



UNIVERSIDAD  
**NACIONAL**  
DE COLOMBIA

**Estudio del potencial inhibitorio de las xantonas provenientes de  
*Garcinia mangostana* (Clusiaceae) sobre tres enzimas digestivas  
relacionadas con obesidad y diabetes tipo 2 en búsqueda de  
moléculas con acción multidiana**

**Juan Camilo Cardozo Muñoz**

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Ciencias, Departamento de Química  
Bogotá, Colombia  
2021



**Estudio del potencial inhibitorio de las xantonas provenientes de *Garcinia mangostana* (Clusiaceae) sobre tres enzimas digestivas relacionadas con obesidad y diabetes tipo 2 en búsqueda de moléculas con acción multidiana**

**Juan Camilo Cardozo Muñoz**

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:  
**Maestría en Ciencias - Química**

Director (a):

Ph.D., Oscar Javier Patiño Ladino

Codirector (a):

Ph.D., Fabian Harvey López Vallejo

Línea de Investigación:

Bioprospección en agentes fitosanitarios y terapéuticos

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales Vegetales Bioactivos  
(QuiProNaB)

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química

Bogotá, Colombia

2021



*A mi familia, mi novia, y a todas aquellas  
personas que me brindaron su apoyo  
incondicional.*

*Para que pueda surgir lo posible, es preciso  
intentar una y otra vez lo imposible.*

*Herman Hesse*

## ***Declaración de obra original***

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores. Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.



---

Juan camilo Cardozo Muñoz

Fecha 23/04/2021



# Agradecimientos

Agradezco a mi director Dr. Oscar Javier Patiño Ladino y codirector Dr. Fabian Harvey López Vallejo, por darme la oportunidad de trabajar con su grupo de investigación, comunicar su conocimiento, su tiempo y orientación, además de la capacitación y colaboración para el desarrollo de este trabajo.

Agradezco al profesor Luis Enrique Cuca Suárez por permitirme hacer parte del grupo y abrirme las puertas del laboratorio de Química de Productos Naturales Vegetales Bioactivos, del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia.

Agradezco a la profesora Juliet Angélica Prieto por su asesoría, orientación y colaboración. Además, al laboratorio de bioensayos del Departamento de Química de la Pontificia Universidad Javeriana por la capacitación, colaboración y recursos para el desarrollo de los ensayos de actividad biológica.

A la Universidad Nacional de Colombia y a la Pontificia Universidad Javeriana, por la financiación y la formación académica brindada.

Al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación (MinCiencias) por el apoyo financiero a través del contrato 003-2017 con código 110174559038, financiado a través de la convocatoria nacional de proyectos para el fortalecimiento de la investigación, creación e innovación de la universidad nacional de Colombia 2016-2018. Adicionalmente, por el apoyo al Joven Talento Juan Camilo a través del contrato 907-2019 de la convocatoria 850-2019 para el fortalecimiento de proyectos de investigación de CTel en ciencias médicas y de la salud con talento joven e impacto regional.

A Luis Carlos Chitiva, Harold Rodríguez, Daniela Torres, Leidy Nagles, Yohum Lozada, Alberto Osorio, Felipe Victoria y los demás miembros del Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales Vegetales Bioactivos (QuiProNaB) del Departamento de Química, por darme la oportunidad de trabajar con ustedes y compartir su espacio, conocimiento y apoyo para llevar a cabo este proyecto.





## Resumen

*Garcinia mangostana* (Clusiaceae), conocida popularmente como mangostino, es una especie de importancia económica a nivel mundial que se caracteriza por contener una amplia diversidad de xantonas, las cuales tienen la capacidad de inhibir enzimas digestivas como  $\alpha$ -amilasa (AA),  $\alpha$ -glucosidasa (AG) y lipasa pancreática (LP). Estas enzimas juegan un papel importante en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, por lo que suelen ser atractivas dianas terapéuticas para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y la obesidad. Existe una estrecha correlación entre estas dos enfermedades, por lo que en las últimas décadas muchas investigaciones se han enfocado en la búsqueda de moléculas con acción polifuncional para tratar de manera simultánea estas dos patologías. En este sentido, *G. mangostana* es un objeto interesante de estudios debido a que varios de sus componentes químicos causan inhibiciones en diferentes enzimas digestivas. La presente investigación contribuye a la búsqueda de moléculas con potencial inhibitorio multidiana frente a lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, a partir de un estudio de las xantonas provenientes de *G. mangostana*. La metodología incluyó el estudio fitoquímico biodirigido sobre el pericarpio de los frutos de *G. mangostana*, para aislar e identificar una serie de xantonas con potencial inhibidor sobre las enzimas diana de interés. Adicionalmente, se realizó la síntesis de algunos derivados a partir del constituyente mayoritario. Posteriormente, se determinó la concentración inhibitoria, el tipo de inhibición y el modo de unión que ejercen las xantonas sobre las enzimas digestivas. Finalmente, se realizó un estudio de optimización farmacodinámica con cada blanco enzimático tomando como base la molécula  $\alpha$ -mangostina, para predecir posibles moléculas con acción multidiana y mayor afinidad frente a LP, AG y AA. Se realizó la síntesis de algunas de las moléculas optimizadas y se determinó el efecto que ejercen sobre las enzimas digestivas. El estudio químico biodirigido permitió determinar que en la fracción de DCM se concentra la actividad inhibitoria sobre las tres enzimas digestivas (LP, AG y AA). A partir de la fracción de DCM se logró el aislamiento e identificación de cinco xantonas preniladas, entre las que se encuentran 9-hidroxicabaxantona (**Gm-1**), 8-desoxigartanina (**Gm-2**), gartanina (**Gm-3**),  $\alpha$ -mangostina (**Gm-4**) y  $\gamma$ -mangostina (**Gm-5**). Adicionalmente, a partir del

constituyente mayoritario **Gm-4** se sintetizaron los derivados **Gm-6** a **Gm-11**, destacándose la propuesta de una nueva metodología libre de disolvente y por irradiación con microondas para la obtención de compuestos aromáticos con ciclo tetrahidropirano, a partir de precursores aromáticos hidroxilados con una cadena prenilada vecinal. Entre los compuestos aislados y sintetizados se destacan **Gm-4** ( $CI_{50}$  AA =  $317,6 \pm 4,3 \mu\text{M}$ ,  $CI_{50}$  AG =  $31,6 \pm 2,6 \mu\text{M}$  y  $CI_{50}$  LP =  $50,6 \pm 6,7 \mu\text{M}$ ) y **Gm-6** ( $CI_{50}$  AA =  $164,4 \pm 28,6 \mu\text{M}$ ,  $CI_{50}$  AG =  $33,3 \pm 4,1 \mu\text{M}$  y  $CI_{50}$  LP =  $69,2 \pm 6,9 \mu\text{M}$ ) por su mayor acción multidiana sobre las tres enzimas. De manera general, con los estudios de cinética enzimática y de acoplamiento molecular, se encontró que las xantonas bioactivas ejercen su acción sobre AA en su mayoría mediante una inhibición de tipo competitivo, mientras que sobre AG predomina la inhibición de tipo mixto, y frente a LP la mayoría de los inhibidores son de tipo no competitivo. Por último, el estudio optimización farmacodinámica sobre **Gm-4** permitió proponer 10 moléculas optimizadas, de las cuales se sintetizaron tres sin reportes previos en la literatura y que fueron denominadas como **Gm-12**, **Gm-13** y **Gm-14**. Estas moléculas presentaron acción inhibitoria frente a LP, AG y AA, destacándose **Gm-14** por su acción inhibitoria polifuncional, y por ser el único compuesto con el que se logró optimizar de manera simultánea la actividad inhibitoria frente a AG y AA. Adicionalmente, se estableció que los compuestos optimizados son de tipo competitivo para AA, de tipo no competitivo para AG, y no competitivo y incompetitivo para la enzima LP.

**Palabras clave:** Lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa,  $\alpha$ -glucosidasa, Xantonas, *G. mangostana*.

## Abstract

*Garcinia mangostana* (Clusiaceae), popularly known as mangosteen, is a species of economic importance worldwide that is characterized by containing a wide variety of xanthenes, which can inhibit digestive enzymes such as  $\alpha$ -amylase (AA),  $\alpha$ -glucosidase (AG) and pancreatic lipase (LP). These enzymes play an important role in carbohydrate and lipid metabolism and are therefore often attractive therapeutic targets for the treatment of type 2 diabetes and obesity. There is a close correlation between these two diseases, reason why in the last decades many investigations have focused on the search for molecules with multitarget action to treat these two diseases simultaneously. In this sense, *G. mangostana* is an interesting object of study because several of its chemical components cause inhibitions in different digestive enzymes. The present investigation contributes to the search of molecules with multitarget inhibitory potential against pancreatic lipase,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase, based on a study of xanthenes from *G. mangostana*. The methodology included the bioguided phytochemical study on the pericarp of *G. mangostana* fruits, to isolate and identify a series of xanthenes with inhibitory potential on the target enzymes of interest. Additionally, some derivatives were synthesized from the majority constituent. Subsequently, the inhibitory concentration, the type of inhibition and the binding mode exerted by xanthenes on digestive enzymes were determined. Finally, a pharmacodynamic optimization study was carried out with each target enzyme based on the  $\alpha$ -mangostin molecule, to predict possible molecules with multitarget action and higher affinity against LP, AG and AA. The synthesis of some of the optimized molecules was carried out and the effect they exert on digestive enzymes was determined. The bioguided chemical study made it possible to determine that the inhibitory activity on the three digestive enzymes (LP, AG and AA) is concentrated in the DCM fraction. From the DCM fraction, the isolation and identification of five prenylated xanthenes was achieved, among which are 9-hydroxylabaxanthone (**Gm-1**), 8-deoxygartanine (**Gm-2**), gartanine (**Gm-3**),  $\alpha$ -mangostin (**Gm-4**) and  $\gamma$ -mangostin (**Gm-5**). Additionally, from the

majority constituent **Gm-4**, the derivatives **Gm-6** to **Gm-11** were synthesized, highlighting the proposal of a new solvent-free methodology with microwave irradiation for obtaining aromatic compounds with tetrahydropyran cycle, from hydroxylated aromatic precursors with a neighboring prenylated chain. Among the isolated and synthesized compounds, **Gm-4** ( $IC_{50}$  AA =  $317.6 \pm 4.3 \mu\text{M}$ ,  $IC_{50}$  AG =  $31.6 \pm 2.6 \mu\text{M}$  and  $IC_{50}$  LP =  $50.6 \pm 6.7 \mu\text{M}$ ) and **Gm-6** ( $IC_{50}$  AA =  $164.4 \pm 28.6 \mu\text{M}$ ,  $IC_{50}$  AG =  $33.3 \pm 4.1 \mu\text{M}$  and  $IC_{50}$  LP =  $69.2 \pm 6.9 \mu\text{M}$ ) due to its greater multitarget action on the three enzymes. In general, with the enzymatic kinetics and molecular coupling studies, it was found that bioactive xanthenes exert their action on AA mostly through competitive inhibition, while on AG mixed-type inhibition predominates, and against LP most of inhibitors are non-competitive. Finally, the pharmacodynamic optimization study on **Gm-4** allowed proposing 10 optimized molecules, of which three were synthesized without previous reports in the literature and which were called **Gm-12**, **Gm-13** and **Gm-14**. These molecules showed inhibitory action against LP, AG and AA, with **Gm-14** standing out for its polyfunctional inhibitory action, and for being the only compound with which it was possible to simultaneously optimize the inhibitory activity against AG and AA. Additionally, it was established that the optimized compounds are competitive inhibitors against AA, non-competitive for AG and non-competitive and uncompetitive for the LP enzyme.

**Keywords:** Pancreatic lipase,  $\alpha$ -amylase,  $\alpha$ -glucosidase, Xanthenes, *Garcinia mangostana*.

# Contenido

	Pág.
Lista de figuras.....	XVIII
Lista de tablas.....	XXI
Lista de abreviaturas.....	XXIII
Producción Científica .....	XXV
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>4</b>
<b>1. Estado actual del tema.....</b>	<b>5</b>
1.1 Importancia de la obesidad y diabetes tipo 2.....	5
1.1.1 Generalidades de la obesidad.....	6
1.1.2 Generalidades de la diabetes.....	7
1.2 Enzimas digestivas como blancos terapéuticos para el tratamiento de obesidad y diabetes tipo 2.....	9
1.2.1 Lipasa pancreática (LP) .....	10
1.2.2 $\alpha$ -Glucosidasa (AG) .....	12
1.2.3 $\alpha$ -Amilasa (AA).....	13
1.3 Plantas como fuente de sustancias para la inhibición de enzimas digestivas (LP, AA y AG).....	15
1.3.1 Generalidades de la especie <i>Garcinia mangostana</i> .....	17
1.4 Estudios computacionales aplicables en el desarrollo de inhibidores enzimáticos	20
1.4.1 Estudios de acoplamiento molecular de moléculas naturales aplicados en la inhibición de las enzimas .....	21
1.4.2 Estudios de optimización farmacodinámica sobre moléculas naturales aplicados en la inhibición de las enzimas.....	22
<b>2. Metodología.....</b>	<b>25</b>
2.1 Estudio fitoquímico biodirigido sobre la especie <i>Garcinia mangostana</i> (Clusiaceae) .....	25
2.1.1 Procedimientos generales .....	25
2.1.1 Material vegetal.....	26
2.1.2 Extracción y fraccionamiento realizado al pericarpio de <i>G. mangostana</i> .....	26
2.1.3 Determinación de la actividad inhibitoria frente a LP, AA y AG del extracto y fracciones de <i>G. mangostana</i> .....	27

2.1.4	Purificación de la fracción DCM proveniente <i>G. mangostana</i> .....	28
2.1.5	Síntesis de derivados a partir de Gm-4 .....	29
2.1.5.1	Síntesis de fuscaxantona C (Gm-6) .....	29
2.1.5.2	Síntesis de 3-isomangostina (Gm-7) y BR-xantona-A (Gm-8).....	30
2.1.5.3	Síntesis de tetrahydro- $\alpha$ -mangostina (Gm-9).....	31
2.1.5.4	Síntesis de 3,6-di-pentoxi- $\alpha$ -mangostina (Gm-10) .....	31
2.1.5.5	Síntesis de 3,6-di-metoxi-4-metil- $\alpha$ -mangostina (Gm-11) y fuscaxantona C (Gm-6) .....	32
2.2	Determinación del mecanismo de inhibición enzimática frente a las enzimas LP, AA y AG de los compuestos aislados y sintetizados.....	33
2.2.1	Procedimientos generales .....	33
2.2.2	Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de las enzimas LP, AG y AA ..	34
2.2.2.1	Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de LP .....	34
2.2.2.2	Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de AA.....	35
2.2.2.3	Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de AG .....	36
2.2.3	Determinación del tipo de inhibición enzimática sobre LP, AA y AG .....	37
2.2.4	Estudio del sitio y modo de unión de los compuestos activos con LP, AA y AG .....	37
2.3	Diseño y optimización de compuestos con acción polifarmacológica frente a LP, AA y AG .....	38
2.3.1	Procedimientos generales .....	38
2.3.2	Optimización farmacodinámica .....	38
2.3.2.1	Normalización de los resultados de acoplamiento molecular .....	39
2.3.3	Síntesis de xantonas sugeridas por el estudio de optimización molecular.....	40
2.3.3.1	Síntesis de 3,6-di-o-tosil- $\alpha$ -mangostina (Gm-12) y 1,3,6-tri-o-tosil- $\alpha$ -mangostina (Gm-13).....	41
2.3.3.2	Síntesis de 3,6-di-o-(4'-metoxibenzoil)- $\alpha$ -mangostina (Gm-14).....	41
2.3.4	Determinación de actividad inhibitoria y modos de inhibición frente a LP, AA y AG para los compuestos sintetizados.....	42
<b>3.</b>	<b>Resultados y discusión .....</b>	<b>43</b>
3.1	Estudio fitoquímico biodirigido del pericarpio del fruto de <i>Garcinia mangostana</i> (Clusiaceae) .....	43
3.1.1	Obtención de algunos derivados a partir de Gm-4 .....	49
3.2	Determinación del mecanismo de inhibición enzimática sobre las enzimas LP, AG y AA de los compuestos aislados y sintetizados.....	52
3.2.1	Estudio de inhibición sobre lipasa pancreática (LP) .....	52
3.2.2	Estudio de inhibición sobre $\alpha$ -glucosidasa (AG).....	57
3.2.3	Estudio de inhibición sobre $\alpha$ -amilasa (AA) .....	61
3.2.4	Compuestos con acción polifarmacológica.....	65
3.3	Optimización farmacodinámica de Gm-4.....	66
3.3.1	Modelo de optimización farmacodinámica .....	67
3.3.2	Síntesis de compuestos optimizados a partir de Gm-4.....	72
<b>4.</b>	<b>Conclusiones y recomendaciones.....</b>	<b>77</b>
4.1	Conclusiones.....	77
4.2	Recomendaciones.....	79

