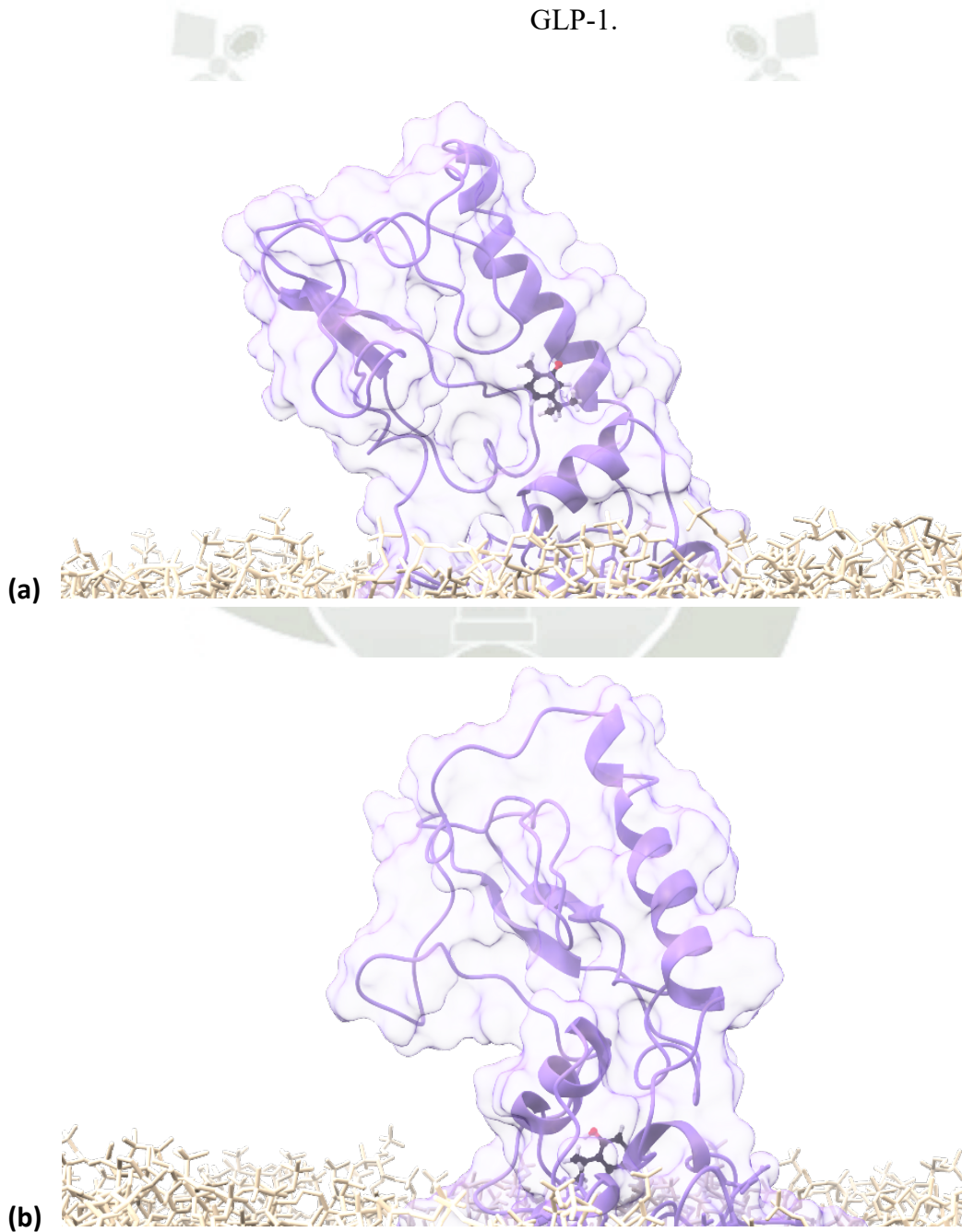
<b>Compuestos Acoplados</b>	<b>Número de Ensayo</b>	<b>kcal/mol</b>
CVC	575	-5.510
TML	750	-5.333
MTN	141	-5.224

**4. ACOPLAMIENTO MOLECULAR DE LIGANDOS NATURALES AL COMPLEJO FORMADO (DOCKING MOLECULAR)**

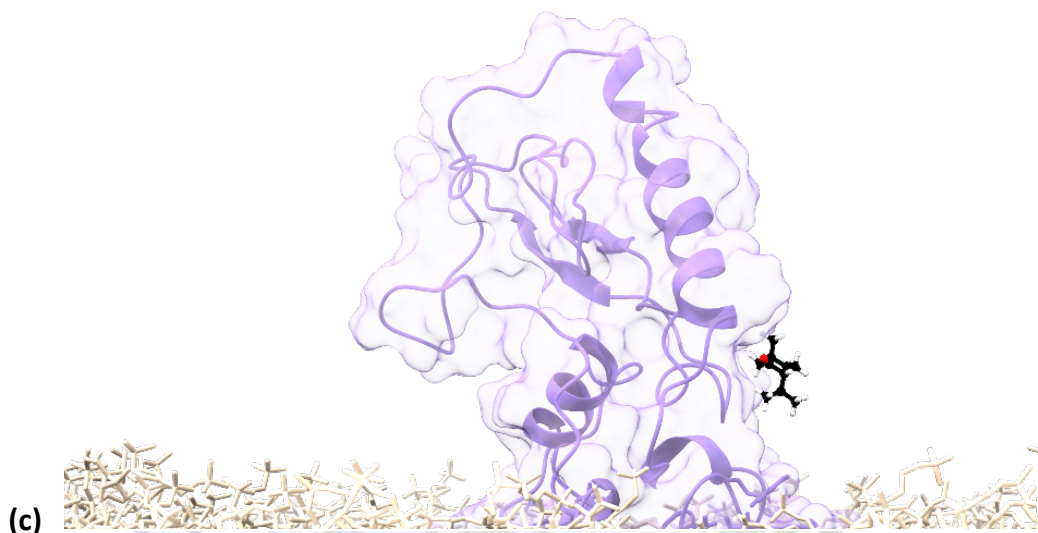
En este proceso de la investigación se utilizaron las estructuras 3D de los ligandos extraídos de la base de datos mencionada anteriormente, PubChem, ya optimizadas en estructura y cargas, para acoplarlas al complejo estabilizado GLP1R-DPPC. En este paso, se realizaron 1000 ensayos con un método estocástico usando el programa AutoDockVina (83), con cada uno de los compuestos interactuantes de origen natural, siendo un total de 3000 ensayos; de los cuales solamente se seleccionó 1 de cada mil ensayos, discriminando las variables por la energía de interacción obtenida. Obteniendo como resultado las energías respectivas especificadas en la [Tabla 3](#).

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Figura 8.** Representación gráfica del acoplamiento molecular de los compuestos de origen natural (a) CVC, (b) TML y (c) MTN en la estructura del receptor GLP-1.



**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**



Para poder realizar un análisis superficial sobre la ubicación de este acoplamiento en cada caso, se usó el visualizador UCSF Chimera X (74), ya antes mencionado, del cual se extrajo lo expuesto en la [Figura 8](#). En el caso del sistema en el que se acoplo el ligando Carvacrol con el receptor embebido en la membrana, se puede observar que se ubicó en la región extracelular de la GLP-1R en un bolsillo formado internamente en la proteína; por otro lado, en el caso del complejo que incluye el ligando Timol, la posición de acoplamiento se ve más orientado a la región transmembranal, debido a que aquí se encuentra el bolsillo principal de la proteína, lugar donde se forma una especie de canal, ya antes mencionado en el proceso de construcción del sistema GLP1R-DPPC. Por último, tenemos al acoplamiento del ligando Mentona que al igual que con el CVC, se ubica en la región extracelular, pero en un bolsillo de la superficie más externa del receptor. Estos cálculos estocásticos solo permitieron ubicar de manera correcta los metabolitos naturales en la estructura del GLP-1R, por lo que no son resultados concluyentes solo son aproximaciones, que durante los siguientes procesos, específicamente la simulación de la dinámica molecular, la posición de estos ligandos en la proteína puede o no modificarse por cambios conformacionales.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Tabla 4.** Construcción de los sistemas isocóricos, isotérmicos e isobáricos de los complejos  
GLP1R-DPPC y los ligandos naturales