<b>5</b>	<b>Anexos .....</b>	<b>81</b>
5.1	Anexos de fitoquímica.....	81
5.2	Anexo de derivados de síntesis.....	92
5.3	Anexo de estudio de optimización computacional.....	105
5.4	Anexo de derivados optimizados .....	109
5.5	Anexo del tipo de inhibición generado por los derivados optimizados.....	116

## Lista de figuras

	Pág.
<b>Figura 1-1.</b> Mecanismo de reacción de la hidrólisis de triglicéridos desarrollada por la LP. .....	10
<b>Figura 1-2.</b> Sitios de unión catalítico y alostérico de la $\alpha$ -mangostina en la estructura de la lipasa pancreática (Código de PDB:1LPB). .....	11
<b>Figura 1-3.</b> Mecanismo de reacción de la hidrólisis de disacáridos desarrollada por la AG. .....	12
<b>Figura 1-4.</b> Sitios de unión catalítico y alostérico de la $\alpha$ -mangostina en la estructura de $\alpha$ -Glucosidasa (Código del PDB: 2QMJ). .....	13
<b>Figura 1-5.</b> Mecanismo de reacción de la hidrólisis de polisacáridos desarrollada por la AA. .....	14
<b>Figura 1-6.</b> Sitio de unión catalítico de la $\alpha$ -mangostina en la estructura de $\alpha$ -Amilasa (Código de PDB:4GQR). .....	15
<b>Figura 1-7.</b> Distribución geográfica de la especie <i>G. mangostana</i> . .....	17
<b>Figura 1-8.</b> Características del árbol, hojas y fruto de la especie <i>G. mangostana</i> (Clusiaceae). .....	18
<b>Figura 1-9.</b> Compuestos aislados de <i>G. mangostana</i> . .....	19
<b>Figura 1-10.</b> $\alpha$ -, $\beta$ - y $\gamma$ - mangostán extraído del pericarpio de la especie <i>G. mangostana</i> (Clusiaceae). .....	23
<b>Figura 2-1.</b> Esquema de extracción y fraccionamiento realizado sobre <i>G. mangostana</i> . .....	27
<b>Figura 2-2.</b> Esquema general de purificación de los metabolitos secundarios ( <b>Gm-1 a 5</b> ) presentes en el pericarpio de <i>G. mangostana</i> . .....	29
<b>Figura 3-1.</b> Compuestos aislados e identificados de la fracción de DCM proveniente del pericarpio del fruto de <i>G. mangostana</i> . .....	45
<b>Figura 3-2.</b> Síntesis de derivados ( <b>Gm-6 – Gm-11</b> ) a partir de <b>Gm-4</b> . .....	50
<b>Figura 3-3.</b> Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del compuesto <b>Gm-7</b> y <b>Gm-8</b> . .....	51
<b>Figura 3-4.</b> Gráficos Lineweaver-Burk del estudio cinético de los compuestos <b>Gm-1 a Gm-11</b> activos sobre LP. .....	55
<b>Figura 3-5.</b> Visualización de los modos de unión de <b>Gm-1 a Gm-11 – LP</b> , modelo 3D y 2D de interacciones. .....	56
<b>Figura 3-6.</b> Gráficos Lineweaver-Burk del estudio cinético de los compuestos <b>Gm-1 a Gm-9</b> activos sobre AG. .....	59
<b>Figura 3-7.</b> Visualización de los modos de unión de <b>Gm-1 a Gm-11 – AG</b> , modelo 3D y 2D de interacciones. .....	61

<b>Figura 3-8.</b> Gráficos Lineweaver-Burk del estudio cinético de los compuestos <b>Gm-2</b> a <b>Gm-9</b> activos sobre AA. ....	63
<b>Figura 3-9.</b> Visualización de los modos de unión de <b>Gm-2</b> a <b>Gm-9</b> – AA, modelo 3D y 2D de interacciones. ....	65
<b>Figura 3-10.</b> Lista de moléculas usadas para proceso de optimización ( <b>A – Z</b> ). ....	68
<b>Figura 3-11.</b> Modelo de acoplamiento en 3D y 2D del complejo para LP-1 (a), LP-7 (b), AG-7 (c), AG-9 (d), AA-1 (e) y AA-8 (f). ....	71
<b>Figura 3-12.</b> Síntesis de compuestos optimizados ( <b>Gm-12 – Gm-14</b> ) a partir del compuesto <b>Gm-4</b> . ....	73
<b>Figura 5-1.</b> Espectro RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-1</b> . ....	82
<b>Figura 5-2.</b> Espectro APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-1</b> . ....	83
<b>Figura 5-3.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-1</b> . ....	83
<b>Figura 5-4.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-2</b> . ....	84
<b>Figura 5-5.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-2</b> . ....	85
<b>Figura 5-6.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-2</b> . ....	85
<b>Figura 5-7.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-3</b> . ....	86
<b>Figura 5-8.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-3</b> . ....	87
<b>Figura 5-9.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-3</b> . ....	87
<b>Figura 5-10.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-4</b> . ....	88
<b>Figura 5-11.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-4</b> . ....	89
<b>Figura 5-12.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-4</b> . ....	89
<b>Figura 5-13.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (MeOD, 400 MHz) de <b>Gm-5</b> . ....	90
<b>Figura 5-14.</b> Espectro de APT (MeOD, 100 MHz) de <b>Gm-5</b> . ....	91
<b>Figura 5-15.</b> Espectro HMBC (MeOD) de <b>Gm-5</b> . ....	91
<b>Figura 5-16.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-6</b> . ....	93
<b>Figura 5-17.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-6</b> . ....	94
<b>Figura 5-18.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-6</b> . ....	94
<b>Figura 5-19.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-7</b> . ....	95
<b>Figura 5-20.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-7</b> . ....	96
<b>Figura 5-21.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-7</b> . ....	96
<b>Figura 5-22.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-8</b> . ....	97
<b>Figura 5-23.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-8</b> . ....	98
<b>Figura 5-24.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-8</b> . ....	98
<b>Figura 5-25.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-9</b> . ....	99
<b>Figura 5-26.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-9</b> . ....	100
<b>Figura 5-27.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-9</b> . ....	100
<b>Figura 5-28.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-10</b> . ....	101
<b>Figura 5-29.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-10</b> . ....	102
<b>Figura 5-30.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-10</b> . ....	102
<b>Figura 5-31.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-11</b> . ....	103
<b>Figura 5-32.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-11</b> . ....	104
<b>Figura 5-33.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-11</b> . ....	104
<b>Figura 5-34.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-12</b> . ....	110
<b>Figura 5-35.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-12</b> . ....	111
<b>Figura 5-36.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-12</b> . ....	111

<b>Figura 5-37.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-13</b> .....	113
<b>Figura 5-38.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-13</b> .....	113
<b>Figura 5-39.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-13</b> .....	113
<b>Figura 5-40.</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (CDCl <sub>3</sub> , 400 MHz) de <b>Gm-14</b> .....	114
<b>Figura 5-41.</b> Espectro de APT (CDCl <sub>3</sub> , 100 MHz) de <b>Gm-14</b> .....	115
<b>Figura 5-42.</b> Espectro HMBC (CDCl <sub>3</sub> ) de <b>Gm-14</b> .....	115
<b>Figura 5-43.</b> Modos de inhibición de las moléculas optimizadas <b>Gm-12</b> , <b>Gm-13</b> y <b>Gm-14</b> frente a <b>LP (a)</b> , <b>AG (b)</b> y <b>AA (c)</b> .....	116

## Lista de tablas

	Pág.
<b>Tabla 1-1.</b> Actividades y tipos de inhibición reportados para algunos compuestos aislados de <i>G. mangostana</i> y extracto etanólico del mismo,.....	20
<b>Tabla 3-1.</b> Determinación de la inhibición enzimática frente a LP, AA y AG de extracto y fracciones provenientes de <i>G. mangostana</i> , .....	44
<b>Tabla 3-2.</b> Resultados de inhibición enzimática frente a LP de los compuestos <b>Gm-1 a Gm-11</b> ,.....	53
<b>Tabla 3-3.</b> Resultados de inhibición enzimática frente a AA de los compuestos <b>Gm-1 a Gm-11</b> ,.....	62
<b>Tabla 3-4.</b> Tabla comparativa de valores $CI_{50}$ sobre las tres enzimas LP; AA y AG, .....	66
<b>Tabla 3-5.</b> Consenso de los resultados de interacción de las moléculas (aisladas, derivadas sintéticas y diseñadas) acopladas molecularmente con programas ADV, AD4 y Glide para la enzima LP, AG y AA,.....	69
<b>Tabla 3-6.</b> Determinación del tipo de inhibición, valor de $CI_{50}$ y $K_i$ para los compuestos optimizados de <b>Gm-4</b> sobre LP, AG y AA,.....	75
<b>Tabla 5-1.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-1</b> ,.....	82
<b>Tabla 5-2.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-2</b> ,.....	84
<b>Tabla 5-3.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-3</b> ,.....	86
<b>Tabla 5-4.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-4</b> ,.....	88
<b>Tabla 5-5.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-5</b> ,.....	90
<b>Tabla 5-6.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-6</b> ,.....	93
<b>Tabla 5-7.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-7</b> ,.....	95
<b>Tabla 5-8.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-8</b> ,.....	97
<b>Tabla 5-9.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-9</b> ,.....	99
<b>Tabla 5-10.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-10</b> ,.....	101
<b>Tabla 5-11.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-11</b> ,.....	103
<b>Tabla 5-12.</b> Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de <b>Gm-4</b> en el complejo <b>LP</b> ,.....	106
<b>Tabla 5-13.</b> Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de <b>Gm-4</b> en el complejo <b>AG</b> ,.....	107
<b>Tabla 5-14.</b> Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de <b>Gm-4</b> en el complejo <b>AA</b> ,.....	108
<b>Tabla 5-15.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-12</b> ,.....	110
<b>Tabla 5-16.</b> Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto <b>Gm-13</b> ,.....	112

XXII Estudio del potencial inhibitorio de las xantonas provenientes de *Garcinia mangostana* (Clusiaceae) sobre tres enzimas digestivas relacionadas con obesidad y diabetes tipo 2 en búsqueda de moléculas con acción multidiana

---

**Tabla 5-17.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-14**..... 114

## Lista de abreviaturas

Abreviatura	Término
AA	$\alpha$ -amilasa
AcOEt	Acetato de etilo
ADA	American Diabetes Association
AD4	AutoDock 4
ADT	AutoDock Tools
ADV	AutDock Vina
AG	$\alpha$ -glucosidasa
AGL	Ácidos Grasos Libres
APT	Attached Proton Test
CC	Cromatografía en columna
CCD	Cromatografía en capa delgada
CDCI <sub>3</sub>	Cloroformo deuterado
CF	Cromatografía flash
CI <sub>50</sub>	Concentración inhibitoria 50
CLV	Cromatografía líquida al vacío
COSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy
BSA	Bovine Serum Albumin
DCC	N,N'-Diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DMAP	4-(Dimethylamino)piridina
DMF	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
EMAR	Espectro de masas de alta resolución
EtOH	Etanol
EE	Extracto etanólico
FDA	Food and Drug Administration
HMBC	<sup>1</sup> H-Detected Multiple Bond Heteronuclear Multiple Quantum
HMQC	<sup>1</sup> H-Detected Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
IR	Infrarrojo
IPA	Isopropanol
IMC	Índice de Masa Corporal
L-B	Lineweaver-Burk
LP	Lipasa pancreática
MeOD	Metanol deuterado
MeOH	Metanol
MOE	Molecular Operating Environment
OMS	Organización Mundial de la Salud

XXIV Estudio del potencial inhibitorio de las xantonas provenientes de *Garcinia mangostana*  
(Clusiaceae) sobre tres enzimas digestivas relacionadas con obesidad y diabetes tipo 2  
en búsqueda de moléculas con acción multidiana

---

<b>OPS</b>	Organización Panamericana de la Salud
<b>PDB</b>	Protein Data Bank
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>PyHCl</b>	Clorhidrato de piridina
<b>QSAR</b>	Quantitative structure-activity relationship
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear
<b>UV</b>	Ultravioleta

## Producción Científica

Parte de los resultados obtenidos de la presente tesis de maestría han sido objeto de la producción de la siguiente publicación:

- Juan C. Cardozo-Muñoz, Luis E. Cuca-Suárez, Juliet A. Prieto-Rodríguez, Fabian H, López-Vallejo, Oscar J. Patiño-Ladino. STUDY OF THE MULTITARGET ACTION ON  $\alpha$ -AMYLASE,  $\alpha$ -GLUCOSIDASE AND PANCREATIC LIPASE OF XANTONES FROM *Garcinia mangostana* (CLUSIACEAE). *Molecules* 2021, (Sometido).

Así mismo se ha participado en los siguientes congresos como ponente y poster:

- **XIV Congreso Colombiano de Fitoquímica, I Congreso Colombiano de Semilleros de Fitoquímica en Instituciones de Educación Media.**  
Juan C. Cardozo-Muñoz, Juliet A. Prieto-Rodríguez, Fabian H. López-Vallejo, Luis E. Cuca-Suárez, Oscar J. Patiño-Ladino, ESTUDIO PARA POTENCIALIZAR LA ACCIÓN MULTIDIANA FRENTE A LIPASA PANCREÁTICA Y  $\alpha$ -GLUCOSIDASA DE LAS XANTONAS PROVENIENTES DE *Garcinia mangostana*. (Está aceptado) **Colombia, 2020**. Participación en modalidad oral.
- **EFMC-ISMC & EFMC-YMCS Virtual Poster Session, Powered by the EFMC Young Scientists Network.**  
Cardozo-Muñoz Juan, López-Vallejo Fabian, Prieto-Rodríguez Juliet, Patiño-Ladino Oscar. MOLECULAR DOCKING STUDIES OF XANTHONE DERIVATIVES FROM THE EPICARP OF *GARCINIA MANGOSTANA* (CLUSIACEAE) TO INCREASE THE INHIBITORY ACTIVITY AGAINST DIGESTIVE ENZYMES. **Bélgica, 2020**. Participación en modalidad póster.

- **VIII Congreso Latinoamericano de plantas medicinales.**

Juan Camilo Cardozo-Muñoz, Juliet Prieto-Rodríguez, Luis Enrique Cuca-Suárez, Fabián Harvey López-Vallejo, Oscar Javier Patiño-Ladino. POTENCIAL DE LAS XANTONAS PROVENIENTES DEL FRUTO DE *GARCINIA MANGOSTANA* PARA INHIBIR LAS ENZIMAS A-AMILASA, A-GLUCOSIDASA Y LIPASA PANCREÁTICA. **Ecuador, 2020**. Participación en modalidad oral.

# INTRODUCCIÓN

La obesidad y diabetes son reconocidas ampliamente como unas de las principales problemáticas de salud a nivel mundial, dado su estrecha relación con otros trastornos patológicos (Aschner 2010; Johnson et al. 2012; OPS/OMS Colombia 2018). La diabetes mellitus es un trastorno metabólico resultante de una deficiencia relativa en la secreción de insulina y/o resistencia asociada con esta hormona, caracterizándose por hiperglucemia crónica (Calderón S., Muñoz R., y Quintanar E. 2013; Corbatón A., Cuervo P., y Serrano R. 2004; Islas A. y Revilla M. 2013; Johnson et al. 2012). En el año 2017, 425 millones de personas en todo el mundo vivían con diabetes, estando el 90% de ellas afectadas por diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y se espera que el número aumente a 629 millones de personas en el año 2045 (OPS/OMS Colombia 2018; Salud 2005). Un enfoque prometedor para el tratamiento de la DM2 consiste en disminuir la hiperglucemia postprandial inhibiendo las enzimas hidrolizantes de carbohidratos en el tracto gastrointestinal. Esto se puede hacer mediante la inhibición de las enzimas  $\alpha$ -amilasa (AA) y  $\alpha$ -glucosidasa (AG), que son importantes en la digestión de azúcares. Los inhibidores de estas enzimas ralentizan la digestión de los carbohidratos, por lo que prolongan el tiempo total de digestión, reduciendo la absorción de glucosa y en consecuencia, atenuando la glucosa plasmática postprandial (Ascaso 2014; Marrelli et al. 2013; Pérez-Sánchez et al. 2015).