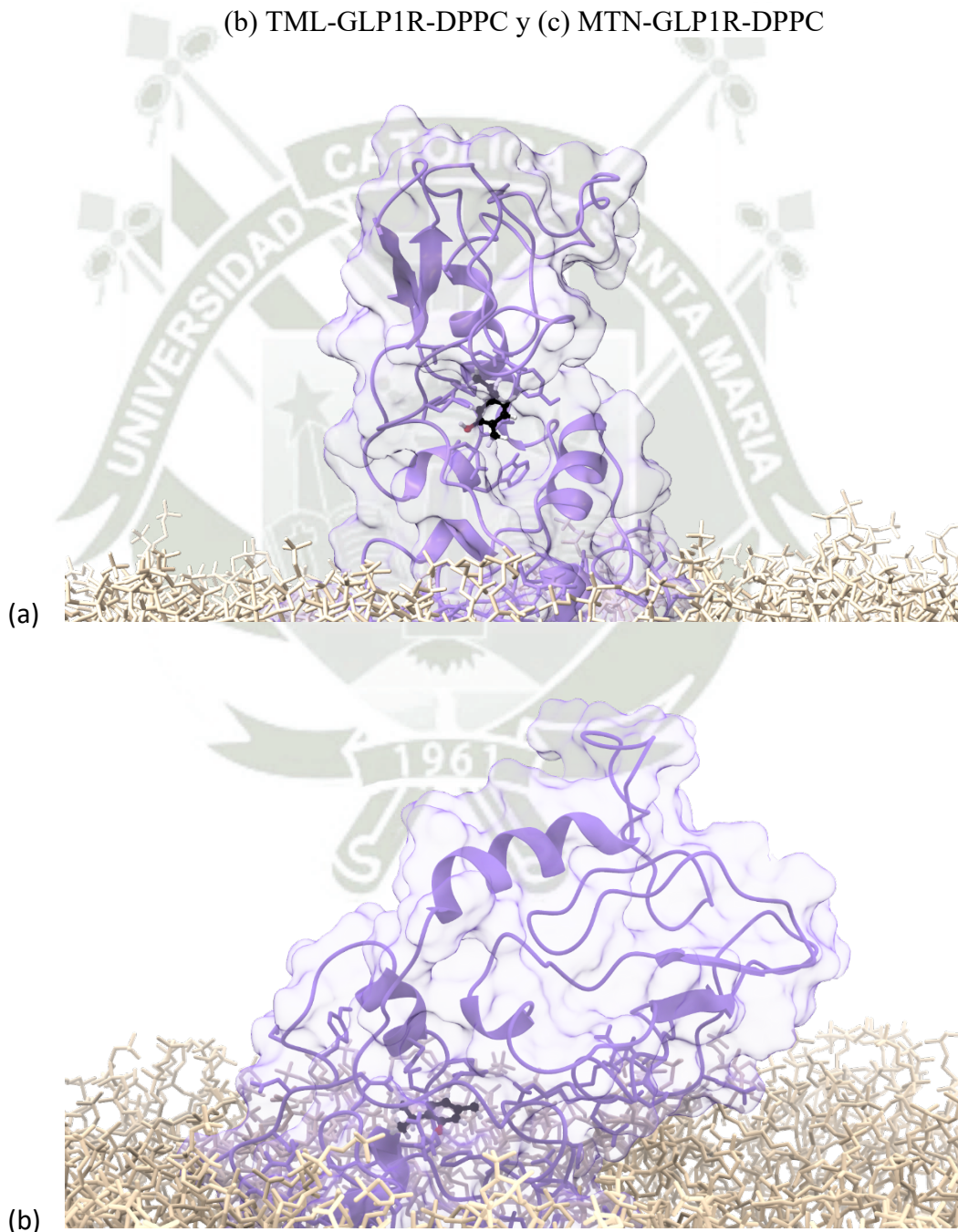
Unidades	Volumen (nm <sup>3</sup> )	Densidad (kg/m <sup>3</sup> )	Temperatura (K)	Presión (bar)
TML	2633.68	985.952	309.651	1.63318
CVC	2603.12	986.131	309.651	1.62573
MTN	2603.17	986.036	309.651	1.62236

**5. SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA MOLECULAR DE LOS  
COMPLEJOS GLP1R-DPPC Y LIGANDOS NATURALES**

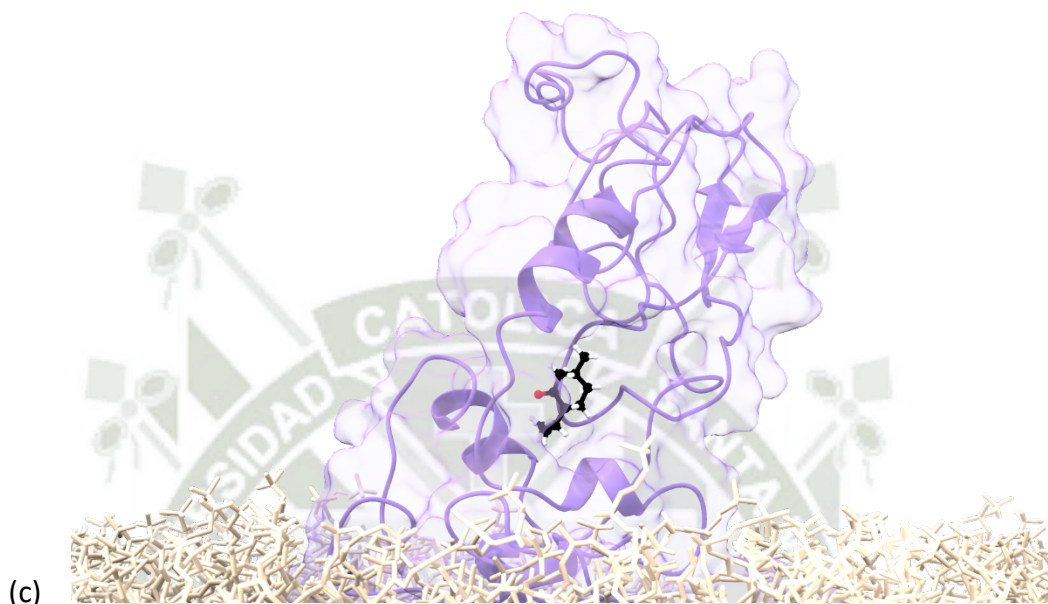
Después de obtener las coordenadas de acoplamiento de cada compuesto interactuante de origen natural, se pudo armar el complejo final junto con el receptor GLP-1 y la membrana DPPC. De la misma manera que con el complejo GLP1R-DPPC, con los ligandos naturales se construyeron sistemas isocóricos, isotérmicos e isobáricos; específicamente, con el compuesto TML se logró alcanzar un volumen constante de 2633.68 nm<sup>3</sup>, una densidad constante de 985.952 kg/m<sup>3</sup>, una temperatura de 309.651 K y una presión de 1.63318 bar; en el caso del ligando CVC se obtuvo un sistema con un volumen constante de 2603.12 nm<sup>3</sup>, una densidad de 986.131 kg/m<sup>3</sup>, una temperatura de 309.651 K y una presión de 1.62573 bar; finalmente, para el complejo formado por el compuesto MTN se lograron establecer las magnitudes constantes de 2603.17 nm<sup>3</sup>, 986.036 kg/m<sup>3</sup>, 309.651 K y 1.62236 bar. Siendo así que todos estos sistemas fueron colocados en una simulación de una duración de 100 ns.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Figura 9.** Representación gráfica de la estructura resultante al término de la simulación de la dinámica molecular de los complejos (a) CVC-GLP1R-DPPC, (b) TML-GLP1R-DPPC y (c) MTN-GLP1R-DPPC



**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**



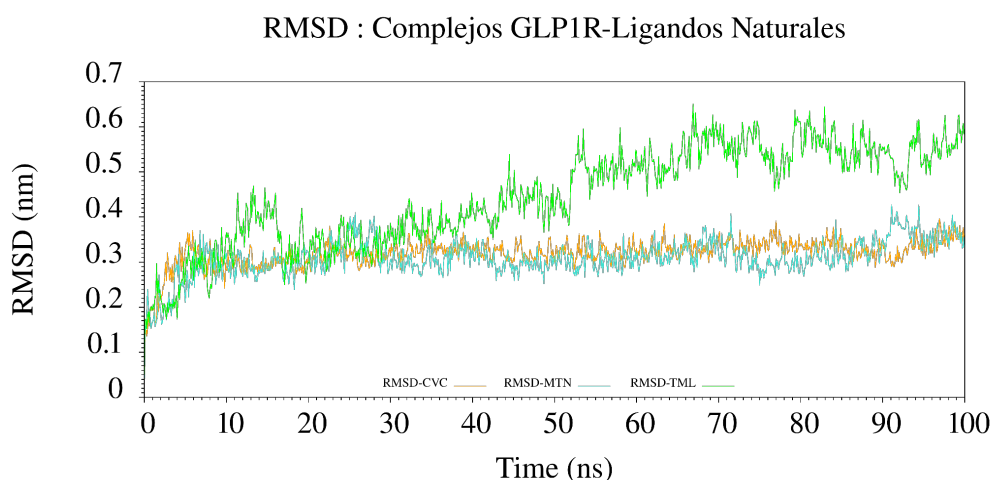
Al término de los 100 ns antes mencionados, se obtuvo una imagen de cada complejo, como se puede ver en la [Figura 9](#), para, de esta manera, observar los cambios en la estructura que ocurrieron a lo largo de la simulación.

En el caso del complejo compuesto por el ligando CVC vemos que no ocurrieron cambios significativos; en la estructura que comprende al metabolito TML vemos que el ligando se mantuvo en el sitio activo en el que se acoplo desde un inicio, además, de que al parecer, debido a una fuerte afinidad o energía de unión, este ligando permitió que la región extracelular del receptor GLP-1 viajara hacia un lado acercándose más a la membrana; por último, en el caso del complejo con el compuesto MTN se pudo observar que el ligando penetró más en la superficie de la proteína, a diferencia de la posición en la que se encontraba en el docking, donde estaba muy por fuera de la superficie con un probable riesgo de desacoplarse.