Una patología muy relacionada con DM2 es la obesidad, pues es común que en la literatura se describa que un alto porcentaje (alrededor del 70-90%) de los diabéticos (DM2) fueron o son obesos (Fundación para la Diabetes y Nordisk 2020; Pappachan, Fernandez, y Chacko 2019). Según la OMS, un cuarto de la población mundial sufre de sobrepeso u obesidad, por lo que tiene un riesgo tres veces mayor de sufrir de diabetes (Aschner 2010; OMS 2018; OPS/OMS Colombia 2018). En Colombia, se estima que cerca de la mitad de la población adulta padece de obesidad y sobrepeso. La obesidad es una enfermedad crónica degenerativa no transmisible en la que el desbalance alimenticio genera exceso

de grasa acumulada en el cuerpo, desarrollándose la hipertrofia del tejido adiposo (Costa Gil y Spinedi 2017; Rodriguez et al. 2009). Dentro de los principales enfoques para el tratamiento de esta enfermedad se encuentran los cambios en los hábitos alimenticios, aumento de actividad física y la toma de suplementos y/o medicamentos. Los medicamentos antiobesidad generalmente involucran tres mecanismos que incluyen la mejora del gasto de energía, supresión del apetito e inhibición de enzimas gastrointestinales involucradas en metabolismo de digestión y absorción de carbohidratos y grasas. Dado que la lipasa pancreática (LP) juega un papel importante en la absorción de grasas, su inhibición también ha sido de gran interés en el desarrollo de medicamentos (Adnyana et al. 2016; Bell 2006; Birari y Bhutani 2007; Gu et al. 2011; Lee et al. 2007; Ochir et al. 2010).

Comercialmente se disponen de algunos medicamentos que inhiben enzimas digestivas, tal es el caso de Orlistat que inhibe la LP, Acarbosa y Miglitol que inhiben AA y AG. Sin embargo, muchos de estos productos se han asociado con algunos problemas gastrointestinales que incluyen hinchazón, diarrea, flatulencia y malestar abdominal (Gendaram et al. 2017; Morales G. 2017; Salvador R. et al. 2004). Por lo tanto, se hace necesario el desarrollo de nuevos agentes eficientes y seguros para inhibir este tipo de enzimas que participan en el metabolismo de carbohidratos y grasas. En este sentido muchas investigaciones se han enfocado a la búsqueda de inhibidores enzimáticos en productos naturales, dada la diversidad estructural y múltiples aplicaciones de las sustancias que se derivan de la naturaleza (Atanasov et al. 2021; Keilany 2005; Newman y Cragg 2020).

*Garcinia mangostana* L, conocida como mangostán o mangostino, es una especie proveniente del sureste de Asia e Indonesia, que se cultiva en muchas regiones tropicales del planeta dada su importancia económica. El fruto es conocido como “la reina de los frutos” por ser jugoso, suave, dulce y con múltiples propiedades terapéuticas (Farrington, Musgrave, y Byard 2019; Jiang et al. 2010). A partir de diferentes órganos se han identificado un gran número de xantonas con diversas aplicaciones, entre las que se destacan sus propiedades para tratar el cáncer, la obesidad y diabetes (Chen, Yang, y Wang 2008; Han et al. 2009; Islas A. y Revilla M. 2013; Jiang et al. 2010; Khaw et al. 2014; Yeong et al. 2020). Algunas de las xantonas identificadas en la especie se les ha determinado su potencial inhibitorio frente LP, AA y/o AG, siendo gartanina,  $\alpha$ -mangostina

---

y  $\gamma$ -mangostina de las más representativas por su capacidad para inhibir más de una enzima (Adnyana et al. 2016; Chae et al. 2016; Ryu et al. 2011). Teniendo en cuenta lo anterior y a que en la actualidad se promueven el desarrollo de fármacos con acción multidiana, las xantonas provenientes de *G. mangostana* constituyen una base interesante para emprender investigaciones en el desarrollo de inhibidores polifarmacológicos aplicables en el tratamiento de obesidad y diabetes tipo 2 (Artasensi et al. 2020; Yang et al. 2019; Zheng et al. 2014). El presente trabajo contribuye con la búsqueda de moléculas con potencial inhibitorio multidiana frente a lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, a partir de un estudio de las xantonas provenientes de *G. mangostana*.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Contribuir a la búsqueda de moléculas con potencial inhibitorio multidiana frente a lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, a partir del estudio de las xantonas provenientes del pericarpio de la especie *Garcinia mangostana* (Clusiaceae).

### Objetivos específicos

- Realizar el estudio fitoquímico biodirigido sobre la especie *Garcinia mangostana* (Clusiaceae) con el fin de obtener las xantonas con potencial inhibitorio frente a lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y/o,  $\alpha$ -glucosidasa.
- Determinar el mecanismo de inhibición enzimática sobre las enzimas lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y/o  $\alpha$ -glucosidasa de los compuestos aislados y derivados sintetizados.
- Diseñar y sintetizar algunos compuestos con acción multidiana frente a lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y/o,  $\alpha$ -glucosidasa, a partir del estudio de optimización farmacodinámica sobre las xantonas bioactivas.

# 1. Estado actual del tema

## 1.1 Importancia de la obesidad y diabetes tipo 2

La obesidad y diabetes son reconocidas ampliamente como unas de las principales problemáticas de salud a nivel mundial, dado su estrecha relación con otros trastornos patológicos (Aschner 2010; Johnson et al. 2012; OPS/OMS Colombia 2018). La diabetes mellitus es un trastorno metabólico resultante de una deficiencia relativa en la secreción de insulina y/o resistencia asociada con esta hormona, caracterizándose por hiperglucemia crónica (Calderón S. et al. 2013; Corbatón A. et al. 2004; Islas A. y Revilla M. 2013; Johnson et al. 2012). En el año 2017, 425 millones de personas en todo el mundo vivían con diabetes, estando el 90% de ellas afectadas por diabetes tipo 2 (DM2) y se espera que el número aumente a 629 millones de personas en el año 2045 (OPS/OMS Colombia 2018; Salud 2005). Un enfoque prometedor para el tratamiento de la DM2 consiste en disminuir la hiperglucemia posprandial inhibiendo las enzimas hidrolizantes de carbohidratos en el tracto gastrointestinal. Esto se puede hacer mediante la inhibición de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa importantes en la digestión de azúcares. Los inhibidores de estas enzimas ralentizan la digestión de los carbohidratos, por lo que prolongan el tiempo total de digestión, provocando una reducción de la absorción de glucosa y en consecuencia, atenuando la glucosa plasmática postprandial (Ascaso 2014; Marrelli et al. 2013; Pérez-Sánchez et al. 2015).

Una patología muy relacionada con DM2 es la obesidad, se ha descrito que alrededor del 80% de los diabéticos (DM2) fueron o son obesos (Fundación para la Diabetes y Nordisk 2020). Según la OMS, un cuarto de la población mundial sufre de sobrepeso u obesidad (Aschner 2010; OMS 2018; OPS/OMS Colombia 2018). En Colombia, se estima que cerca de la mitad de la población adulta padece de obesidad y/o sobrepeso. La obesidad es una enfermedad crónica degenerativa no transmisible en la que el desbalance alimenticio

genera exceso de grasa acumulada en el cuerpo, desarrollándose la hipertrofia del tejido adiposo (Costa Gil y Spinedi 2017; Rodriguez et al. 2009). Apareciendo con esto nuevos factores de riesgo como lo son los pacientes con diabetes, un término usado para describir la fisiopatología vinculada entre las dos enfermedades anteriormente descritas (DM2 y Obesidad), y desarrollo del síndrome metabólico, el cual de manera similar está relacionado con el desarrollo de factores de riesgo notables en las dos enfermedades tales como riesgo cardiaco, altos niveles de azúcar en la sangre, alta presión arterial, resistencia a la insulina y diabetes, lo que implica un notable incremento en la prevalencia de estas enfermedades (Al-Goblan, Al-Alfi, and Khan 2014; Libert, Nowacki, and Natowicz 2018; Pappachan et al. 2019).

### **1.1.1 Generalidades de la obesidad**

La obesidad es una enfermedad crónica catalogada así por la acumulación anormal y excesiva de grasa que aumentan el riesgo de tener problemas de salud (OMS 2018). Además, la OMS califica la obesidad o sobrepeso como un desbalance metabólico y crónico degenerativo, que se desarrolla por alteraciones nutricionales relacionadas al desequilibrio energético, es decir, un desbalance alimentario entre el número de calorías consumidas y el número de calorías gastadas (OMS/OPS 2017). Dicha deficiencia metabólica se observa en el aumento de peso corporal causado por la hipertrofia del tejido adiposo de forma anormal en el individuo, produciéndose a un nivel con el que se hace muy probable sufrir de otras patologías asociadas lo que puede ser perjudicial para la salud en mayor medida por existir principalmente una relación con diabetes tipo 2 (Rodriguez et al. 2009).

Para el diagnóstico y clasificación de la obesidad la OMS establece el indicador de obesidad y sobrepeso como el índice de masa corporal (IMC), el cual correlaciona el peso del individuo (en kilogramos), dividido entre su altura (en metros) elevada al cuadrado. Así un IMC entre 25-30 clasifica en la categoría de sobrepeso y para obesidad este IMC es igual o mayor a 30; también se emplea el índice asociado al perímetro abdominal, identificando con este el porcentaje de tejido adiposo visceral, ya que éste es uno de los más perjudiciales en la salud (Villarroya 2016).

Entre las alternativas que pueden ser usadas para el tratamiento de la obesidad, las preventivas y las terapéuticas, son pocas. Principalmente se recomienda mejorar los hábitos de vida, mejorando la dieta, dietas equilibradas, y la realización de mayor ejercicio físico. Por otra parte, la cirugía bariátrica es aplicable ante casos de obesidad extrema, aunque esta posea limitaciones para su práctica, así como restricciones y reglamentaciones para un óptimo tratamiento. Adicionalmente se encuentran, entre los tratamientos usados, una gama de fármacos (orlistat, acarbosa, metformina) no muy amplia, además de tener una eficacia moderada posee efectos secundarios poco despreciables como dolor rectal, dolor abdominal, dolor de cabeza, náuseas, diarrea y flatulencias (Villarroya 2016).

Ser un individuo con obesidad implica un alto porcentaje de tejido adiposo, entre las funciones de este tejido se encuentra la segregación de adipoquinas como TNF- $\alpha$ , interleucina 6 y resistina; Entre las acciones dadas por estas adipoquinas, el factor nuclear tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) dispone un ambiente proinflamatorio que junto a la interleucina 6 (IL 6) generan mayor tamaño de las células del tejido adiposo, lo que conlleva a la aparición de resistencia a la insulina, este hinchamiento estimula la segregación en mayor concentración de la lipasa sensible a hormonas (LSH), que entre su principal acción se encuentra favorecer la lipólisis de triglicéridos almacenados en este tejido, con lo que se observa un aumento anormal de ácidos grasos libres (AGL); Los AGL se encuentran relacionados con la resistencia a la insulina y a la diabetes tipo 2, además se vinculan con otros factores de riesgo como la hipertensión arterial, la hiperuricemia y el daño de las células  $\beta$  del páncreas (Costa Gil y Spinedi 2017; Rodriguez et al. 2009).

### **1.1.2 Generalidades de la diabetes**

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad integrada por un grupo de síndromes que en la práctica se observan como la hiperglucemia conocida por la elevada concentración de glucosa en plasma, resultado de un mal funcionamiento de las células beta del páncreas; además, la baja sensibilidad que el cuerpo tiene frente a la insulina en el tejido musculo-esquelético (Corbatón A. et al. 2004; Islas A. y Revilla M. 2013) y las alteraciones metabólicas de carbohidratos, grasas y proteínas (Calderón S. et al. 2013; Johnson et al. 2012).

Dichas alteraciones generan diferentes efectos sobre el cuerpo, lo que conlleva asignar una debida clasificación a la diabetes según sus alteraciones, esta clasificación es asignada por la American Diabetes Association (ADA). La deficiencia absoluta de insulina por daño completo de las células beta del páncreas se asocia a diabetes mellitus tipo 1 (DM1); la existencia de insulinoresistencia y/o alteración en la secreción de insulina, es presentada por los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2), siendo los de mayor incidencia en la población con esta enfermedad. También existen la diabetes gestacional y otros tipos raros (Corbatón A. et al. 2004).

Entre las causas que generan estas alteraciones de salud se encuentra un componente ambiental, como lo es la obesidad abdominal, el sedentarismo y la mala alimentación, y también otras alteraciones de tipo hormonal, disminución en la secreción de insulina y aumento en secreción del glucagón (Ascaso 2014).

Entre las formas de prevención de obesidad y diabetes tipo 2 se encuentran la pérdida de peso con el uso de una dieta baja en grasas y calorías, realización de ejercicio físico, esto como método de control y prevención ante la obesidad (Aguilar S. y Aschner 2019).

El tratamiento dado para personas con DM2 ha sido constituido bajo el uso de fármacos hipoglucemiantes como inhibidores enzimáticos entre los que se encuentran acarbose y miglitol con efecto sobre la degradación de hidratos de carbono en el intestino; gliburida y acetoxamida entre otros, para el aumento en la secreción de insulina. Las glitazonas y biguanidas frente al aumento de sensibilidad a la insulina. Sin embargo, con el uso de estos fármacos hipoglucemiantes se han encontrado problemas secundarios relacionados de manera general con un menor número de células beta del páncreas, generación de hipoglucemias, deterioro vascular, además, aumento de peso inducido, agravando la obesidad, la resistencia a la insulina y la hiperglucemia, lo que afecta en mayor medida a los pacientes con enfermedad diabética (Ascaso 2014; Corbatón A. et al. 2004).

## **1.2 Enzimas digestivas como blancos terapéuticos para el tratamiento de obesidad y diabetes tipo 2**

### **2**

La modulación de las enzimas digestivas ha demostrado un efecto promisorio frente a las enfermedades DM2, obesidad y síndrome metabólico, debido al efecto de influir en el metabolismo, lo anterior es dado por la modulación de las enzimas que involucradas principalmente en la digestión de carbohidratos y grasas (Shakoor et al. 2020). Al dificultar la descomposición de almidones y grasas a causa de la inhibición catalítica de algunas de estas enzimas digestivas como AA, AG y LP, dificulta la digestión y absorción, reduciendo así la concentración de glucosa posprandial y la disminución de peso corporal (Al-Goblan et al. 2014; Shakoor et al. 2020). Por lo cual, se resalta aquí la importancia en el hallazgo de nuevas alternativas en el tratamiento de enfermedades como DM2 y obesidad, las cuales comparten algunos factores de riesgo y de desarrollo de la enfermedad. Dada esta razón los tratamientos actuales se encaminan hacia el uso de terapias con el uso de fármacos que poseen efecto sobre más de una diana molecular, por lo que se trabaja en el desarrollo de fármacos multidiana para enfermedades como la diabetes, la obesidad y la diabetes (Ballester y Giorgi 2017; Pappachan et al. 2019; Zhang, Pei, y Lai 2017).

Los fármacos polifarmacológicos son moléculas químicas con la capacidad de modular dos o más dianas farmacológicas simultáneamente regulando y logrando las respuestas fisiológicas deseadas (Zhang et al. 2017). Con el fin de que esto genere una mayor efectividad, desarrollando fármacos más seguros y con menor probabilidad de fracaso en la terapia (García M. y Holm 2018). En la actualidad algunos fármacos que se encuentran en el mercado tienen actividad sobre más de una diana como es el caso de la metformina, amilina y fármacos pertenecientes a los grupos de sulfonilurias, entre otros (Pappachan et al. 2019). En algunos casos esta actividad no selectiva puede incrementar casualmente la eficacia, mientras que en otros casos se asocia a un mayor número de efectos secundarios (Ballester y Giorgi 2017; García M. y Holm 2018).

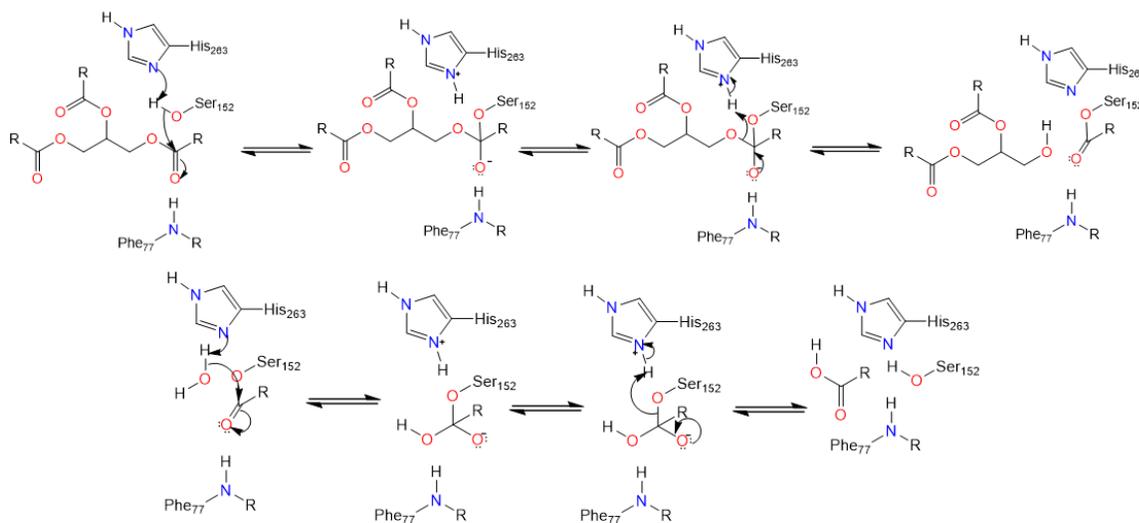
El diseño de estos fármacos con efectos multidiana ha venido tomando fuerza en su investigación, desarrollo y aplicación. Los métodos de diseño de fármacos con objetivos múltiples abordan en principio las mismas preocupaciones de los medicamentos con un

solo objetivo. Teniendo desde este punto las herramientas computacionales como una fuente de trabajo para el desarrollo de dichos fármacos. Técnicas de *screening* basado en farmacóforos, *molecular docking*, modelos QSAR (Shang et al. 2014; Zhang et al. 2017).

### 1.2.1 Lipasa pancreática (LP)

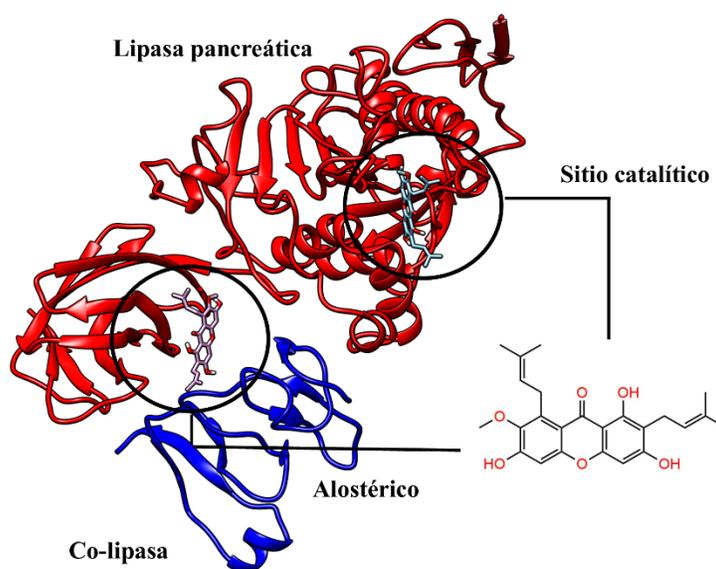
La lipasa secretada por el páncreas más conocida y estudiada se encuentra principalmente en el páncreas exocrino de la mayoría, sino de todos, los vertebrados adultos. Los niveles de lipasa en el duodeno aumentan con la edad y alcanzan los niveles de los adultos en los primeros 1 a 2 años de vida. Es una enzima de 465 aminoácidos y una masa molecular de 48 kDa; adicionalmente, cuenta para el desarrollo de su actividad con una pequeña proteína (colipasa o cofactor proteico) de bajo peso molecular con alrededor de 10 kDa y esta no tiene propiedades de actividad enzimática propias. Por lo tanto, la conformación activa de esta lipasa se genera a través del complejo LP-colipasa (1:1) (Pleiss et al. 2000; Whitcomb y Lowe 2007).

De esta manera, la función de esta enzima se activa al existir una disminución de pH del lumen intestinal de 8.1 a 6, el cual es el pH óptimo para la enzima, dado esta activación, la enzima promueve la digestión intestinal hidrolizando triglicéridos y liberando una mezcla de diacilgliceroles, monoglicéridos, ácidos grasos libres y moléculas de glicerol Figura 1-1.



**Figura 1-1.** Mecanismo de reacción de la hidrólisis de triglicéridos desarrollada por la LP.

Adicionalmente, la estructura cristalina de LP demuestra la existencia de 2 dominios. El dominio N-terminal tiene el pliegue  $\alpha / \beta$  hidrolasa, que está presente en otras lipasas y esterases. Este dominio contiene la tríada catalítica Ser-His-Phe; y el otro dominio, el dominio C-terminal, tiene una estructura de sándwich  $\beta$  y proporciona la principal superficie de unión para la colipasa (Sankar y Maida E. 2018; Whitcomb y Lowe 2007). Entre las características del complejo de la enzima LP-colipasa obtenida del PDB, clasificada como hidrolasa (carboxílica esterasa), se tiene una resolución de 2.46 Å, con 4300 átomos y 544 residuos, la estructura del dímero lipasa-colipasa se encuentra unida covalentemente un inhibidor de tipo fosfonato de alquilo y posee además un valor  $R_{\text{free}} = 0.285$  (Pierre Egloff et al. 1995). Así se puede observar en la Figura 1-2 el sitio de unión catalítico formado en la interface entre lipasa y colipasa (His<sup>263</sup>, Ser<sup>152</sup>, Phe<sup>77</sup>), donde es usual se ubiquen los inhibidores de esta enzima (Sankar y Maida E. 2018). Adicionalmente, autores presentan reportes para todas las lipasas presentan en su centro activo un residuo tipo serina y los otros dos residuos pertenecientes a la tríada catalítica pueden ser reemplazados por una variedad de aminoácidos ya que el hueco formado por la serina y el segundo residuo son los encargados de formar el centro nucleofílico del sitio catalítico (Sankar y Maida E. 2018).



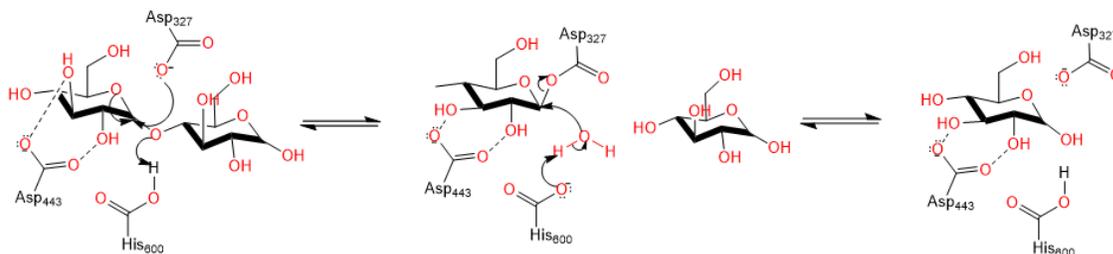
**Figura 1-2.** Sitios de unión catalítico y alostérico de la  $\alpha$ -mangostina en la estructura de la lipasa pancreática (Código de PDB:1LPB).

Por otra parte, el único fármaco aprobado por la Food and Drug Administration (FDA), que actúa sobre la LP como inhibidor irreversible y es usado en el tratamiento de la obesidad, es el orlistat, un producto semisintético de la lipstatina, producido por la bacteria *Streptomyces toxytricini*. Los efectos secundarios del orlistat son severos, dentro de los

cuales se incluyen: heces grasosas, incremento de la flatulencia, incontinencia fecal y trastornos en la absorción de vitaminas liposolubles, entre otros. Debido a esto, se ha realizado investigaciones buscando alternativas de tratamiento que en su mayoría son de origen natural, las cuales tienen un potencial inhibitorio comparado con el orlistat, encontrando a las especies como *Syzygium aromaticum*, *Cudrania tricuspidata*, *Cosmos caudatus* y *Garcinia mangostana* que generan mejores resultados y contrarrestan en su mayoría efectos secundarios ocasionados a nivel gastrointestinal, por lo cual, se podrían tener en cuenta para el desarrollo de futuros medicamentos que ayuden a combatir la obesidad de manera más sencilla y que sea beneficioso para la población afectada (Briggyth, Rojas, y Castillo 2019; Chae et al. 2016).

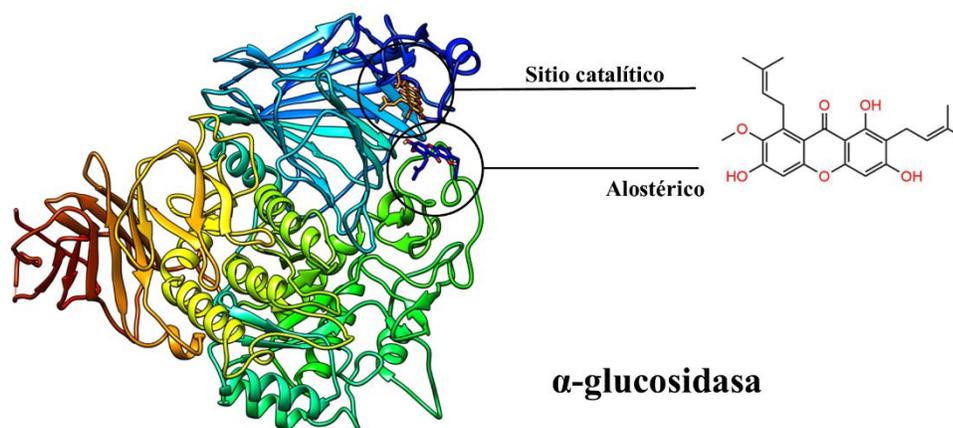
### 1.2.2 $\alpha$ -Glucosidasa (AG)

La  $\alpha$ -glucosidasa, posee alrededor de 868 aminoácidos, con una masa molecular de 98.8 kDa. La estructura de AG tiene 5 dominios principales: (1) dominio tipo trébol P (residuos 1-51); (2) dominio tipo sándwich  $\beta$  N-terminal (residuos 52-269); (3) dominio tipo catalítico ( $\beta/\alpha$ ) (residuos 270-651), (4) dominio proximal C-terminal (residuos 652-730); y (5) dominio distal C-terminal (residuos 731-868), ambos con tipología sándwich  $\beta$  (Sim et al. 2008). La función catalítica común a todos los miembros de las enzimas hidrolíticas es la escisión de los enlaces  $\alpha$ -(1,4)-glicosídicos no reductores para liberar  $\alpha$ -D-glucosa de un carbohidrato terminal, mientras que sus sustratos varían en tamaño desde pequeños disacáridos hasta grandes polímeros de almacenamiento, como almidón, glucógeno y glucoproteínas Figura 1-3 (Brás et al. 2018; Ernst et al. 2006).



**Figura 1-3.** Mecanismo de reacción de la hidrólisis de disacáridos desarrollada por la AG. Además, la enzima AG humana en complejo con acarbosa obtenida del PDB, clasificada como una hidrolasa, la cual posee una resolución de 1.9 Å, con 7123 átomos, 870 residuos

y un valor  $R_{\text{free}}=0.215$  (Sim et al. 2008). Posee una triada catalítica con residuos como Asp<sup>327</sup>, Asp<sup>443</sup>, His<sup>600</sup> con la característica de mantener dos residuos aminoacídicos ácidos los cuales están involucrados en la actividad catalítica de esta enzima, ilustrándose el sitio catalítico generalmente hallado en complejo con acarbosa, así se observa el sitio de escisión de azúcares en la Figura 1-4 (Sim et al. 2008).



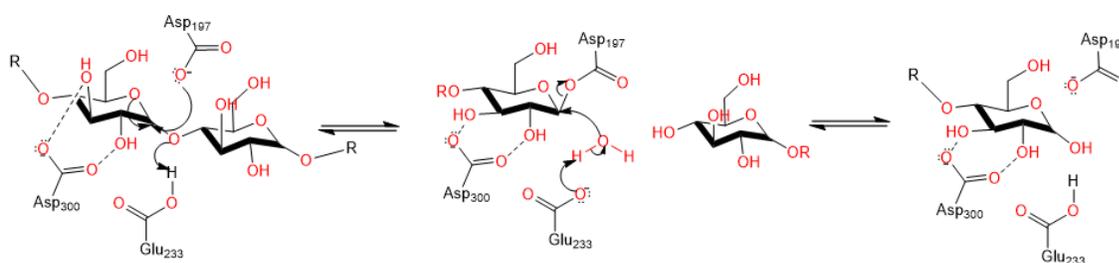
**Figura 1-4.** Sitios de unión catalítico y alostérico de la α-mangostina en la estructura de α-Glucosidasa (Código del PDB: 2QMJ).

Por otro lado, los fármacos actualmente aprobados para la inhibición de la enzima AG por la FDA, y son usados en el tratamiento de la DM2, son acarbosa y miglitol, cuyos efectos gastrointestinales son adversos y de importancia, además de no poseer información a largo plazo, respectivamente para cada fármaco. Efectos entre los que se presenta dolor abdominal, trastornos de absorción, hipoglucemia, entre otros. Por esta razón, interesa el hallazgo de nuevas alternativas para el tratamiento de DM2, donde se han hallado productos de origen natural como lo son las especies *Garcinia cowa*, *mangostana* y *aloe vera*, como especies promisorias frente la inhibición de esta enzima, por lo que se podrían tener en cuenta para el desarrollo de futuros medicamentos que ayuden a combatir la DM2 de manera más sencilla y que sea beneficioso para la población afectada (Briggyth et al. 2019; Chaudhury et al. 2017; Ryu et al. 2011; Sriyatep et al. 2015).

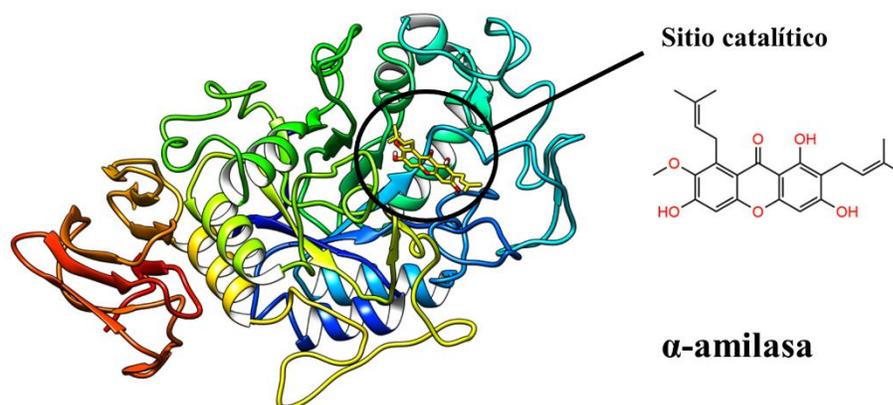
### 1.2.3 α-Amilasa (AA)

La α-amilasa, una glicoproteína de 57 kDa, es una proteína de 512 aminoácidos con un peso molecular de 57,6 kDa. La proteína contiene 3 dominios: A, B y C. El sitio de unión al sustrato se encuentra en una hendidura entre los dominios A y B. Los residuos en los

dominios A y B se unen al calcio, lo que puede estabilizar la hendidura del sitio activo. Una molécula de cloruro se une al dominio A cerca de la hendidura del sitio activo. El dominio C forma una estructura completamente  $\beta$  y parece ser un dominio independiente con función desconocida. La unión de análogos de sustrato sugiere que Asp<sup>197</sup> y Asp<sup>300</sup> participan en la catálisis. El sitio de unión al sustrato contiene 5 subsitios con el sitio catalítico colocado en el subsitio 3. El sustrato puede unirse con el primer residuo de glucosa en el subsitio 1 o 2, permitiendo que se produzca la escisión entre el primer y el segundo o el segundo y el tercer residuo de glucosa. En consecuencia, la amilasa escinde preferentemente los enlaces  $\alpha$ -1,4-glucosa internos (Figura 1-5), no los residuos terminales de glucosa ni los enlaces  $\alpha$ -1,6 pueden escindirse mediante AA (Qian et al. 1997; Whitcomb y Lowe 2007; Williams 2017; Williams et al. 2012).