De esta manera se logró determinar que los compuestos interactuantes de origen natural si presentan una afinidad con el receptor.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

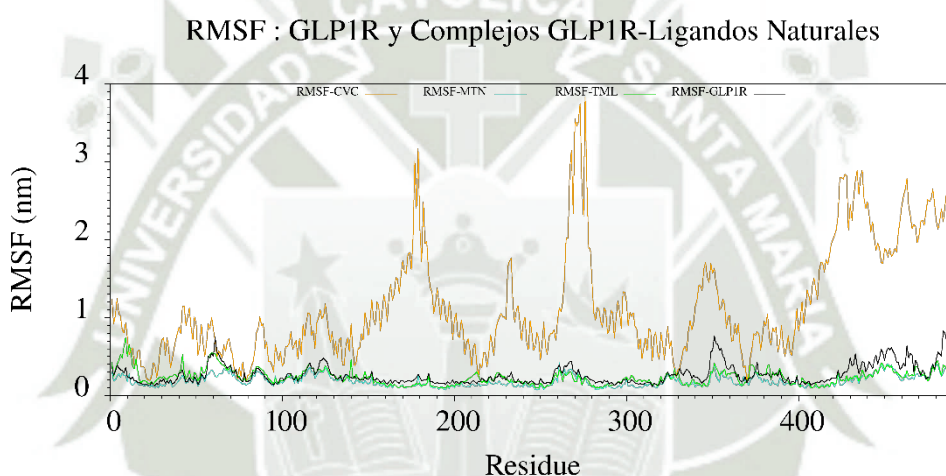
**Figura 10.** Gráfico de la desviación media cuadrática de la posición de los átomos en nanómetros de cada sistema formado con los respectivos ligandos a lo largo de 100 ns. Se muestra en anaranjado la curva de trayectoria del complejo formado por el ligando CVC; de celeste, por MTN; y de verde, por TML.



En el caso de la desviación de la raíz media cuadrática se realizó un gráfico en el que se puedan comparar las trayectorias de los diferentes complejos formados a lo largo del tiempo de simulación. Y como se puede observar en la [Figura 10](#), se ven las curvas formadas por los cambios de las posiciones de los átomos de cada complejo a nivel de proteína-ligando, a lo largo de 100 nanosegundos; en las que vemos un comportamiento similar entre los complejos formados por los compuestos carvacrol y mentona llegando a un aparente equilibrio desde aproximadamente los 39 nanosegundos; habiendo una pequeña perturbación en la curva del compuesto MTN-GLP1R en los 90 nanosegundos. A diferencia del complejo compuesto por timol y el receptor de la GLP-1, que tarda más en parecer estable, por presentar fluctuaciones, estas no son significativas, ya que los picos no son mayores al rango de 0.2 nm.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

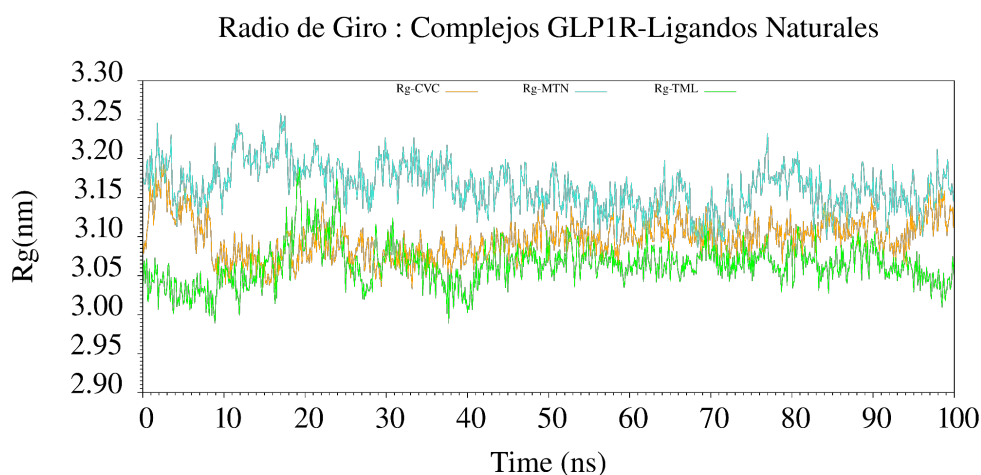
**Figura 11.** Gráfico de la fluctuación media cuadrática de la posición de los residuos del receptor GLP-1 en nanómetros de cada sistema formado con los respectivos ligandos. Se muestra en anaranjado la curva de trayectoria del complejo formado por el ligando CVC; de celeste, por MTN; de verde, por TML; y de negro, GLP-1R sin ligando.



Por otro lado, en el caso de la fluctuación de la raíz media cuadrática de los residuos de la proteína proyectada en la [Figura 11](#), podemos ver que los complejos formados por el Timol y la Mentona mantienen un comportamiento muy similar al complejo solo formado por la GLP-1R sin los ligandos, lo que significa que estos compuestos naturales no generan cambios posicionales significativos en los residuos del receptor. En cambio, con el complejo constituido por el Carvacrol y el receptor de la GLP-1, se ve que ocurren fluctuaciones en casi todos los aminoácidos que constituyen a la proteína, lo que significa que esta unión entre ligando y receptor permite que los residuos de la GLP-1R sean más flexibles y tengan tendencia a moverse más, lo que afecta la estabilidad.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

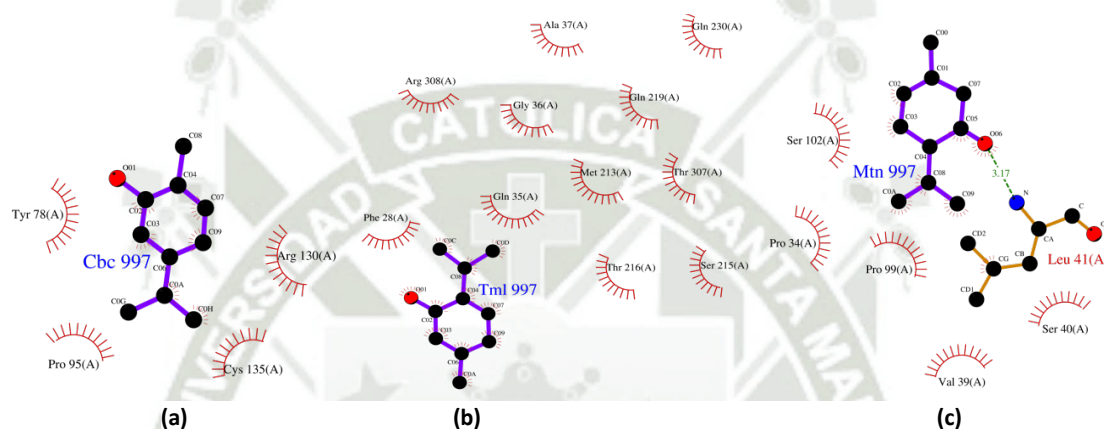
**Figura 12.** Gráfico que dibuja la variación del radio de giro del receptor GLP-1 en nanómetros de cada sistema formado con los respectivos ligandos a lo largo de 100 ns. Se muestra en anaranjado la curva de trayectoria del complejo formado por el ligando CVC; de celeste, por MTN; y de verde, por TML.



Por último, debemos analizar el grado de compactación de los complejos, por lo que fue necesario realizar un gráfico donde se pueda representar lo mencionado anteriormente, como en la [Figura 12](#), en la que podemos ver 3 comportamientos diferentes, en el caso del complejo CVC, observamos que existen variaciones en la curva a lo largo de la trayectoria, pero el radio de giro se expande ligeramente; en el del TML, se mantiene; y en el de la MTN se comprime o compacta ligeramente; pero en general, en el gráfico no se ven cambios bruscos desde el inicio hasta el final de cada curva; por lo tanto, podemos decir que hay una estabilidad de los complejos.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

**Figura 13.** Representación de las interacciones entre ligandos naturales (a) CVC, (b) TML y (c) MTN y el receptor GLP-1, especificando los enlaces y contactos formados con ciertos residuos de la proteína.