**Figura 1-5.** Mecanismo de reacción de la hidrólisis de polisacáridos desarrollada por la AA. Asimismo, entre las características principales de la enzima AA humana en complejo con el compuesto miricetina, se encuentran estar clasificada en el grupo de las hidrolasas, con una resolución de 1.2 Å y poseer un valor de  $R_{free}=0.198$ , además de tener 3485 átomos y 496 residuos aminoacídicos (Williams et al. 2012). Así se puede observar en la Figura 1-6 el bolsillo de interacción catalítico para esta enzima Asp<sup>197</sup>, Glu<sup>233</sup>, Asp<sup>300</sup> (Williams et al. 2012).



**Figura 1-6.** Sitio de unión catalítico de la α-mangostina en la estructura de α-Amilasa (Código de PDB:4GQR).

Por otro lado, la acarbosa es usada como fármaco para la inhibición de la AA, cuyo efecto es más potente frente a la enzima AG y se exhibe un efecto inhibitorio frente a AA más disminuido, además, posee efectos adversos similares a los generados con la enzima AG pero en menor expresión. Dados que estos efectos se ven un poco más disminuidos actualmente, desde los productos naturales se han hallado porcentajes comparados con acarbosa, promisorios frente a la inhibición de AA, teniendo entre las especies halladas a los extractos de *Faujasiaopsis flexuosa*, *Erythroxyllum laurifolium*, *Elaeodendron orientale*, *Antidesma madagascariensis*, *Garcinia xanthocymus* y *mangostana*, entre otras (Ibrahim et al. 2019; Nguyen et al. 2017; Ponce, Rodriguez V., y Juarez 2019). Observando que el objetivo de algunas investigaciones es la de hallar compuestos con la capacidad de inhibir la enzima AA y posiblemente, la enzima AG por tratarse de sustratos similares para su acción catalítica y así hacer un control integral de la diabetes (Gorgojo-Martínez 2014; Ponce et al. 2019).

### **1.3 Plantas como fuente de sustancias para la inhibición de enzimas digestivas (LP, AA y AG)**

El actual interés en los productos naturales se puede atribuir a diferentes factores, entre los que se encuentran necesidades terapéuticas insatisfechas, poca disponibilidad de variedad de fármacos y falta de estudios químicos y biológicos completos de un amplio número de especies. Por otra parte, se resalta su importancia debido a que de estos se pueden hallar compuestos con actividad farmacológica que puede ser útil para tratar

diversos tipos de enfermedades. Estos pueden actuar como componentes activos no solo para la medicina tradicional sino también para las medicinas modernas. Estos productos naturales se utilizan a menudo como puntos de partida para el descubrimiento de fármacos en la síntesis química a partir de los cuales se pueden preparar análogos sintéticos con mayor eficacia, potencia, seguridad y pureza (Chintoju et al. 2015). Además, los recursos naturales son una alternativa en la búsqueda de compuestos con actividad antidiabética y antiobesidad, entre otras. El uso de medicina tradicional a base de hierbas se ha propagado, en los países en desarrollo, pero también en los países industrializados, como una forma complementaria de tratar y prevenir las enfermedades (OMS 2013; Yuan et al. 2016). La importancia de los productos naturales en el tratamiento de la diabetes está bien documentada, y son menos costosas en comparación con los agentes hipoglucémicos sintéticos. Varios de estos compuestos han sido obtenidos de plantas (flavonoides, compuestos fenólicos, taninos condensados, taninos hidrolizables, terpenos y derivados del ácido cinámico) o microbios (acarbose, miglitol, voglibosa) (Hiéu et al. 2009; Newman y Cragg 2020; Ponce et al. 2019; Sekhon-Loodu y Rupasinghe 2019).

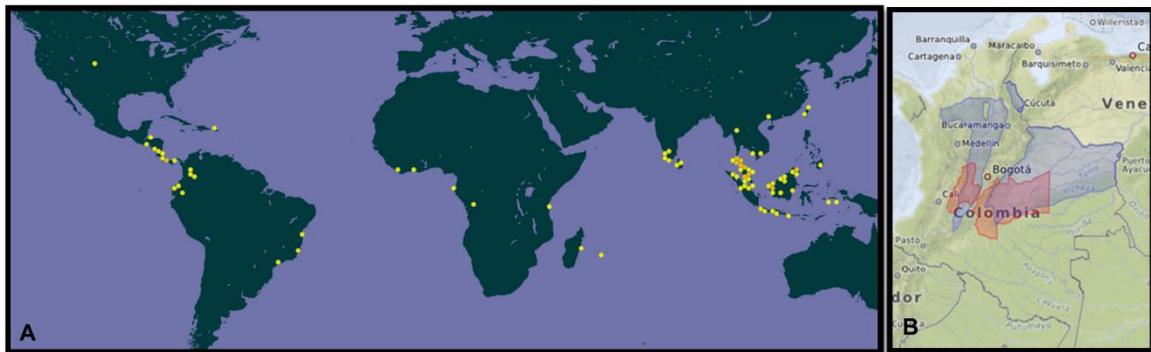
Precisamente la metformina aislada de la especie *Galega officinalis* hace parte de los fármacos comercializados que aumentan la sensibilidad de la insulina para el tratamiento de la DM. Existen plantas reportadas para el tratamiento de estas enfermedades DM2 y obesidad, dentro de las cuales podemos encontrar *G. mangostana*, *G. cambogia* (Chae et al. 2016; Jiang et al. 2010). Por otro lado, las propiedades antidiabéticas se deben a la inhibición de las enzimas digestivas (AG, AA, LP), como los compuestos  $\alpha$ -mangostin y ácido hidroxícitrico que presentan algunos de los mecanismos de acción frente a la diabetes y obesidad previamente mencionados (Adnyana et al. 2016; Farrington et al. 2019; Jiang et al. 2010; Li et al. 2009). Adicionalmente los compuestos naturales también han exhibido su potencial farmacéutico multidiana en el tratamiento de diabetes, obesidad, Alzheimer y cáncer (Brito, Berenger, y Figueiredo 2017; Cruz 2017; Mahendran et al. 2015).

Entre la variada gama de usos que se le ha atribuido al fruto de *G. mangostana* (Clusiaceae), la actividad que presentan algunos de sus metabolitos centra la búsqueda y la identificación de compuestos que posibiliten un tratamiento a enfermedades como la obesidad y la diabetes tipo 2. Por ello los metabolitos secundarios aislados del mangostino (*G. mangostana*) como el  $\alpha$ -mangostin,  $\beta$ -mangostin y  $\gamma$ -mangostin entre otros, han

mostrado un efecto multidiana positivo para controlar la obesidad y diabetes, inhibiendo la actividad de blancos terapéuticos como las enzimas LP (Adnyana et al. 2016), AG (Ryu et al. 2011) y AA (Hasenah, Houghton, y Soumyanath 2006).

### 1.3.1 Generalidades de la especie *Garcinia mangostana*

*G. mangostana* (Clusiaceae), es un árbol con orígenes en el sudeste de Asia e Indonesia, siendo endémica de la península de Malay, Myanmar, Tailandia, Camboya, y Vietnam. Asimismo, es cultivada en Colombia en zonas como Chocó, Antioquia, Valle del Cauca, Tolima, Meta y Nariño. La clasificación taxonómica de esta especie se presenta en el género *Garcinia*, familia Clusiaceae, orden Malighiales, clase Magniolopsida, filo Magnoliophyta y reino Plantae. En la Figura 1-7 se ilustra la distribución geográfica de esta especie.



**Figura 1-7.** Distribución geográfica de la especie *G. mangostana*. **A)** Distribución a nivel mundial (zonas en color amarillo). **B)** Distribución en Colombia (zona biogeográfica en color azul, zona de cultivo en color rojo).

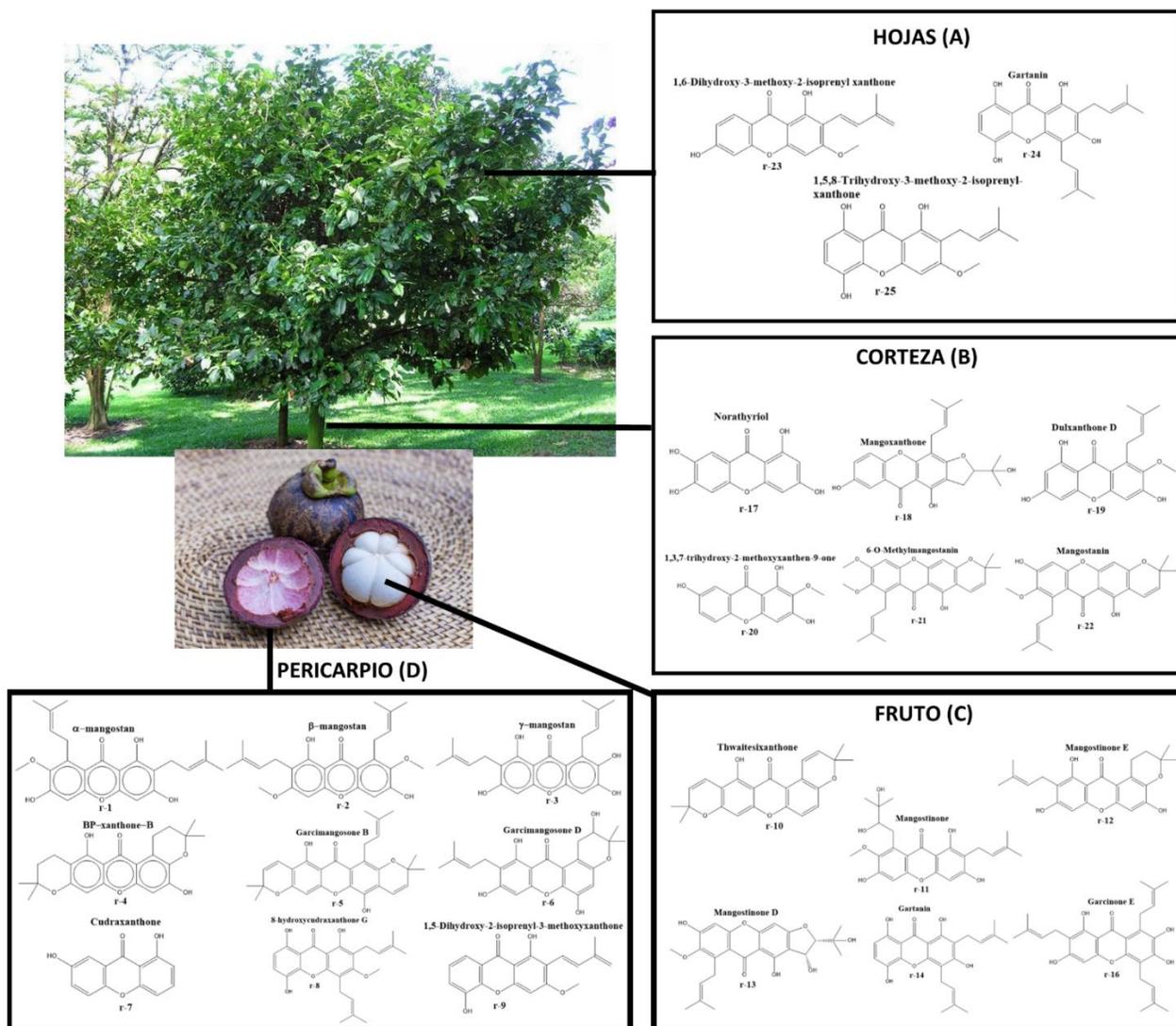
*G. mangostana* (Clusiaceae), conocida también como mangostán o mangostino, reina de los frutos. En la actualidad esta especie se encuentra en todas las zonas tropicales sin limitarse a solo su área de origen por lo que en la actualidad se encuentra cultivada en zonas tropicales del viejo y nuevo continente (Farrington et al. 2019). Además, esta especie es un árbol frutífero con algunas características observadas en la Figura 1-8 (Medellín Zabala 2016). Posee gran importancia económica, teniendo así regiones del país donde se cultiva, se consume su fruto, se realizan preparaciones a partir de este como yogurt, jugos, postres, y algunas preparaciones por infusión en caliente del pericarpio del fruto, pericarpio al cual se le atribuye pérdida de peso.



**Figura 1-8.** Características del árbol, hojas y fruto de la especie *G. mangostana* (Clusiaceae).

De los estudios fitoquímicos realizados sobre la especie, xantonas de diversos tipos, flavononas, flavonoles, biflavonoles, xantonas glicosiladas y bifenilos son los metabolitos comúnmente reportados y que tienen gran importancia para la especie (Jiang et al. 2010).

Las xantonas son la clase de compuestos químicos de mayor relevancia para la especie *G. mangostana*, pues están presente en la mayoría de los órganos estudiados de la planta, hallando alrededor de 87 compuestos en total. Del estudio fitoquímico de las hojas se aislaron 3 compuestos. De la corteza fueron aislados 20 compuestos. Del estudio de la pulpa del fruto un total de 15 compuestos y, finalmente, del estudio del pericarpio del fruto un total de 49 compuestos, algunos de los cuales se ilustran en la Figura 1-9 (Pedraza-Chaverri et al. 2008).



**Figura 1-9.** Compuestos aislados de *G. mangostana*. Clasificación por órgano estudiado a) hojas, b) corteza, c) pulpa del fruto y d) pericarpio.

*G. mangostana* (Clusiaceae) se le han realizado diversos ensayos de la actividad biológica siendo atribuida la acción frente a la pérdida de peso, asociado esto a la acción inhibitoria del  $\alpha$ -mangostina sobre la enzima ácido graso sintasa (Farrington et al. 2019). Además, esta especie posee propiedades antiinflamatoria, antimicrobiana, anticancerígena y ahora se estudia la actividad antidiabética, razón por la cual son altamente estudiados, teniendo presente que compuestos aislados como el alfa mangostán y el gamma mangostán posee efectos promisorios frente a los blancos enzimáticos propuestos (LP, AA y/o AG) (Brito et al. 2017; Che H., Taher, y Susanti 2018; Pedraza-Chaverri et al. 2008).

Así algunos de los compuestos ilustrados en la Figura 1-9, presentan reportes de inhibición frente a las enzimas LP y AG, donde también se halla reportado los porcentajes de inhibición para la enzima AA, ya que no se han establecido aún las concentraciones inhibitorias 50 para esta enzima. El porcentaje de inhibición causado por el extracto etanólico frente a LP siendo mayor al 50% de inhibición. Los reportes realizados por diversos autores se describen y resumen en la tabla 1-1 (Adnyana et al. 2016; Chae et al. 2016; Ibrahim et al. 2019; Mohamed Ibrahim et al. 2019; Ryu et al. 2011; Santos, Freitas, y Fernandes 2018; Sumaryada y Roslia 2016; Vongsak et al. 2015).

**Tabla 1-1.** Actividades y tipos de inhibición reportados para algunos compuestos aislados de *G. mangostana* y extracto etanólico del mismo,

Actividad enzimática						
Muestra	Lipasa pancreática		α-glucosidasa		α-amilasa CI <sub>50</sub> (μM)	
Extracto etanólico	60% de inh		74% de inh		105.3	
compuestos aislados	Lipasa pancreática CI <sub>50</sub> (μM)	TI	α-glucosidasa CI <sub>50</sub> (μM)	TI	α-amilasa	TI
9-hidroxiclabaxantona	12		34.2		--	
8-desoxigartanina	>50		21.5	M	--	
Gartanina	12		10	M	--	
α-mangostina	5/47.3	NC	10 / 5 / 29.2	M	60% de inh	
γ-mangostina	10		5 / 1.5 / 4.2	M	69.7% de inh	
1-isomangostina	34.5		--		--	
Garcinona D	22.5		--		--	
Smeatxantona A	19.5		--		--	
Tovofilina A	12.5		--		--	
Mangostanina	21		--		--	
Calocalabaxantona	>50		--		--	

TI: tipo de inhibición, NC: no competitivo, M: mixto, inh: inhibición.

## 1.4 Estudios computacionales aplicables en el desarrollo de inhibidores enzimáticos

Durante el proceso de desarrollo de fármacos hay una variedad de procesos asistidos por computadora que cobran importancia, ya que el principal objetivo es el diseño y desarrollo de nuevos fármacos con actividad biológica. Estos procesos se centran en fármacos de uso clínico por lo que, vienen fortaleciéndose en el campo de investigación, en la industria, en las universidades y centros de investigación. Estas herramientas también son de gran utilidad y ayuda en campos como la bioquímica, química de alimentos, productos naturales,

entre otros (Medina-Franco, Fernán-Dezde Gortari, y Naveja 2015). Por lo anterior, se destacan algunos fármacos que se diseñaron de manera exitosa y que poseen algún uso terapéutico, como es el caso de la norfloxacin como antibacteriano, sal de potasio de losartán como tratamiento de la hipertensión, Mesilato de nelfinavir y sulfato de indinavir como tratamientos para el SIDA (López-Vallejo, Medina-Franco, y Castillo 2018). Entre las disciplinas usadas para el desarrollo de nuevos fármacos, en cualquiera de los campos anteriormente presentados, se encuentra modelado molecular, química informática, química teórica y química computacional.