### 6. ANÁLISIS DE INTERACCIÓN RECEPTOR-LIGANDO:

#### 6.1 ENLACES FORMADOS:

Para comenzar, mediante el servidor PDBsum (81) logramos obtener los enlaces generados en las interacciones de proteína-ligando, con ayuda del visualizador LigPlot (84). Aquí se determinó que en el caso específico del CVC ([Figura 13 \(a\)](#)) solamente se generaron 12 contactos no enlazantes, 5 con la tirosina 78, 1 con la prolina 95, 4 con la arginina 130 y 2 con la cisteína 135; en el caso del complejo compuesto por el TML ([Figura 13 \(b\)](#)) se formaron 32 contactos no enlazantes, 6 con la fenilalanina 28, 10 con la glutamina 35, 2 con la glicina 36, 1 con la alanina 37, 5 con la metionina 213, 1 con la serina 215, 1 con la treonina 216, 1 con la glutamina 219, 1 con la glutamina 230, 3 con la treonina 307 y 1 con la arginina 308; finalmente, en la interacción entre la MTN ([Figura 13 \(c\)](#)) y GLP-1R se formaron 16 contactos no enlazantes, 2 con la prolina 34, 3 con la valina 39, 2 con la serina 40, 2 con la leucina 41, 4 con la prolina 99 y 3 con la serina 102, además de un enlace de hidrógeno con la leucina 41, lo que favorece la estabilidad de la interacción.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Tabla 5.** Energía libre de unión de interacción proteína-ligando de los complejos

Energía (Kcal/mol) Complejos	Van der Waal	Electrostática	Solvatación Polar	SASA	SAV	Unión
TML	-28.27±1.96	-187.79±10.61	64.72±3.95	-2.97±0.15	-30.09±3.39	-184.40±9.32
MTN	-26.05±2.33	-2.38±1.34	8.24±1.69	-2.99±0.16	-29.61±4.38	-52.79±5.76
CVC	-21.69±2.96	-0.64±1.27	8.22±2.31	-2.97±0.16	-27.00±5.06	-44.09±7.25

## 6.2 CÁLCULO DE MM/PBSA (Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area):

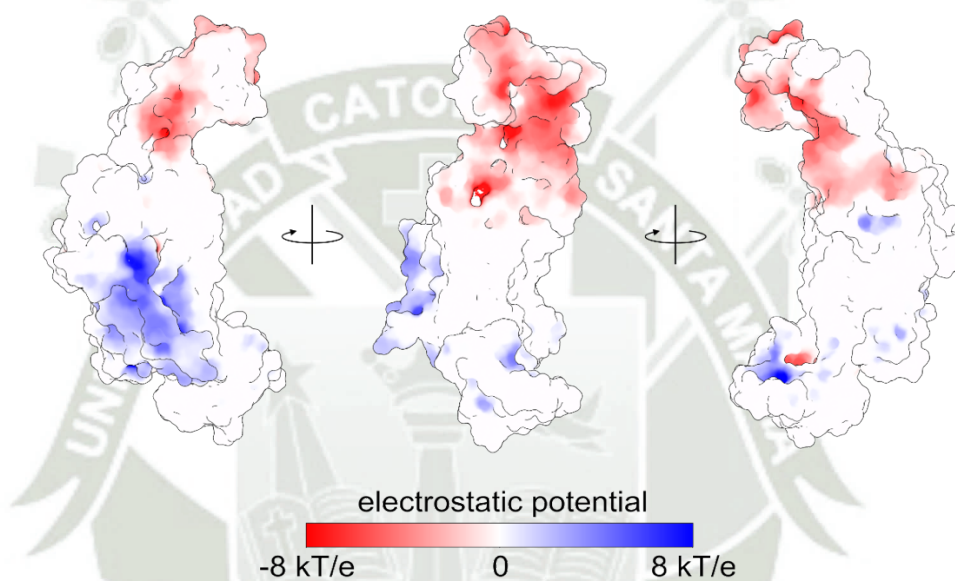
Para determinar la afinidad entre proteína-ligando se utilizó el método MM/PBSA con el cual se calculó todas las energías que intervienen en esta interacción. Los anillos aromáticos de los ligandos pueden ser determinantes para el valor de la energía de Van der Waals, por ello todos los complejos tienen un valor negativo ([Tabla 5](#)), es decir, encajan en la cavidad hidrofóbica (sitio de unión) del receptor, destacándose el complejo formado por el timol, ya que presenta el valor más negativo, por su unión en la región transmembranal del GLP-1R.

La energía electrostática en el caso específico del timol, contiene un grupo hidroxilo, el cual posee una carga parcial negativa, presentando una buena atracción electrostática con residuos de la GLP-1R. Por otro lado, en la solvatación polar, el timol posee una energía más positiva que los demás, indicándonos que la solvatación en agua de este compuesto es menos favorable en términos energéticos por sus regiones hidrofóbicas como el grupo isopropilo y metilo. En el caso de SASA y la energía SAV, los tres complejos formados tienen una energía similar, ya que todos los ligandos se han unido en algún bolsillo de la proteína GLP-1R, no interactuando con el solvente.

Por último, tenemos a la energía de unión que es la suma de todas las energías mencionadas anteriormente, siendo así que mientras más negativa la energía, tenemos una unión más fuerte y estable, como en el caso del timol.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

**Figura 14.** Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e de la GLP-1R antes de pasar por el proceso de simulación de la dinámica molecular del complejo ligando-GLP1R-DPPC.

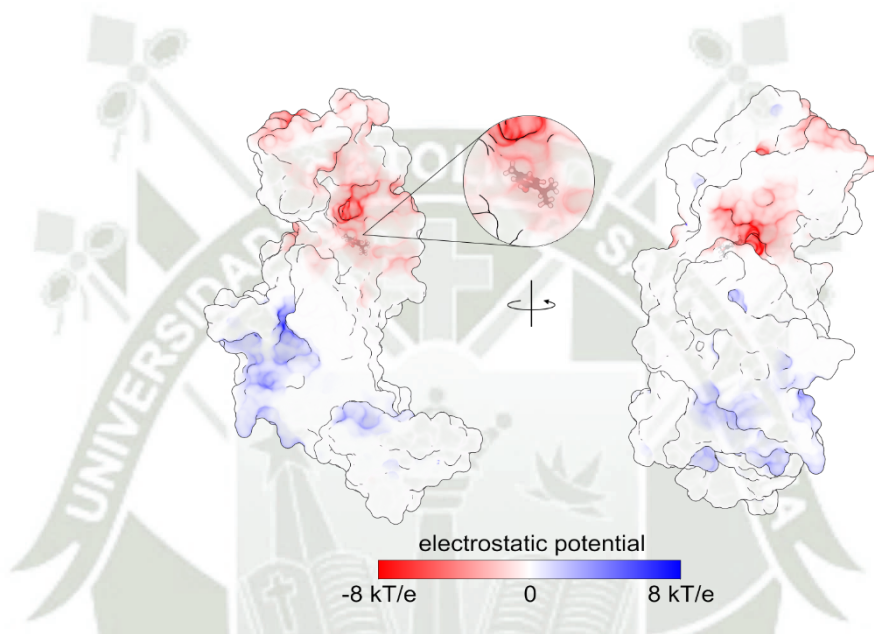


### 6.3 RESULTADOS DE APBS:

Para evidenciar si los compuestos interactuantes de origen natural producen más cambios en la superficie de la GLP-1R, se realizó el análisis del potencial electrostático con el uso del método APBS (85) y se visualizó con ayuda de UCSF Chimera X (74). En todas las imágenes realizadas con el visualizador se agregó una escala en la que se representa el rango de potencial que se tomó en cuenta de -8 a 8 kT/e. Para efecto de comparar, primero se realizó este análisis con la superficie de la GLP-1R estable, antes de ser utilizada para el proceso de simulación del complejo ligando-GLP1R-DPPC; tal como, se observa en la [Figura 14](#) esta mantiene una carga negativa en la región extracelular del receptor GLP-1R, totalmente contrario a la región intracelular que muestra una carga positiva; esto puede deberse a la carga positiva que tiende a tener la GLP-1, que es el sustrato natural de dicho receptor.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

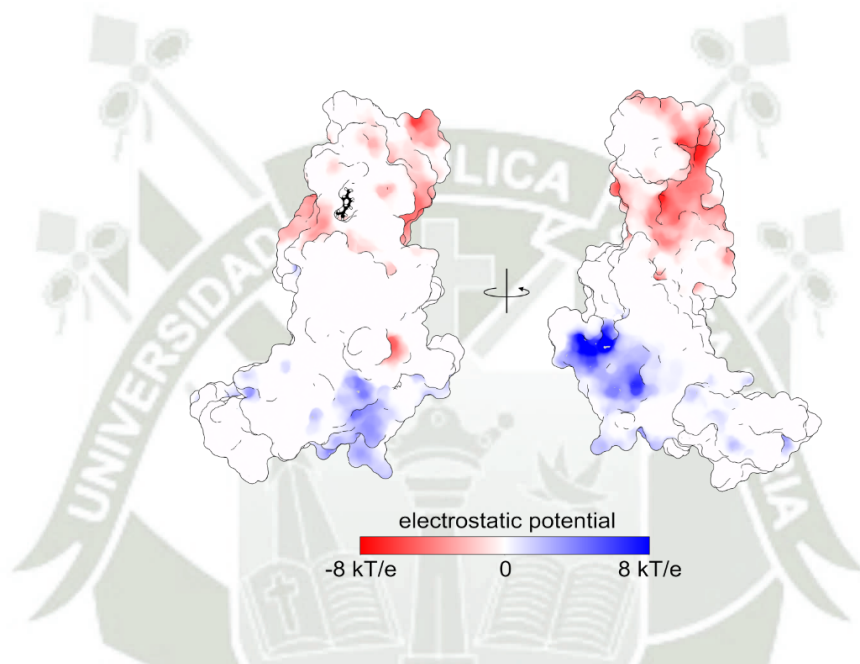
**Figura 15.** Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e del complejo TML-GLP1R después de la simulación de la dinámica molecular.



Asimismo, vemos que la carga positiva de la región intracelular se mantiene en los casos de los complejos formados con los ligandos naturales; por otro lado, vemos que en el caso del complejo que es formado por el compuesto TML (ver [Figura 15](#)), concentra la carga negativa en el sitio activo en el que se llevó a cabo la interacción neutralizando el resto de área extracelular del receptor, demostrándose así la alta afinidad que tienden a tener ambas moléculas; además de que por ser el bolsillo en donde normalmente los agonistas de la GLP-1R se unen, puede presentar un punto positivo más para el uso de tratamientos que se complementen.

## IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA *MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR

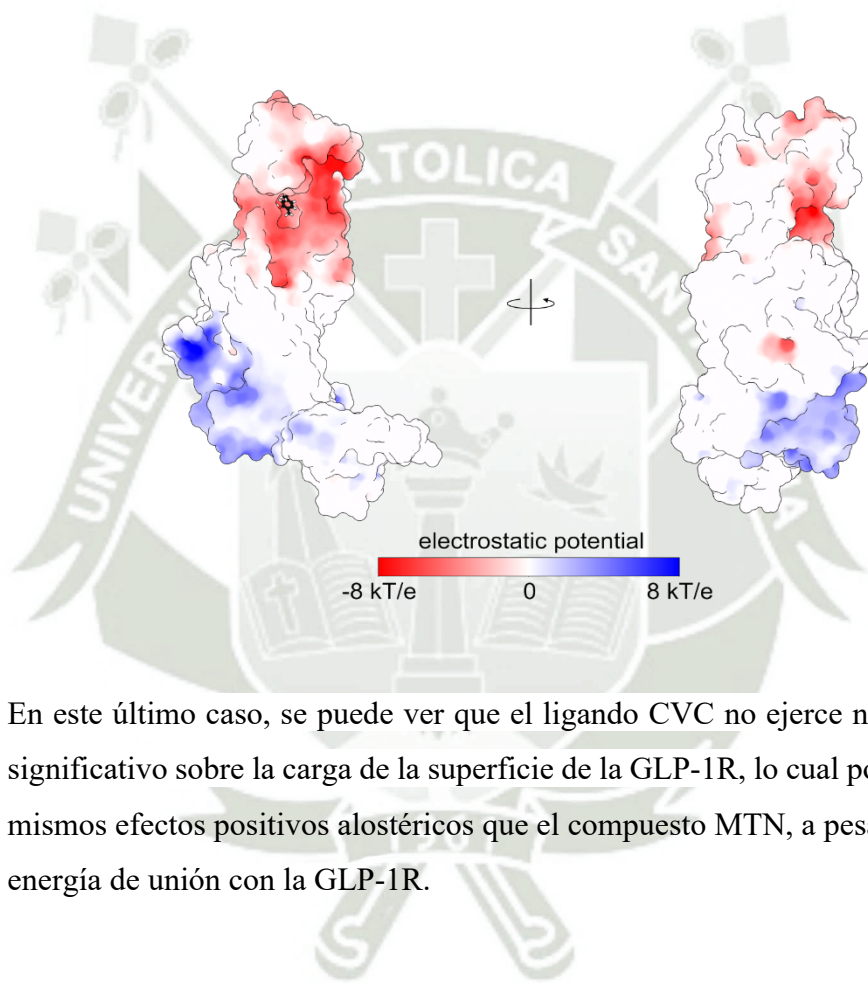
**Figura 16.** Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e del complejo MTN-GLP1R después de la simulación de la dinámica molecular.



Con el complejo formado por el compuesto MTN la situación con la región intracelular no fue diferente, ya que se mantuvo la carga positiva; en la región extracelular hubo cambios. Al contrario que con el ligando TML, el lugar de interacción se neutralizó y el resto de la región se mantuvo con la carga negativa; lo cual también es positivo, ya que, al unirse en un sitio alostérico puede trabajar ayudando la acción de la GLP-1 sobre la GLP-1R o junto con otro tratamiento.

**IDENTIFICACIÓN DEL POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DE LA  
*MINTHOSTACHYS MOLLIS* (MUÑA) IN SILICO MEDIANTE LA  
ESTIMULACIÓN DEL GLP-1R POR SIMULACIÓN DE DINÁMICA  
MOLECULAR**

**Figura 17.** Representación gráfica del potencial electrostático (APBS) en kT/e del complejo CVC-GLP1R después de la simulación de la dinámica molecular.



En este último caso, se puede ver que el ligando CVC no ejerce ningún cambio significativo sobre la carga de la superficie de la GLP-1R, lo cual podría tener los mismos efectos positivos alostéricos que el compuesto MTN, a pesar de su baja energía de unión con la GLP-1R.



**CAPÍTULO IV DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y  
RECOMENDACIONES**

## DISCUSIÓN

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad muy prevalente a nivel mundial, que irá en aumento en los años próximos, caracterizada por la escasa secreción de insulina o resistencia a esta. Dentro de todos los tipos de diabetes, el tipo 2 es el más común y el que se podría decir, tiene más factores de riesgo relacionados siendo los más importantes la genética y la obesidad, afectando así la vida de muchas personas (3).

Su clínica es muy característica, pero lo más frecuente es no presentar síntomas hasta el debut relacionado a las complicaciones micro o macrovasculares.

Comprender la fisiopatología de la diabetes ha ayudado a crear dianas terapéuticas para el manejo de la enfermedad y la prevención de complicaciones (38). Uno de los tratamientos que ha estado teniendo más auge en los últimos tiempos son los agonistas del receptor similar al glucagón 1 (GLP-1R) por su acción insulínica dependiente de glucosa, así como beneficios para reducir la ingesta de alimentos y del peso corporal (9), sumado a esto está el renovado interés en los sistemas tradicionales de medicina donde las plantas vuelven a ser usadas para el tratamiento de la diabetes.

Últimamente, los estudios *in silico* han ayudado con las investigaciones sobre potenciales fármacos para diversas enfermedades y los productos naturales también han contribuido a su tratamiento como observamos en el estudio “*In silico* identification of antidiabetic target for phytochemicals of *A. marmelos* and mechanistic insights by molecular dynamics simulations” (12), donde comprueba las nuevas investigaciones que se están realizando en el intento de crear nuevos tratamientos en base a hierbas con potencial medicinal, que estén al alcance de todas las personas y con menos efectos adversos. Además, podemos ver que lo mencionado anteriormente no solo es una evidencia sobre los fitoquímicos como potenciales metabolitos para tratar la diabetes, sino como se menciona en el artículo “Potential Role of Phytochemicals as Glucagon-like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) Agonists in the Treatment of Diabetes Mellitus” (87), existen múltiples antecedentes sobre este tema, y sobre como estos pueden ser usados como agonistas de la GLP-1R.

Consecuentemente, se adopta una perspectiva en la que se toma como objetivo las plantas endémicas del Perú, en esta búsqueda se generó especial interés de la muña, ya que prácticamente, esta planta es usada como medicina tradicional por pacientes con DM2, como se explica ampliamente en la tesis “Práctica de la medicina tradicional y complementaria en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo II en un Centro Especializado

de Salud Lima – 2019”, plasmando la importancia del consumo de la muña dentro de una población que practica la medicina complementaria para tratar enfermedades como la diabetes y la hipertensión arterial (88); sin embargo, teóricamente no hay muchos datos científicos sobre esta planta en los que se pueda ver el uso de la muña como un tratamiento médico real.

Por esto, se vuelve necesario investigar la capacidad antidiabética de la muña y si los compuestos dentro de esta pueden representar un tratamiento, en el cual actúen como agonistas de la GLP-1R para las personas con DM2.

No obstante, después de hacer una búsqueda en bases de datos significativas como Scopus, ScienceDirect y PubMed, usando las palabras: “*Minthostachys mollis*”, “GLP-1R”, “diabetes”, “agonist”, “antidiabetic”; no se halló evidencia específica en la que se exponga a la planta en cuestión como un posible hipoglucemiante.

Como no se encontró información determinante sobre la especie *M. mollis*, fue indispensable la búsqueda de datos sobre otras especies del mismo género en los que se observe actividad antihiperoglucemiante, como se demostró en la investigación “Phytochemicals of *Minthostachys diffusa* Epling and Their Health-Promoting Bioactivities”, en la cual se evidencia una potencial actividad antidiabética mediante la inhibición de enzimas como la alfa-amilasa y la alfa-glucosidasa con aceites esenciales provenientes de las partes aéreas de la *M. diffusa* (71); sin embargo, son objetivos que en esta investigación no se han tomado en cuenta, debido a que la inhibición de estas enzimas permite la disminución de la glucosa en sangre, en cambio los agonistas de la GLP-1R estimulan la excreción de insulina.