### **1.4.1 Estudios de acoplamiento molecular de moléculas naturales aplicados en la inhibición de las enzimas**

El método de acoplamiento molecular consiste en realizar cálculos y predicciones de manera rápida y confiable, usando como base los ligandos moleculares y las estructuras proteicas con el fin de encontrar cuál se ajusta mejor con algunos criterios establecidos, como rigidez en el modelo cristalográfico y flexibilidad de los ligandos en el momento de estudiar los modos de unión (Preto y Gentile 2019; Repasky, Shelley, y Friesner 2007). Adicionalmente, este proceso permite predecir modos de unión que adopta un ligando cuando interacciona con una proteína objetivo y con ello establecer la energía de interacción, en función de su afinidad, entre el ligando y su receptor. Así como predecir los sitios de unión con mayor probabilidad de unión (Li, Fu, y Zhang 2019).

De esta manera, los estudios reportados muestran descripciones incompletas acerca de las actividades biológicas pudiendo ser una razón la dificultad en el aislamiento de estos metabolitos. Dicho esto, el uso de simulaciones *in silico* y metodologías de síntesis pueden contribuir como recurso para generar descripciones más detalladas y amplias sobre el potencial biológico que pueden poseer las xantonas.

El miglitol es usado en el tratamiento de diabetes tipo 2, éste y otros fármacos como acarbose son el punto de comparación en el estudio de potenciales compuestos líderes ante el blanco enzimático AG con la herramienta de acoplamiento molecular que modela el tipo de interacción y los sitios a los que posiblemente se encuentra unido el ligando y genera su acción de inhibición. Por lo que para las xantonas  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -mangostina resultaron ser esqueletos promisorios con actividad inhibitoria frente a AG, ya que la interacción entre la proteína y el ligando hallado generó menor energía (-6,7, -6,3 y -7.6,

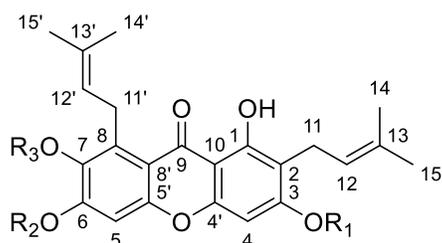
respectivamente para cada xantona) comparados con el fármaco miglitol (-5.3), y cuya interacción reveló los aminoácidos presentes el bolsillo de interacción representado por los siguientes aminoácidos Tyr<sup>626</sup>, Asp<sup>702</sup>, Glu<sup>704</sup>, Glu<sup>719</sup>, Lys<sup>724</sup>, Gly<sup>76</sup>, Leu<sup>727</sup> y His<sup>728</sup> (Sumaryada y Roslia 2016).

### **1.4.2 Estudios de optimización farmacodinámica sobre moléculas naturales aplicados en la inhibición de las enzimas**

Los modelos con los cuales se busca optimizar una molécula de manera que interactúe frente a uno o varios blancos de importancia han sido descubiertos tras la búsqueda de nuevos fármacos para hacerle frente a enfermedades de alta importancia a nivel global tales como tuberculosis, malaria, infecciones virales, entre otras. Los mecanismos usados en la actualidad se desarrollan a nivel *in silico* con herramientas computacionales desarrolladas con el fin de hallar estas nuevas moléculas y potenciarlas para obtener un mayor efecto. Por tal motivo, se usan programas tanto que predigan la actividad molecular como que identifiquen los cambios en la estructura molecular que se deben realizar para aumentar dicha acción sobre el blanco. Entre estas metodologías se encuentran programas que basan su estudio en modelos de similitud molecular con actividad reportada, modelos farmacóforos a través de comparación con bases de datos, modelos de relación cuantitativa de estructura y actividad (QSAR, por sus siglas en inglés) y por modelos de acoplamiento molecular (Mignani et al. 2016; Neves et al. 2018; Da Silva, Desaphy, y Rognan 2018; Uthuppan y Soni 2013; Xu et al. 2018).

Así se han realizado análisis de modelos farmacóforos basado en inhibidores de LP, AG y AA, obteniendo potentes inhibidores alternativos en el manejo de la diabetes y obesidad. Con esto, sintetizar derivados en el que sus esqueletos poseen propiedades químicas y biológicas únicas. En el caso de LP se halló el compuesto N-ftaloil fenacil éster como potente inhibidor anti obesidad con el cual se han desarrollado pruebas preclínicas (Sankar y Maida E. 2018). Además, los estudios desarrollados a partir de los blancos terapéuticos AG y AA, permitieron evidenciar a través de herramientas como *molecular docking*, QSAR (quantitative structure activity relationship, por su sigla en inglés) que las moléculas tipo xantona ( $\alpha$ -mangostina,  $\beta$ -mangostina y  $\gamma$ -mangostina) con varios grupos ricos en electrones muestra buena interacción en especial cuando existen grupos hidroxilo en

posiciones 1 y 3 sobre el anillo A de la estructura de la xantona (Figura 1-10) (Ibrahim et al. 2019; Mohamed Ibrahim et al. 2019; Zawawi et al. 2016). Con AA el hidroxilo en la posición 1 resultó ser una posición clave para la interacción de las xantonas con la proteína AA, es así evidente que ofrece una estrategia eficaz para hallar compuestos capaces de disminuir los niveles de hiperglucemia (Chantarasriwong et al. 2018; Nisha 2017; Ye et al. 2019). Estos resultados permiten dar evidencia de la efectividad que se logra tras el uso de herramientas como *molecular docking*, estudios QSAR o modelados farmacofóricos, se evidenciaron posiciones y grupos responsables de la actividad y de su interacción en el modelo de unión, permitiendo con esto establecer y diseñar compuestos con propiedades antidiabéticas y antiobesidad más potentes (Kim et al. 2018; Sankar y Maida Engels 2018; Taha et al. 2015; Zawawi et al. 2016).



X-Mangostina	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$
R <sub>1</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H
R <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>	H
R <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H

**Figura 1-10.**  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ - mangostán extraído del pericarpio de la especie *G. mangostana* (Clusiaceae).



## 2. Metodología

### 2.1 Estudio fitoquímico biodirigido sobre la especie *Garcinia mangostana* (Clusiaceae)

#### 2.1.1 Procedimientos generales

Para el fraccionamiento del extracto se empleó cromatografía líquida al vacío (CLV) utilizando como fase estacionaria sílica gel 60 F<sub>254</sub> SiliaPlate™ de tamaño 5-20 µm (SiliCycle® Inc, Canadá). Las separaciones cromatográficas en la parte fitoquímica y sintética se realizaron mediante cromatografía flash (CF) utilizando como fase estacionaria sílica gel P<sub>60</sub> SiliaFlash® de tamaño 40-63 µm (SiliCycle® Inc, Canadá). Los estudios cromatográficos, el monitoreo de las cromatografías líquida al vacío y flash se realizaron por cromatografía en capa delgada (CCD) empleando cromatoplasmas de sílica gel 60 F<sub>254</sub> SiliaPlate™ (SiliCycle® Inc, Canada), utilizando como revelador luz UV (254 y 365 nm), vainillina al 0,1% en ácido sulfúrico, anisaldehído al 0.5% en ácido acético y/o cloruro férrico al 0.1% en ácido sulfúrico.

Los disolventes utilizados para las separaciones cromatográficas fueron de grado técnico y destilados antes de su uso. Los solventes empleados en las reacciones químicas (diclorometano, metanol, acetona, acetato de etilo) fueron de grado analítico y en algunos casos almacenados en atmósfera inerte sobre tamiz molecular de 4 Å. Los demás reactivos utilizados en este estudio fueron adquiridos comercialmente y usados sin purificación adicional.

Los compuestos aislados y sintetizados fueron elucidados mediante el empleo de técnicas espectroscópicas y espectrométricas, y por comparación con los datos reportados en la literatura. Los espectros de RMN uni y bidimensionales fueron adquiridos en un espectrómetro Avance AC-400 (Bruker®, Germany), empleando solventes deuterados a una temperatura de 25 °C. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están expresados en partes

por millón (ppm) y las constantes de acoplamiento (J) en Hertz (Hz). Los tipos de carbonos presentes en cada una de las moléculas elucidadas fueron obtenidos de los análisis de los experimentos APT. Los análisis de espectrometría (HRMS) se realizaron en LC-MS QTOF 9030, Nexera X2 (Shimadzu®, Alemania). El método de ionización fue ESI operado en modo de iones negativos. Las muestras se disolvieron en metanol. Adicionalmente, los puntos de fusión se determinaron en un Thermo Scientific 590Q Fisher-Johns (Thermo Scientific, EE. UU.)

### **2.1.1 Material vegetal**

Los frutos de *G. mangostana* fueron adquiridos en la plaza de mercado de Paloquemao de la localidad de Teusaquillo en Bogotá D. C., Colombia. La especie fue determinada por el biólogo Néstor García y un espécimen fue depositado en el Herbario de la Pontificia Universidad Javeriana con el número HPUJ-29768.

### **2.1.2 Extracción y fraccionamiento realizado al pericarpio de *G. mangostana***

El pericarpio del fruto seco y molido de *G. mangostana* (3345 g) fue sometido a extracción con etanol al 96% empleando el método de maceración a temperatura ambiente. La solución resultante fue concentrada por destilación a presión reducida para obtener 562,1 g de extracto etanólico. Los 562,1 g de extracto fueron fraccionados por cromatografía líquida al vacío (CLV) y eluída con solventes de diferente polaridad: diclorometano (DCM), acetato de etilo (AcOEt), isopropanol (IPA) y mezcla etanol-agua (EtOH-H<sub>2</sub>O 8:2). Después de la evaporación de los solventes a presión reducida se obtuvieron las fracciones DCM (212,5 g), AcOEt (210,0 g), IPA (108,0 g) y EtOH-H<sub>2</sub>O (31,6 g). En la Figura 2-1 se ilustra el esquema general de extracción y fraccionamiento realizado sobre el pericarpio de *G. mangostana*.

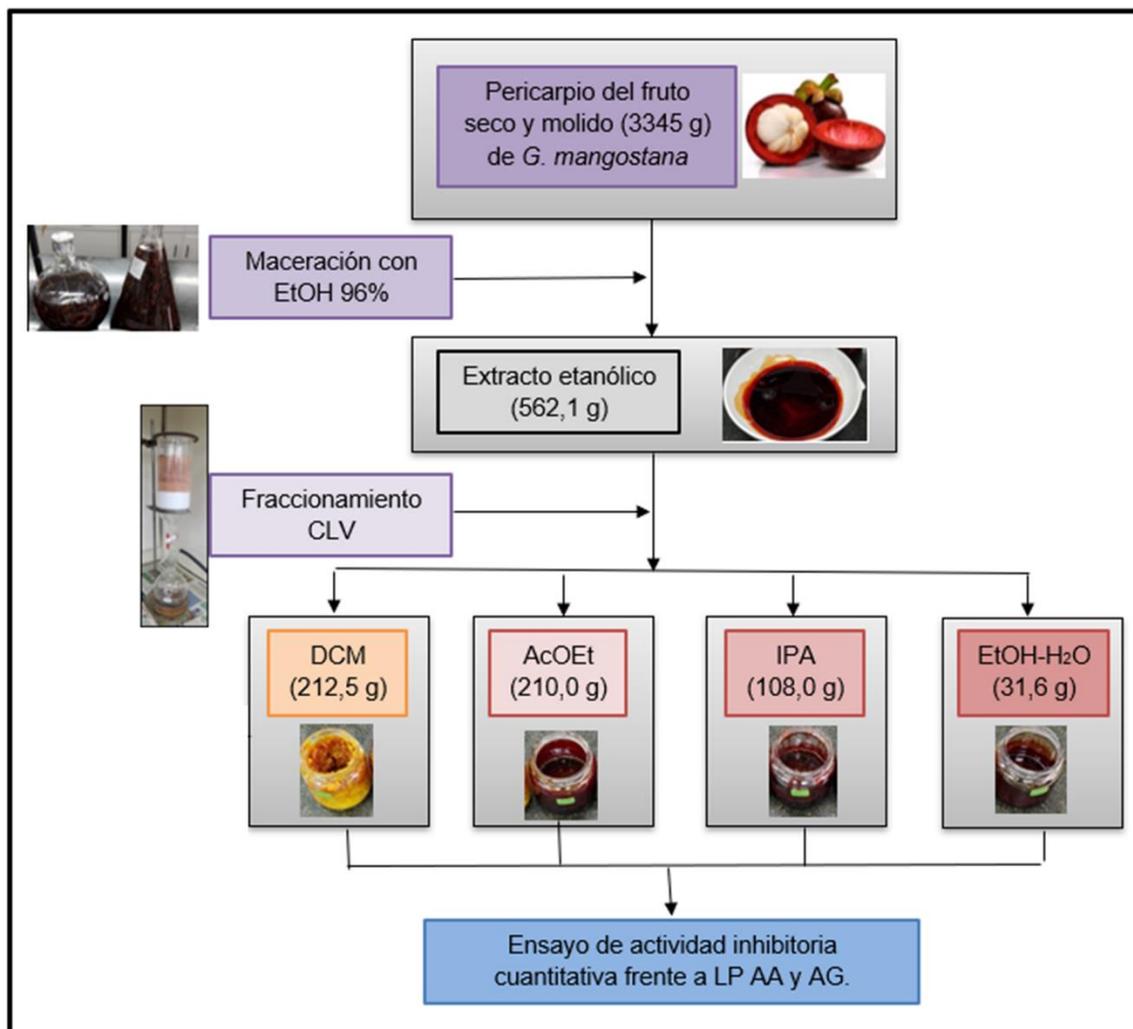


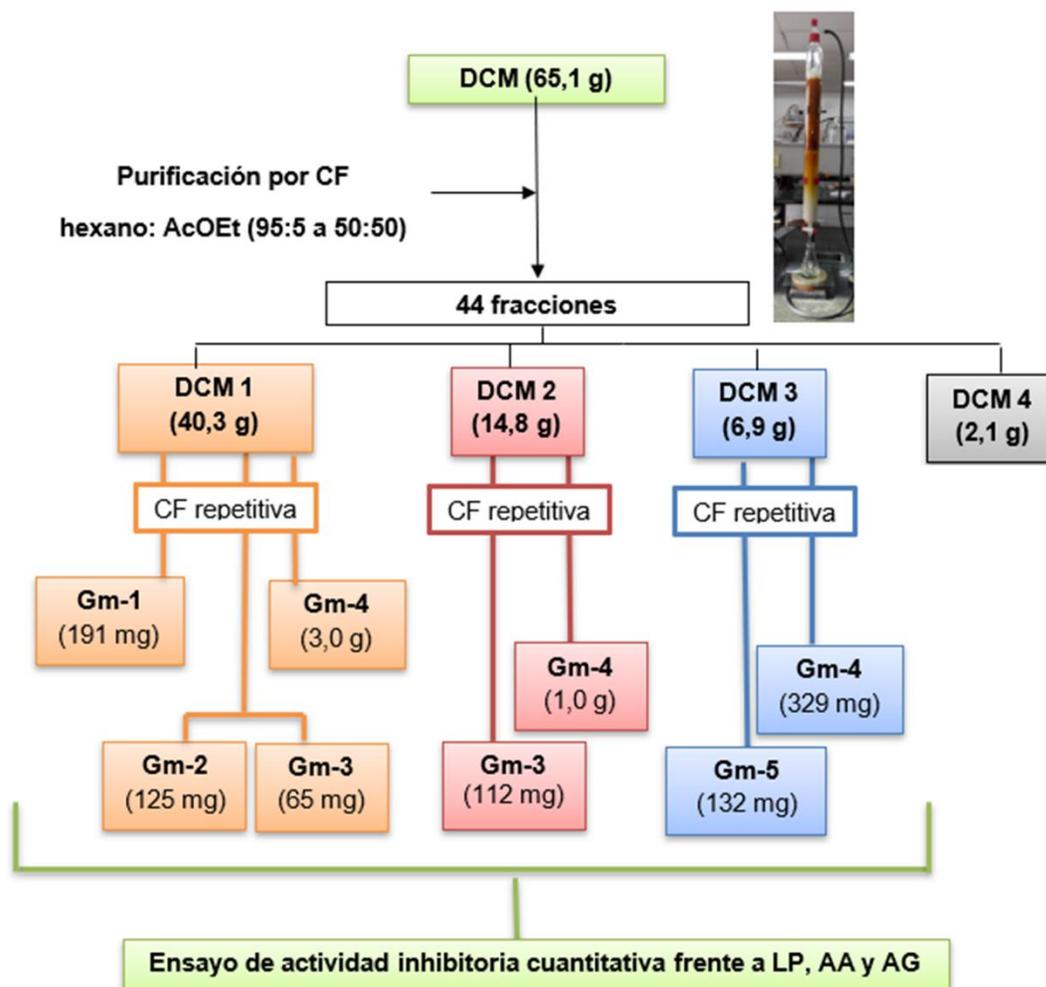
Figura 2-1. Esquema de extracción y fraccionamiento realizado sobre *G. mangostana*.