Con ello, se determinó que al menos en el género existe un alto potencial antidiabético, por lo cual se dedujo que es necesario entender la composición de la *Minthostachys*, ya que, esta puede jugar un papel muy importante en la actividad agonista de la GLP-1R, que como sabemos de investigaciones anteriores es predominante en monoterpenos (89). Ahora, teniendo como foco principal a los monoterpenoides se halló que estos han sido escasamente estudiados, dentro de estas pocas investigaciones científicas se puede destacar su acción sobre las enzimas alfa-glucosidasas inhibiéndolas, su efecto en la gluconeogénesis y la glucólisis; así como también su efecto hipoglucémico y su actividad protectora y proliferante sobre las células beta pancreáticas por monoterpenos como timol, carvacrol, catalpol, Swertiamarin,  $\beta$ -Pinene y D-limonene (70,72). Añadiendo el efecto sinérgico que existe junto con los flavonoides como antioxidantes e inhibidores de

enzimas y el efecto modulador sobre las vías metabólicas que involucran al PPAR $\gamma$ , AMPK y GLUT4, que son mecanismos bien definidos de acción antidiabética y de señalización de insulina (72).

Explicando todo lo anterior, se puede demostrar el claro potencial terapéutico de los monoterpenoides encontrados dentro de la *Minthostachys mollis* ante la DM2, y así fundamentar el uso del timol, carvacrol y mentona en esta investigación. Así mismo, destacar que estos compuestos son muy similares entre sí diferenciándose por la posición de sus grupos funcionales oxigenados o por los enlaces dobles que presentan en el anillo ciclohexano como se puede observar en la [Tabla 2](#).

Además, podemos ver que la energía de unión es la resultante de la suma de las energías de Van der Waals, electrostática, solvatación polar, superficie accesible al solvente y volumen accesible al solvente, dados los resultados expuestos en la [Tabla 5](#), donde se usó el método MM/PBSA, para determinar las características de cada interacción, según la energía libre de unión.

El potencial de unión fue reafirmado al obtener resultados positivos para la investigación, de esta manera, se entiende que los fitoquímicos encontrados en la *Minthostachys mollis* son afines al receptor GLP-1, en un sistema que considera variables determinantes en el logro de un sistema equilibrado, lo que se puede evidenciar en las energías de unión calculadas entre cada ligando y el receptor, siendo así el timol -184 kcal/mol, la mentona -53 kcal/mol y el carvacrol con la mayor energía -44 kcal/mol. Hay que tener en cuenta que mientras más negativa sea la energía hay una mayor afinidad y estabilidad. Por otro lado, mientras más positivo, puede ser el reflejo de una eficacia reducida, baja afinidad, mayor probabilidad de disociación y tener que utilizar una dosis mayor. Es necesario añadir también que el comportamiento de la GLP-1R se desarrolló con total normalidad y al añadir estos compuestos a su superficie se comportó de diferente manera en cada caso. Con el timol se vio una neutralización de la superficie, lo cual facilitó la activación del receptor, estabilizó la estructura y favoreció la señalización; con la mentona se vio un comportamiento parecido pero más tenue, con ello, se puede inferir que tiene la función de un modulador alostérico, finalmente, con el carvacrol no hubo ningún cambio.

Para analizar la estabilidad del sistema a lo largo del tiempo de simulación, fue necesario el dibujo de distintos gráficos que puedan ejemplificar los diferentes cambios estructurales que sufrió la GLP-1R; de tal modo usamos distintas medidas como la desviación de la raíz media cuadrática (RMSD) de la posición de los átomos, la

fluctuación de la raíz media cuadrática (RSMF) de los residuos del receptor y el radio de giro (RG) del receptor para graficar, o bien, la conservación de la estructura, o bien, los cambios de esta en el tiempo.

También, la alta similitud mencionada anteriormente junto con la energía de afinidad determinada de cada uno de los compuestos estudiados es posible conjeturar que la posición de los grupos funcionales oxigenados o los enlaces dobles pueden tener un efecto diferencial en la afinidad que pueda resultar de la interacción proteína-ligando, por ejemplo en el caso específico de la mentona se puede ver que esta se caracteriza por ser un ciclohexano con un grupo funcional cetona, además de tener un grupo isopropil en el carbono 2 y un grupo metilo en el carbono 5, lo que es muy diferente en los casos del timol y del carvacrol, ambos siendo un anillo de fenol con los grupos funcionales isopropil y metilo en diferentes posiciones, irónicamente esta similitud en cuánto a la estructura no se ve reflejada en los resultados que se analizaron sobre la interacción del receptor y los ligandos, ya que en el caso del timol se obtuvieron más enlaces y contactos, una mayor afinidad, una interacción más fuerte y estable, siendo la antítesis el carvacrol obteniendo resultados totalmente contrarios, menos enlaces y menor afinidad. Lo que puede ser un importante factor al momento de crear o diseñar futuras invenciones de fármacos.

Después de todo lo revisado identificamos en la *Minthostachys mollis* actividad antidiabética, debido a sus principales compuestos, tal como los terpenoides y fundamentado en los resultados concluyentes se obtiene más evidencia sobre lo dicho, añadir también que es necesario profundizar más sobre estos compuestos interactuantes en procesos in vitro e in vivo, en los que se pueda evaluar el efecto de secreción de insulina, calcio y cAMP intracelular en cultivos de células beta pancreáticas de seres vivos, así como ver los efectos de estos en roedores, analizando los niveles de glucosa en sangre, el peso corporal, la secreción de insulina, la proliferación celular de las células beta pancreáticas, los niveles de GLP-1 secretados y el nivel de expresión de la GLP-1R genéticamente hablando.

## CONCLUSIONES

**PRIMERA** Se logró identificar el potencial antidiabético de los compuestos provenientes de la *Minthostachys mollis* (muña): timol, carvacrol y mentona por su afinidad con el receptor de la GLP-1, ya que, en el proceso de acoplamiento estos lograron ubicarse en la superficie proteica; en la simulación de dinámica molecular lograron mantenerse en los bolsillos de acoplamiento y según el método MM/PBSA los 3 ligandos presentaron una energía negativa de interacción con el receptor.

**SEGUNDA** En el caso particular timol desde el acoplamiento molecular vimos que se unió al sitio activo de la GLP-1R, que se encuentra en un bolsillo de la región transmembranal, esto nos daba una pista de que pueda tener una mayor energía de afinidad, tal como se pudo ver con la gran cantidad de enlaces generados entre la interacción proteína-ligando, que, como consecuencia, produjo una alta energía de unión de -184 kcal/mol.

**TERCERA** La mentona en el proceso de acoplamiento se ubicó en la región extracelular de la GLP-1R y no logró penetrar la superficie de la proteína estando en una parte más superficial, lo que fue preocupante, ya que en estos casos hay más probabilidad de que el ligando pueda desprenderse de la proteína y no generar ningún tipo de interacción, sin embargo, en procesos posteriores el ligando penetró más la superficie de la proteína y pudo generar una cantidad considerable de contactos no enlazantes y un enlace de hidrógeno, los cuales permitieron evidenciar múltiples cambios conformacionales en el receptor que nos indicarían que hay posibles sitios alostéricos que también pueden activarlo.

**CUARTA** El carvacrol en el acoplamiento molecular también se colocó en la región extracelular de la GLP-1R, después de realizar la simulación de la dinámica molecular del complejo, se observó que en este caso no se generaron muchos contactos no enlazantes, sólo 12 y ni un enlace de hidrógeno lo que se vio reflejado en su baja energía de unión y su escasa estabilidad al interactuar con el GLP-1R.

**QUINTA** Existe un alto potencial antidiabético del timol, ya que, tiene la energía más negativa, es decir tiene mucha afinidad con el receptor, además neutraliza la carga de la superficie de la GLP-1R; y respecto a la energía negativa generada por la mentona, esta también es suficiente para poder decir que hay una buena unión, sin embargo sería la segunda mejor por su interacción en un posible sitio alostérico, por último el carvacrol es el que presenta una unión más débil por su escasa energía de interacción e inestabilidad del complejo.



## RECOMENDACIONES

**PRIMERA** A futuros investigadores, realizar la simulación de dinámica molecular con diferentes metabolitos provenientes de la *Minthostacys mollis*, para así poder aumentar su valor como antidiabético natural.

**SEGUNDA** En el caso de los ligandos, se recomienda ampliar el estudio de la naturaleza química de los compuestos interactuantes, para determinar qué característica fisicoquímica permite establecer una interacción apropiada con el GLP-1R y profundizar en el conocimiento de sus principios activos y la energía que generan.

**TERCERA** Replicar en estudios in vitro e in vivo los resultados obtenidos in silico sobre la interacción de los fitoquímicos de la *Minthostacys mollis* (muña) con el receptor de la GLP-1, para posteriormente utilizarlos en estudios clínicos de pacientes con diabetes, lo que permitiría ampliar la visión sobre los tratamientos que se pueda usar.

**CUARTA** Para realizar simulaciones de dinámica molecular in silico es recomendable revisar cada parámetro y después de cada resultado, examinar el comportamiento de la estructura a fin de evitar que la membrana se degrade, los ligandos se desacoplen o la proteína tenga cambios conformacionales no deseados por definir equivocadamente algunos comandos dentro de los programas usados.

## REFERENCIAS

1. International Diabetes Federation. Diabetes around the world in 2021. [citado 13 de julio de 2024]. IDF Diabetes Atlas. Disponible en: <https://diabetesatlas.org/>
2. Revilla L. Epidemiología de la diabetes en el Perú-CDC MINSA [Internet]. [citado 13 de julio de 2024]. Disponible en: <https://www.dge.gob.pe/portalnuevo/>
3. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*. 1 de enero de 2024;47:S20-42.
4. Yang DH, Zhou CH, Liu Q, Wang MW. Landmark studies on the glucagon subfamily of GPCRs: From small molecule modulators to a crystal structure. *Acta Pharmacol Sin*. 5 de septiembre de 2015;36(9):1033-42.
5. Stein SA, Lamos EM, Davis SN. A review of the efficacy and safety of oral antidiabetic drugs. *Expert Opin Drug Saf*. marzo de 2013;12(2):153-75.
6. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 2007;132(6):2131-57.
7. Girdhar K, Dehury B, Kumar Singh M, Daniel VP, Choubey A, Dogra S, et al. Novel insights into the dynamics behavior of glucagon-like peptide-1 receptor with its small molecule agonists. *J Biomol Struct Dyn*. 13 de octubre de 2019;37(15):3976-86.
8. Chatterjee D, Vhora N, Goswami, S A, Hiray A, Jain A, Kate AS. In-silico and In-vitro Hybrid Approach to Identify Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists From Anti-Diabetic Natural Products.
9. Tiwari N. Therapeutic Targets for Diabetes Mellitus: An Update. *Clin Pharmacol Biopharm*. 2014;3(1).
10. Parkes DG, MacE KF, Trautmann ME. Discovery and development of exenatide: The first antidiabetic agent to leverage the multiple benefits of the incretin hormone, GLP-1. *Expert Opin Drug Discov*. 2013;8(2):219-44.
11. Brogi S. Computational approaches for drug discovery. Vol. 24, *Molecules*. MDPI AG; 2019.
12. Sharma P, Joshi T, Mathpal S, Chandra S, Tamta S. In silico identification of antidiabetic target for phytochemicals of A. marmelos and mechanistic insights by molecular dynamics simulations. *J Biomol Struct Dyn*. 2022;40(21):10543-60.
13. Nazrul Islam M. Insulinotropic Effect of Herbal Drugs for Management of Diabetes Mellitus: A Congregational Approach. *Biosensors Journal*. 2016;05(02).
14. Sahebkar A, Sathyapalan T. Natural Products and Human Diseases [Internet]. Vol. 1328. 2022. 513-522 p. Disponible en: <http://www.springer.com/series/15040>
15. Cases A. Agonistas del receptor de péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) en el manejo del paciente con diabetes mellitus tipo 2. Una aproximación para el nefrólogo. *Nefrología*. julio de 2023;43(4):399-412.
16. Alqahtani S. In silico ADME-Tox modeling: progress and prospects. Vol. 13, *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*. Taylor and Francis Ltd; 2017. p. 1147-58.
17. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. 2012.
18. MINSA. Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención. 2016; Disponible en: [www.minsa.gob.pe](http://www.minsa.gob.pe)

19. Barragán Torres VA, García Prada LM, Mateus Dueñez LM, Mateus Mateus LC, Sanabria FR. Aceites esenciales, obesidad y diabetes tipo 2. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 1 de septiembre de 2017;46(3):289-302.
20. Organización Panamericana de la Salud. DIABETES [Internet]. [citado 12 de agosto de 2024]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/diabetes#:~:text=La%20diabetes%20es%20una%20enfermedad,los%20ri%C3%B1ones%20y%20los%20nervios>.
21. CDC - MINSA, Equipo técnico de Unidad Técnica de Vigilancia Epidemiológica de Enfermedades No Transmisibles. Situación de la vigilancia epidemiológica de la diabetes en el Perú, periodo 2023. 2024 mar.
22. Barbara Fletcher, Meg Gulanick, Cindy Lamendola. Risk Factors for Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cardiovasc Nurs*. 2012;17-23.
23. Castaño Luis, Inés Urrutia, Laura Saso. Impacto del avance de la genética en el diagnóstico, el tratamiento y la prevención de la diabetes mellitus. *Congreso de la Sociedad Española de Endocrinología Pediátrica*. 2021;12:47-55.
24. Asociación Latinoamericana de Diabetes. Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia Edición 2019. 2019; Disponible en: [www.revistaalad.com](http://www.revistaalad.com)
25. ONU. Hay que acabar con la obesidad, un trastorno que afecta a más de mil millones de personas [Internet]. 2022 [citado 19 de agosto de 2024]. Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2022/03/1505062#:~:text=Seg%C3%BAAn%20los%20c%C3%A1lculos%20de%20la,motivos%20de%20sobrepeso%20u%20obesidad>.
26. Salas-Salvadó J, Díaz-López A, Ruiz-Canela M, Basora J, Fitó M, Corella D, et al. Effect of a lifestyle intervention program with energy-restricted Mediterranean diet and exercise on weight loss and cardiovascular risk factors: One-year results of the PREDIMED-Plus trial. *Diabetes Care*. 1 de mayo de 2019;42(5):777-88.
27. Palacios Anselmo, Durán Maritza, Obregón Oswaldo. FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE DIABETES TIPO 2 Y SÍNDROME METABÓLICO. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo* [Internet]. 2012;10(1):34-40. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375540232006>
28. Marchetti P, Bugliani M, De Tata VD, Suleiman M, Marselli L. Pancreatic beta cell identity in humans and the role of type 2 diabetes. Vol. 5, *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Frontiers Media S.A.; 2017.
29. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020. p. 1-34.
30. Robertson RP, Bogachus LD, Oseid E, Parazzoli S, Patti ME, Rickels MR, et al. Assessment of  $\beta$ -cell mass and  $\alpha$ - and  $\beta$ -cell survival and function by arginine stimulation in human autologous islet recipients. *Diabetes*. 1 de febrero de 2015;64(2):565-72.
31. Hull RL, Westermarck GT, Westermarck P, Kahn SE. Islet amyloid: A critical entity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. agosto de 2004;89(8):3629-43.
32. González-Mujica F. Insulina. Estructura, síntesis, secreción, depuración y degradación. 2017.

33. French EK, Donihi AC, Korytkowski MT. Diabetic ketoacidosis and hyperosmolar hyperglycemic syndrome: Review of acute decompensated diabetes in adult patients. *The BMJ*. 2019;365.
34. Torres Jumbo RF, Acosta Navia MK, Rodríguez Aviles DA, Barrera Rivera MK. Complicaciones agudas de la diabetes tipo 2. 2020 [citado 31 de agosto de 2024];4:46-57. Disponible en: <http://recimundo.com/index.php/es/article/view/782>
35. Umpierrez G, Korytkowski M. Diabetic emergencies-ketoacidosis, hyperglycaemic hyperosmolar state and hypoglycaemia. Vol. 12, *Nature Reviews Endocrinology*. Nature Publishing Group; 2016. p. 222-32.
36. Gosmanov AR, Gosmanova EO, Kitabchi AE. Hyperglycemic Crises: Diabetic Ketoacidosis and Hyperglycemic Hyperosmolar State. *Acute Endocrinology* [Internet]. 9 de mayo de 2021 [citado 31 de agosto de 2024];119-47. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279052/>
37. Kitabchi AE, Umpierrez GE, Miles JM, Fisher JN. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes. En: *Diabetes Care*. 2009. p. 1335-43.
38. Amiel SA, Aschner P, Childs B, Cryer PE, de Galan BE, Frier BM, et al. Hypoglycaemia, cardiovascular disease, and mortality in diabetes: epidemiology, pathogenesis, and management. Vol. 7, *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. Lancet Publishing Group; 2019. p. 385-96.
39. Arranz Martínez E. Manejo de las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus tipo 2.
40. Cheung N, Mitchell P, Wong TY. Diabetic retinopathy. [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com) [Internet]. 2010;376. Disponible en: [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com)
41. Naaman SC, Bakris GL. Diabetic Nephropathy: Update on Pillars of Therapy Slowing Progression. Vol. 46, *Diabetes Care*. American Diabetes Association Inc.; 2023. p. 1574-86.
42. Feldman E, Callaghan B, Pop-Busui R, Zochodne D, Wright D, Bennett D, et al. Diabetic neuropathy. *Nat Rev Dis Primers*. 13 de junio de 2019;5(1):42.
43. Pérez Prieto D. Infecciones en el pie diabético. *Monografías de Actualización de la Sociedad Española de Medicina y Cirugía del Pie y Tobillo*. mayo de 2018;10(1).
44. Vázquez LA, Romera I, Rubio-de Santos M, Escalada J. Glycaemic Control and Weight Reduction: A Narrative Review of New Therapies for Type 2 Diabetes. Vol. 14, *Diabetes Therapy*. Adis; 2023. p. 1771-84.
45. American Diabetes Association. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*. 1 de enero de 2024;47:S158-78.
46. Rawshani A, Rawshani A, Franzén S, Sattar N, Eliasson B, Svensson AM, et al. Risk Factors, Mortality, and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. *New England Journal of Medicine*. 16 de agosto de 2018;379(7):633-44.
47. Evert AB, Boucher JL, Cypress M, Dunbar SA, Franz MJ, Mayer-Davis EJ, et al. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. Vol. 37, *Diabetes Care*. American Diabetes Association Inc.; 2014.
48. Cheng AYY. Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert Committee. *Can J Diabetes* [Internet]. 1 de abril de 2013 [citado 31 de agosto de 2024];37(SUPPL.1):S1-3. Disponible en: <http://www.canadianjournalofdiabetes.com/article/S1499267113000105/fulltext>
49. Inzucchi SE, Bergenstal RM, Buse JB, Diamant M, Ferrannini E, Nauck M, et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2015: A Patient-Centered