### 2.1.3 Determinación de la actividad inhibitoria frente a LP, AA y AG del extracto y fracciones de *G. mangostana*

Para la determinación de inhibición enzimática frente a las enzimas Lipasa pancreática (LP),  $\alpha$ -amilasa (AA) y  $\alpha$ -glucosidasa (AG) del extracto etanólico y las fracciones provenientes de la CLV, se siguieron los procedimientos descritos en la literatura con algunas modificaciones (Bustanji et al. 2011; Ryu et al. 2011). En la sección 2.2.2 se describen más detalles de la metodología empleada frente a cada una de las enzimas. El extracto y las fracciones fueron diluidas en DMSO y se evaluaron por triplicado en diferentes concentraciones efectivas entre 1000 y 10 ppm.

### 2.1.4 Purificación de la fracción DCM proveniente *G. mangostana*

La fracción DCM fue seleccionada para continuar con el proceso de purificación teniendo en cuenta los resultados de los ensayos de actividad inhibitoria sobre las tres enzimas de interés. Una parte de la fracción DCM (65,1 g) se sometió a cromatografía flash (CF) utilizando como sistema de elución en gradiente la mezcla hexano:AcOEt (90:10) hasta hexano:AcOEt (50:50), lo que condujo a la obtención de 44 fracciones que finalmente fueron reunidas en 4 fracciones (D1, D2, D3 y D4), de acuerdo al perfil presentado en cromatografía en capa delgada (CCD). La fracción D1 (40,3 g) fue purificada por CF eluyendo con hexano:AcOEt en polaridad creciente (95:5 a 70:30), obteniéndose siete fracciones (D1.1 a D1.7). La fracción D1.2 (437 mg) se purificó por CF eluyendo con hexano:AcOEt (95:5) obteniéndose un sólido amarillo denominado 9-hidroxiclabaxantona (**Gm-1**, 191 mg, p.f. 155-157°C). La fracción D1.3 (3,3 g) fue sometida a CF eluyendo con hexano:AcOEt (90:10 a 80:20), la cual permitió obtener un sólido verde claro denominado deoxigartanina (**Gm-2**, 125 mg, p.f. 165-167°C) y un sólido amarillo oscuro denominado gartanina (**Gm-3**, 65 mg, p.f. 166-168°C). La fracción D1.4 (18,6 g) fue purificada por CF con hexano:AcOEt (80:20 a 60:40), obteniéndose un sólido amarillo pálido denominado  $\alpha$ -mangostina (**Gm-4**, 3,0 g, p.f. 180-182°C). La fracción D2 (14,8 g) se sometió a purificación mediante CF con sistema de elución hexano:AcOEt (80:20 a 70:30), lo que condujo a la obtención de siete fracciones (D2.1 a D2.7). Las fracciones D2.1 y 2.2 fueron reunidas (764 mg) y purificadas mediante CF sucesivas eluyendo con hexano:AcOEt (90:10 a 80:20) obteniéndose el compuesto **Gm-3** (112 mg). Las fracciones D2.3 a D2.5 fueron reunidas (7,5 g) y se sometieron a CF sucesivas con el sistema de elución hexano:AcOEt (80:20) y hexano:AcOEt (60:40), lo que condujo al aislamiento de **Gm-4** (1,0 g). La fracción D3 (6,9 g) fue purificada por sucesivas CF con hexano:AcOEt (70:30 a 50:50), obteniéndose **Gm-4** (329 mg) y un sólido café cristalino denominado  $\gamma$ -mangostina (**Gm-5**, 131 mg, p.f. 206-208°C). En la Figura 2-2 se ilustra el esquema de purificación realizado sobre la fracción DCM.

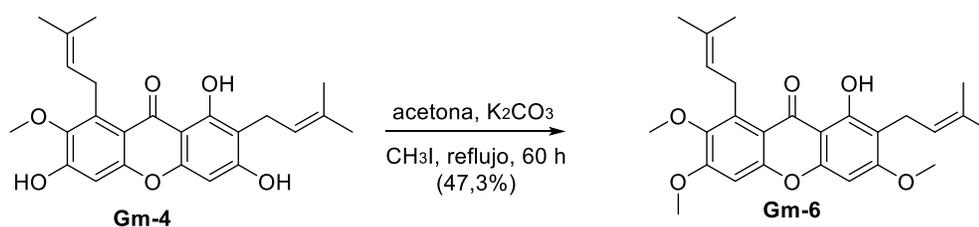


**Figura 2-2.** Esquema general de purificación de los metabolitos secundarios (**Gm-1** a **5**) presentes en el pericarpio de *G. mangostana*.

### 2.1.5 Síntesis de derivados a partir de Gm-4

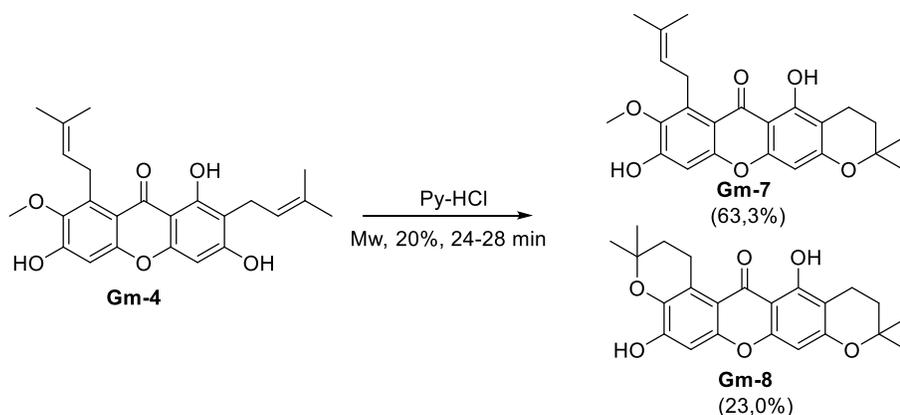
Aprovechando la cantidad obtenida del compuesto **Gm-4** (compuesto mayoritario), se realizó la síntesis de algunos derivados siguiendo la metodología descrita a continuación.

#### 2.1.5.1 Síntesis de fuscaxantona C (**Gm-6**)



La reacción de metilación sobre **Gm-4** se realizó en presencia de yoduro de metilo y carbonato de potasio, adaptando la metodología descrita en la literatura (Rao, Reddy, y Seshadri 1940). A una mezcla de **Gm-4** (100 mg, 0.255 mmol),  $K_2CO_3$  (310 mg, 2.24 mmol) y acetona (5 mL) se adicionó un exceso de  $CH_3I$  (3.4 mL, 5.46 mmol). La mezcla de reacción fue agitada en reflujo por un tiempo de 60 horas. La reacción fue monitoreada por CCD para verificar la desaparición de **Gm-4**. Al término de la reacción, se eliminó el exceso de  $CH_3I$  por destilación a presión reducida. Posteriormente, se añadieron 10 mL de  $H_2O$  y se realizó una extracción líquido-líquido con AcOEt (4 x 5 mL). Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con una solución saturada de NaCl (4 x 5 mL), secadas con  $Na_2SO_4$  anhidro. Finalmente, el disolvente fue eliminado por destilación al vacío, y el producto crudo resultante se purificó por CF con un sistema de elución hexano:AcOEt (90:10), en donde se obtuvo un sólido amarillo correspondiente a fuscaxantona C **Gm-6**, (89.3 mg, 47.3%, p.f: 118-120°C).

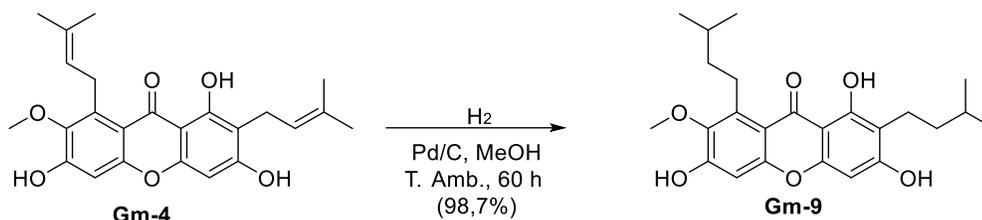
#### 2.1.5.2 Síntesis de 3-isomangostina (**Gm-7**) y BR-xantona-A (**Gm-8**)



El compuesto **Gm-4** fue sometido a una reacción de demetilación usando clorhidrato de piridina (py-HCl) en condiciones libres de solvente bajo irradiación con microondas, de acuerdo con las condiciones descritas en la literatura (Kulkarni et al. 1999). Una mezcla de **Gm-4** (100 mg, 0.252 mmol) y pyHCl (180 mg, 1.25 mmol) fueron colocados en un balón de 25 mL y este fue sellado. La mezcla fue sometida a irradiación de microondas en un equipo convencional con un 20% de potencia (215 W) por periodos de 2 min hasta completar un total de 13 ciclos (26 min). La reacción fue monitoreada por CCD hasta verificar la desaparición de **Gm-4**. Posteriormente, se añadió agua fría (20 mL) y se extrajo

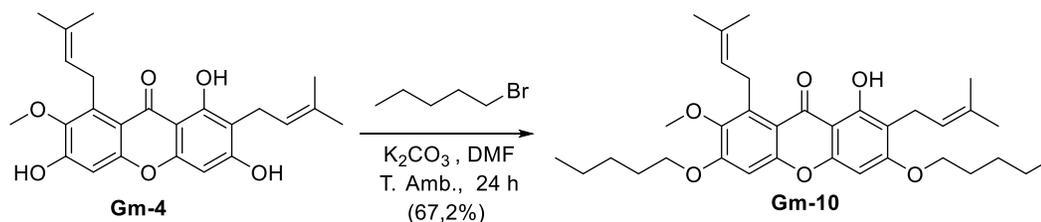
con DCM (3 x 15 mL). La fase orgánica fue lavada con agua, secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y el disolvente, removido por destilación al vacío. El producto crudo resultante se purificó por CF en un sistema de elución hexano:AcOEt (90:10), para dar un sólido amarillo correspondiente a 3-isomangostina **Gm-7** (63.4 mg, 63.3%, p.f: 165-167°C) y un sólido blanco correspondiente a BR-xantona-A **Gm-8** (23 mg, 23,0%, p.f: 160-162°C).

### 2.1.5.3 Síntesis de tetrahydro- $\alpha$ -mangostina (**Gm-9**)



La reacción de hidrogenación sobre **Gm-4** se realizó en presencia de hidrógeno molecular y paladio soportado sobre carbono y metanol anhidro, adaptando la metodología descrita en la literatura (Zheng, Kenney, y Lam 1992). A una solución de **Gm-4** (200 mg, 0.504 mmol) en metanol anhidro (5 mL) se le adicionó paladio soportado sobre carbono (13.4 mg, 0.126 mmol) y se saturó la atmósfera del recipiente con hidrógeno molecular. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente alrededor de 60 horas, hasta que por CCD se verificó la desaparición de **Gm-4**. Posteriormente, la mezcla resultante se filtró sobre papel Whatman cuantitativo para retirar el catalizador. El producto crudo se purificó por cromatografía flash (CF) con hexano:AcOEt (80:20), obteniéndose un compuesto sólido de color amarillo correspondiente a tetrahydro- $\alpha$ -mangostina **Gm-9** (160.4 mg, 98,7%, p.f: 85-87 °C).

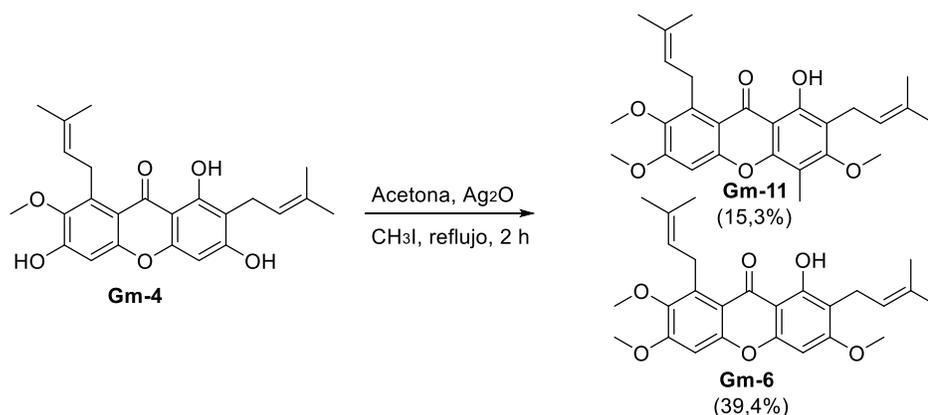
### 2.1.5.4 Síntesis de 3,6-di-pentoxi- $\alpha$ -mangostina (**Gm-10**)



El compuesto **Gm-4** fue sometido a una reacción de o-alkilación en presencia de bromopentano, bicarbonato de potasio y N,N-dimetilformamida (DMF), de acuerdo con las

condiciones descritas en la literatura (Torres R., Almeida S., y Vogel 2015). A una mezcla de **Gm-4** (80 mg, 0.200 mmol) y bromopentano (0.410 mL, 3.29 mmol), se adicionó bicarbonato de potasio (691 mg, 5.05 mmol) en 3.0 mL de DMF anhidra. La mezcla de reacción resultante se agitó por 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo el disolvente fue retirado mediante destilación a presión reducida. Luego se adicionó agua fría y se realizó una extracción con  $\text{CHCl}_3$  (3 x 15 mL). La fase orgánica se filtró, secó con sulfato de sodio anhidro y el disolvente fue removido mediante presión reducida. El producto crudo fue purificado mediante CF eluída con hexano:AcOEt (90:10), de donde se obtuvo un sólido amarillo correspondiente a 3,6-di-pentoxi- $\alpha$ -mangostina **Gm-10** (72 mg, 67,2%, p.f: 176-178 °C).

#### 2.1.5.5 Síntesis de 3,6-di-metoxi-4-metil- $\alpha$ -mangostina (**Gm-11**) y fuscaxantona C (**Gm-6**)



La reacción de metilación sobre **Gm-4** se realizó en presencia de yoduro de metilo y óxido de plata en acetona seca, adaptando la metodología descrita en la literatura (Sasaki, I., y Gorin 2005; Wang 2010). A una mezcla de **Gm-4** (50 mg, 0.125 mmol), óxido de plata (250 mg, 1.07 mmol) y acetona anhidra (5 mL) se adicionó un exceso de yoduro de metilo (1.5 mL, 13,0 mmol). La mezcla de reacción fue agitada a temperatura ambiente por un tiempo de 2 horas. Al término de la reacción, se eliminó el exceso de  $\text{CH}_3\text{I}$  por destilación a presión reducida, el producto bruto fue lavado con solución saturada de  $\text{NaCl}$  (4 x 2.5 mL) y se filtró con papel filtro cuantitativo de 2.5  $\mu\text{m}$  para eliminar residuos de óxido de plata. El residuo resultante se extrajo con AcOEt (3 x 10 mL), se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro y el disolvente, eliminado mediante destilación a presión reducida. El producto crudo se purificó

por CF con un sistema de elución hexano:AcOEt (90:10), en donde se obtuvo un sólido amarillo correspondiente a 3,6-di-metoxi-4-metil- $\alpha$ -mangostina **Gm-11** (8.7 mg, 15.3%, p.f: 90-92 °C) y un sólido amarillo correspondiente a fuscaxantona C **Gm-6** (89.3 mg, 39.4%, p.f: 118-120 °C).