- Approach: Update to a position statement of the american diabetes association and the european association for the study of diabetes. *Diabetes Care*. 1 de enero de 2015;38(1):140-9.
50. Tejera Pérez C. Análogos de GLP-1 en diabetes tipo 2.
  51. Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, Kawashima M, Ishiguro-Watanabe M. KEGG for taxonomy-based analysis of pathways and genomes. *Nucleic Acids Res*. 6 de enero de 2023;51(D1):D587-92.
  52. Benites J, Guerrero-Castilla A, Salas F, Martínez J. Chemical composition, in vitro cytotoxic and antioxidant activities of the essential oil Peruvian *Minthostachys mollis* Griseb. 2018; Disponible en: [www.blacpma.usach.cl](http://www.blacpma.usach.cl)
  53. Weberbauer A. *El Mundo Vegetal de los Andes Peruanos*. 1996.
  54. Pellegrini MC, Alonso-Salces RM, Umpierrez ML, Rossini C, Fuselli SR. Chemical Composition, Antimicrobial Activity, and Mode of Action of Essential Oils against *Paenibacillus larvae*, Etiological Agent of American Foulbrood on *Apis mellifera*. Vol. 14, *Chemistry and Biodiversity*. Wiley-VCH Verlag; 2017 abr.
  55. Da Silva Ramos R, Rodrigues ABL, Farias ALF, Simões RC, Pinheiro MT, Ferreira RMDA, et al. Chemical Composition and in Vitro Antioxidant, Cytotoxic, Antimicrobial, and Larvicidal Activities of the Essential Oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae). *Scientific World Journal*. 2017;2017.
  56. terpenes. En: *The IUPAC Compendium of Chemical Terminology*. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC); 2008.
  57. Casa-Coila MD, Pari-Achata D, Pacori-Zapana E, Rodriguez ELS, Paredes-Aliaga JS, Alagón SLC, et al. MEDICINAL AND AROMATIC (ODORIFEROUS) PROPERTIES OF MUÑA (*MINTHOSTACHYS MOLLIS*). *Revista de Gestao Social e Ambiental*. 2024;18(9).
  58. Menthone | C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O | CID 26447 - PubChem [Internet]. [citado 11 de septiembre de 2024]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/26447>
  59. Rutz A, Sorokina M, Galgonek J, Mietchen D, Willighagen E, Gaudry A, et al. The LOTUS initiative for open knowledge management in natural products research. *Elife* [Internet]. 26 de mayo de 2022;11. Disponible en: <https://elifesciences.org/articles/70780>
  60. Carvacrol | C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O | CID 10364 - PubChem [Internet]. [citado 11 de septiembre de 2024]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10364>
  61. Thymol | C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O | CID 6989 - PubChem [Internet]. [citado 11 de septiembre de 2024]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6989>
  62. Vanommeslaeghe K, Guvench O, Mackerell AD. *Molecular Mechanics*. 2014.
  63. Portillo T, Pérez B, Hernandez M. Una Introducción a la Bioinformática. *Mensaje Bioquímico* [Internet]. 2022;46:1-12. Disponible en: <http://bq.facmed.unam.mx/tab>
  64. Abraham MJ, Murtola T, Schulz R, Páll S, Smith JC, Hess B, et al. Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX*. 2015;1-2:19-25.
  65. Geng H, Chen F, Ye J, Jiang F. Applications of Molecular Dynamics Simulation in Structure Prediction of Peptides and Proteins. Vol. 17, *Computational and Structural Biotechnology Journal*. Elsevier B.V.; 2019. p. 1162-70.
  66. Santiago CG, Paci E, Donnelly D. A mechanism for agonist activation of the glucagon-like Peptide-1 (GLP-1) receptor through modelling & molecular dynamics. *Biochem Biophys Res Commun*. 29 de marzo de 2018;498(2):359-65.

67. Case DA, Cheatham TE, Darden T, Gohlke H, Luo R, Merz KM, et al. The Amber biomolecular simulation programs. Vol. 26, *Journal of Computational Chemistry*. 2005. p. 1668-88.
68. Duhovny D, Nussinov R, Wolfson HJ. Efficient unbound docking of rigid molecules. En: *Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*. Springer Verlag; 2002. p. 185-200.
69. de Graaf C, Donnelly D, Wootten D, Lau J, Sexton PM, Miller LJ, et al. Glucagon-like peptide-1 and its class B G protein-coupled receptors: A long march to therapeutic successes. *Pharmacol Rev*. 1 de octubre de 2016;68(4):954-1013.
70. Sousa LDR, Viana NR, Coêlho AG, Barbosa CDO, Barros DSL, Martins MDCDCE, et al. Use of Monoterpenes as Potential Therapeutics in Diabetes Mellitus: A Prospective Review. Vol. 2023, *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*. Hindawi Limited; 2023.
71. Faraone I, Russo D, Chiummiento L, Fernandez E, Choudhary A, Monné M, et al. Phytochemicals of *minthostachys diffusa* epling and their health-promoting bioactivities. *Foods*. 2020;9(2).
72. Habtemariam S. Antidiabetic potential of monoterpenes: A case of small molecules punching above their weight. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2018.
73. Zhang X;, Belousoff MJ;, Danev R;, Sexton PM;, Wootten D. Taspoglutide-bound Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Receptor in Complex with Gs Protein [Internet]. 2022. Disponible en: <https://www.wwpdb.org/validation/2017/EMValidationReportHelp>
74. Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Meng EC, Couch GS, Croll TI, et al. UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers. *Protein Science*. 1 de enero de 2021;30(1):70-82.
75. Webb B, Sali A. Comparative protein structure modeling using MODELLER. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2016;2016:5.6.1-5.6.37.
76. Burley SK, Bhikadiya C, Bi C, Bittrich S, Chao H, Chen L, et al. RCSB Protein Data Bank (RCSB.org): delivery of experimentally-determined PDB structures alongside one million computed structure models of proteins from artificial intelligence/machine learning. *Nucleic Acids Res*. 6 de enero de 2023;51(D):D488-508.
77. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 6 de enero de 2023 [citado 11 de septiembre de 2024];51(D1):D1373-80. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1093/nar/gkac956>
78. Dodda LS, De Vaca IC, Tirado-Rives J, Jorgensen WL. LigParGen web server: An automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. *Nucleic Acids Res*. 3 de julio de 2017;45(W1):W331-6.
79. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, et al. *Gaussian 16, Revision A.03*. 2016.
80. Peter Tieleman. dppc128.pdb [Internet]. [citado 16 de septiembre de 2024]. Disponible en: <https://ucalgary.ca/biocomputing/tieleman>
81. Girdhar K, Thakur S, Gaur P, Choubey A, Dogra S, Dehury B, et al. Design, synthesis, and biological evaluation of a small molecule oral agonist of the glucagon-like-peptide-1 receptor. 2022.
82. Laskowski RA, Jabłońska J, Pravda L, Vařeková RS, Thornton JM. PDBsum: Structural summaries of PDB entries. *Protein Science*. 1 de enero de 2018;27(1):129-34.

83. Eberhardt J, Santos-Martins D, Tillack AF, Forli S. AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *J Chem Inf Model*. 23 de agosto de 2021;61(8):3891-8.
84. Laskowski RA, Swindells MB. LigPlot+: Multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *J Chem Inf Model*. 24 de octubre de 2011;51(10):2778-86.
85. Jurrus E, Engel D, Star K, Monson K, Brandi J, Felberg LE, et al. Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. *Protein Science*. 1 de enero de 2018;27(1):112-28.
86. Kumari R, Kumar R, Lynn A. G-mmpbsa -A GROMACS tool for high-throughput MM-PBSA calculations. *J Chem Inf Model*. 28 de julio de 2014;54(7):1951-62.
87. Abiola JO, Oluyemi AA, Idowu OT, Oyinloye OM, Ubah CS, Owolabi OV, et al. Potential Role of Phytochemicals as Glucagon-like Peptide 1 Receptor (GLP-1R) Agonists in the Treatment of Diabetes Mellitus. Vol. 17, *Pharmaceuticals*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
88. Idrogo Chipana Kelly Stephanie. *Práctica de la medicina tradicional y complementaria en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo II en un Centro Especializado de Salud Lima – 2019*. 2021;
89. Schmidt-Lebuhn AN. Ethnobotany, biochemistry and pharmacology of *Mintostachys* (Lamiaceae). *J Ethnopharmacol*. 13 de agosto de 2008;118(3):343-53.