## 2.2 Determinación del mecanismo de inhibición enzimática frente a las enzimas LP, AA y AG de los compuestos aislados y sintetizados

### 2.2.1 Procedimientos generales

Las enzimas empleadas para los estudios de inhibición enzimática fueron: lipasa pancreática tipo (LP) II derivada del páncreas porcino (100-400 unidades/mg proteína, L-SLBD2433V, Sigma-Aldrich, EC. 3.1.1.3);  $\alpha$ -amilasa (AA) tipo VI-B derivada de páncreas porcino ( $\geq 10$  unidades/mg sólido, L-SLBP4061V, Sigma-Aldrich, EC. 3.2.1.1) y  $\alpha$ -glucosidasa (AG) tipo I derivada de *Saccharomyces cerevisiae* (polvo liofilizado,  $\geq 10$  unidades/mg proteína, L-SLBX6245, Sigma-Aldrich, EC. 3.2.1.20). Como sustratos se usaron los compuestos dodecanoato de 4-nitrofenilo (Sigma-Aldrich) para LP, almidón soluble de papa (Sigma-Aldrich) y como reactivo derivatizante fue usado el ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) para AA, y *p*-nitrofenilo- $\alpha$ -D-glucopiranosido (Sigma-Aldrich) para AG. Los demás reactivos utilizados en los ensayos enzimáticos fueron de grado analítico, adquiridos comercialmente y usados sin tratamiento adicional.

Las lecturas de absorbancia se realizaron en un lector de microplacas Thermo Scientific Multiskan GO (Waltham, MA, EE. UU.) utilizando el software SkanIt RE4.1.

Los modelos de acoplamiento molecular fueron realizados en una estación de trabajo DELL PRECISION TOWER 7810 con 2 procesadores Intel® Xeon® E5-2640 v4 @ 2.40GHz (40 cores), con una memoria RAM de 64 GB, y sistema operativo Linux de 64-bit. Además se usaron los programas de acoplamiento molecular: Glide (Maestro Release-2016 de la plataforma Schrödinger), AutoDock 4.2 (AD4) y AutoDock Vina 1.1.2 (ADV) (Goodsell, Morris, y Olson 1996; Repasky et al. 2007; Trott y Olson 2012).

## 2.2.2 Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de las enzimas LP, AG y AA

### 2.2.2.1 Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de LP

La determinación de inhibición enzimática frente a la enzima LP se realizó siguiendo la metodología descrita en la literatura con algunas modificaciones (Bustanji et al. 2011). En el ensayo se utilizó la enzima LP con una concentración de 200 U/mL, el sustrato fue dodecanoato de *p*-nitrofenilo (100  $\mu$ M) y el control positivo fue el fármaco Orlistat. Los compuestos fueron disueltos en DMSO y evaluados a una concentración efectiva máxima de 300  $\mu$ M. Los ensayos fueron desarrollados en cajas de 96 pozos. El procedimiento de reacción consistió en mezclar sobre cajas de 96 pozos 30  $\mu$ L de solución stock de cada compuesto, 30  $\mu$ L de la solución de LP y 160  $\mu$ L de buffer Fosfato (pH: 7.2). La mezcla obtenida se pre-incubó por 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, se adicionaron 30  $\mu$ L de sustrato para completar un volumen final de 250  $\mu$ L y se incubó 40 minutos a 37 °C. Pasado el tiempo de incubación se midió la absorbancia de la muestra a 405 nm.

Cada experimento se realizó por triplicado y los porcentajes de inhibición fueron estimados a partir de las absorbancias medidas de acuerdo con la ecuación 2-1.

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad \text{Ec. 2-1}$$

A los compuestos que presentaron una inhibición superior al 60% a la máxima concentración evaluada, se les estimó la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>), para lo cual fue necesario evaluar diferentes concentraciones de cada compuesto (500 a 6.25  $\mu$ M). Todos los ensayos se realizaron por triplicado y en ensayos independientes. Los valores CI<sub>50</sub> se estimaron mediante análisis de regresión no lineal. Para el análisis detallado de los datos, se utilizó el paquete estadístico GraphPad Prism 8. Los valores CI<sub>50</sub> se estimaron mediante análisis de regresión no lineal. Se analizaron las diferencias estadísticamente significativas en los efectos biológicos de los inhibidores (extractos, fracciones y compuestos) y se compararon utilizando la prueba de comparación de medias ANOVA, complementada con el análisis post hoc de Tukey HSD. Todos los datos informados

corresponden al promedio de tres repeticiones  $\pm$  DS, la significación estadística considerada fue  $P < 0.05$ .

#### 2.2.2.2 Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de AA

La determinación de inhibición enzimática frente a la enzima AA se realizó siguiendo la metodología descrita en la literatura con algunas modificaciones (Iwai et al. 2006; Ryu et al. 2011). En el ensayo se utilizó la enzima AA con una concentración de 2 U/mL, el sustrato fue almidón (5%) y el control positivo fue el fármaco Acarbosa. Los compuestos fueron disueltos en DMSO y evaluados a una concentración efectiva máxima de 500  $\mu$ M. El procedimiento de reacción consistió en mezclar sobre cajas de 96 pozos 50  $\mu$ L de solución stock de cada compuesto y 50  $\mu$ L de la solución de AA. La mezcla obtenida se pre-incubó por 30 minutos a 37 °C, y luego de transcurrido este tiempo se adicionaron 50  $\mu$ L de sustrato para completar un volumen final de 150  $\mu$ L y se incubó 60 minutos a 37 °C. Finalmente, se adicionó 100  $\mu$ L de DNS y se calentó 10 min a 100 °C. Pasado el tiempo de reacción se midió la absorbancia a 540 nm.

Cada experimento se realizó por triplicado y los porcentajes de inhibición fueron estimados a partir de las absorbancias medidas de acuerdo con la ecuación 2-2.

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad \text{Ec. 2-2}$$

A los compuestos que presentaron una inhibición superior al 60% a la máxima concentración evaluada, se les estimó la concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ), para lo cual fue necesario evaluar diferentes concentraciones de cada compuesto (500 a 6.25  $\mu$ M). Todos los ensayos se realizaron por triplicado y en experimentos independientes. Para el análisis detallado de los datos, se utilizó el paquete estadístico GraphPad Prism 8. Los valores  $CI_{50}$  se estimaron mediante análisis de regresión no lineal. Se analizaron las diferencias estadísticamente significativas en los efectos biológicos de los inhibidores (extractos, fracciones y compuestos) y se compararon utilizando la prueba de comparación de medias ANOVA, complementada con el análisis post hoc de Tukey HSD. Todos los datos informados corresponden al promedio de tres repeticiones  $\pm$  DS, la significancia estadística considerada fue  $P < 0.05$ .

### 2.2.2.3 Ensayo de inhibición de la actividad catalítica de AG

La determinación de inhibición enzimática frente a la enzima LP se realizó siguiendo la metodología descrita en la literatura con algunas modificaciones (Ryu et al. 2011). En el ensayo se utilizó la enzima AG con una concentración de 0.5 U/mL, el sustrato fue *p*-nitrofenilo- $\alpha$ -D-glucopiranosido (400  $\mu$ M) (Wang et al. 2017), el control positivo fue el fármaco Acarbosa. Los compuestos fueron disueltos en DMSO y evaluados a una concentración efectiva máxima de 300  $\mu$ M. Los ensayos fueron desarrollados en cajas de 96 pozos. El procedimiento de reacción consistió en mezclar 10  $\mu$ L de solución stock de cada compuesto, 20  $\mu$ L de la solución de AG y 200  $\mu$ L de buffer Fosfato (pH: 7.2). La mezcla obtenida se pre-incubó por 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, se adicionaron 20  $\mu$ L de sustrato para completar un volumen final de 250  $\mu$ L y se incubó 30 minutos a 37 °C. Pasado el tiempo de reacción se midió la absorbancia a 405 nm. Cada experimento se realizó por triplicado y los porcentajes de inhibición fueron estimados a partir de las absorbancias medidas de acuerdo con la ecuación 2-3.

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad \text{Ec. 2-3}$$

A los compuestos que presentaron una inhibición superior al 60% a la máxima concentración evaluada, se les estimó la concentración inhibitoria media (CI<sub>50</sub>), para lo cual fue necesario evaluar diferentes concentraciones de cada compuesto (500 a 6.25  $\mu$ M). Todos los ensayos se realizaron por triplicado y en experimentos independientes. Para el análisis detallado de los datos, se utilizó el paquete estadístico GraphPad Prism 8. Los valores CI<sub>50</sub> se estimaron mediante análisis de regresión no lineal. Se analizaron las diferencias estadísticamente significativas en los efectos biológicos de los inhibidores (extractos, fracciones y compuestos) y se compararon utilizando la prueba de comparación de medias ANOVA, complementada con el análisis post hoc de Tukey HSD. Todos los datos informados corresponden al promedio de tres repeticiones  $\pm$  DS, la significancia estadística considerada fue  $P < 0.05$ .

### 2.2.3 Determinación del tipo de inhibición enzimática sobre LP, AA y AG

Los estudios cinéticos para determinar el tipo de inhibición se realizaron con LP, AA y AG utilizando una metodología similar a la descrita en los ensayos de actividad inhibitoria (numeral 2.2.2). Las xantonas (**Gm-1 a 11**) se evaluaron a 3 concentraciones diferentes de acuerdo con su  $Cl_{50}$  usando los siguientes valores: 0.5, 1.0 y 2.0 x  $Cl_{50}$ . Adicionalmente se emplearon de 5 a 8 concentraciones de sustrato para cada una de las enzimas en el rango entre 12.5 a 200  $\mu$ M de dodecanoato de *p*-nitrofenilo para LP, 1 a 10% de almidón para AA y de 25 a 800  $\mu$ M para *p*-nitrofenilo- $\alpha$ -D-glucopiranosido en AG (Ryu et al. 2011). Los experimentos cinéticos se realizaron por triplicado y en experimentos independientes. Los datos fueron analizados con el software GraphPad Prism 8. Las constantes de inhibición ( $K_i$ ) se calcularon a partir de las curvas de [sustrato] vs velocidad de reacción usando la regresión no lineal de la función cinética de inhibición enzimática. Adicionalmente, el mecanismo de inhibición se determinó gráficamente aplicando la función de regresión doble recíproca Lineweaver-burk en el software GraphPad Prism 8.

### 2.2.4 Estudio del sitio y modo de unión de los compuestos activos con LP, AA y AG

El estudio de sitio y modos de unión se realizó a través de tres etapas de trabajo. La primera etapa consistió en determinar los programas usados para el desarrollo de los modelos de acoplamiento molecular y las estructuras cristalográficas necesarias para el mismo. Los programas usados para el desarrollo de los modelos fueron AD4, ADV y Glide. Las estructuras cristalográficas y sus coordenadas tridimensionales (3D) de las estructuras de las enzimas LP (código PDB: 1LPB, resolución de 2.4 Å) (Pierre Egloff et al. 1995), AG (código PDB: 2QMJ, resolución de 1.9 Å) (Sim et al. 2008) y AA (código PDB: 4GQR, resolución de 1.2 Å) (Williams et al. 2012) fueron obtenidas de RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) en complejo con sus ligandos (inhibidores) cristalográficos ácido metoxiundecilfosfínico (MUP), acarbosa y miricetina, respectivamente. La segunda etapa de trabajo consistió en preparar los modelos de acoplamiento, en los que se prepararon los correspondientes grids para cada enzima y los mapas de trabajo requeridos para los modelos de acoplamiento molecular con la herramienta de AutoDock Tools (ADT). Se llevaron a cabo los acoplamientos moleculares ciegos para cada uno de los modelos (LP,

AA y AG). El grid de trabajo tuvo en sus dimensiones el total del área de cada una de las enzimas, cubriéndolas totalmente y preparándolas para evaluar las interacciones sobre toda la enzima durante los acoplamientos moleculares, los demás parámetros del acoplamiento fueron aceptados por defecto. En los tres programas de acoplamiento (ADV, AD4 y Glide) la estructura de la proteína se mantuvo rígida y los ligandos flexibles. Finalmente, la tercera etapa de trabajo fue realizada con las cinco moléculas (**1 a 11**) aisladas de *G. mangostana* obteniendo los *scores* de interacción y los modos de unión. Los resultados del acoplamiento molecular obtenidos de AD4 y ADV se extrajeron a través de un script (Lanchero Barrios 2016), cuyo objetivo es extraer de cada archivo independiente la energía de unión asociada a cada molécula. Con ayuda de la visualización de los diferentes modos de interacción de los complejos (LP, AA, AG y las moléculas **1 a 11**) y los resultados de modo de inhibición, se establecieron los sitios de unión más probables por cada molécula para cada enzima.

## **2.3 Diseño y optimización de compuestos con acción polifarmacológica frente a LP, AA y AG**

### **2.3.1 Procedimientos generales**

Las moléculas fueron dibujadas en el programa ChemDraw, minimizadas energéticamente en el programa MOE y guardadas en los formatos “.sdf”, “.pdb” y “.pdbqt”. Los modelos de acoplamiento molecular se realizaron de la misma manera que en la descripción 2.2.4.

Algunas reacciones requirieron condiciones inertes (ausencia de humedad y aire), las cuales se llevaron a cabo en una atmósfera de nitrógeno. Todo el material de vidrio en estos experimentos fue secado en un horno a 100 °C durante 12 horas. Para los trasvases de líquidos en condiciones inertes se utilizaron jeringas o cánulas de acuerdo con los procedimientos estándar descritos en la bibliografía (Martínez Grau y Csáky 2012). Las demás reacciones tienen similares condiciones generales, descritas en el numeral 2.1.

### **2.3.2 Optimización farmacodinámica**

El proceso de optimización farmacodinámica, para el hallazgo de compuestos multifuncionales, requirió de los primeros resultados de acoplamiento molecular de las

xantonas. Se requirió del estudio del modo de interacción para visualizar posibles cambios estructurales que potenciaran las interacciones entre los complejos ligando-enzima. En este sentido, inicialmente se diseñó una serie de moléculas a partir de una molécula base (**Gm-4**). Una vez se tuvo la base de moléculas construida, se realizó el proceso de minimización energética con el programa MOE. Por lo cual fue necesario modificar los archivos de salida .sdf a terminaciones .pdb y .pdbqt que permitieron ser leídas por los programas de acoplamiento molecular AD4, ADV y Glide. Paso siguiente, se ejecutaron los correspondientes acoplamientos con cada complejo ligando-enzima (LP, AA y AG) y mediante los diferentes programas de acoplamiento. Una vez obtenidos los resultados como *score* de interacción y los modos de interacción se procedió a realizar una inspección y análisis visual de los resultados del acoplamiento para cada una de las moléculas (Fischer et al. 2020). Tras realizarse este análisis de interacción, se procedió a diseñar nuevas moléculas con el fin de establecer mejores *scores* de interacción y mayores posiciones de interacción entre los ligandos y las enzimas. Finalmente, para continuar el proceso de optimización, se realizó la normalización de los datos de puntuación de todas las xantonas de este proceso para descartar posibles falsos positivos.

#### 2.3.2.1 Normalización de los resultados de acoplamiento molecular

Para mejorar el proceso de identificación o selección de moléculas con alto potencial de inhibición multifuncional se realizó un consenso por autoescalado de los resultados de acoplamiento molecular con los tres programas de acoplamiento (Glide-Xp refine, AD4 y ADV). La metodología que fue usada en el consenso inicialmente tomó de referencia los mejores valores de afinidad ligando-enzima de la molécula **Gm-4**. Se realizó el acoplamiento molecular en los programas de acoplamiento molecular AD4, ADV y Glide. El valor de afinidad del complejo **Gm-4** – enzima sirvió como valor de referencia para descartar los modelos de unión cuyos valores fueron menores. Los mejores modos de unión ligando – enzima (LP, AA y AG) en cada uno de los programas se ordenaron de acuerdo con sus valores de afinidad (*docking score*).

Posteriormente, los valores obtenidos en cada uno de los programas de acoplamiento fueron normalizados y clasificados por el método del promedio de la puntuación de autoescalado (PromedioAE) propuesto en la literatura (Oda et al. 2006). Se aplicó la normalización de los datos de afinidad del complejo ligando-LP, ligando-AA y ligando-AG de manera independiente usando la ecuación 2-4, donde,  $x_e$  es el valor de afinidad

escalado obtenido en cada programa,  $x_{\min}$  y  $x_{\max}$  son los valores menor y mayor de afinidad en cada programa.

$$Xe = \frac{(X - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad \text{Ec. 2-4}$$

Posteriormente, se halló el valor consenso para cada molécula a partir de la PromedioAE aplicando la ecuación 2-5, donde  $x_{\text{PromedioAE}}$  es el valor de afinidad promedio,  $x_e$  es valor escalado en el respectivo programa AD4, ADV y Glide;  $n$  es el número de programas usados ( $n=3$ ).

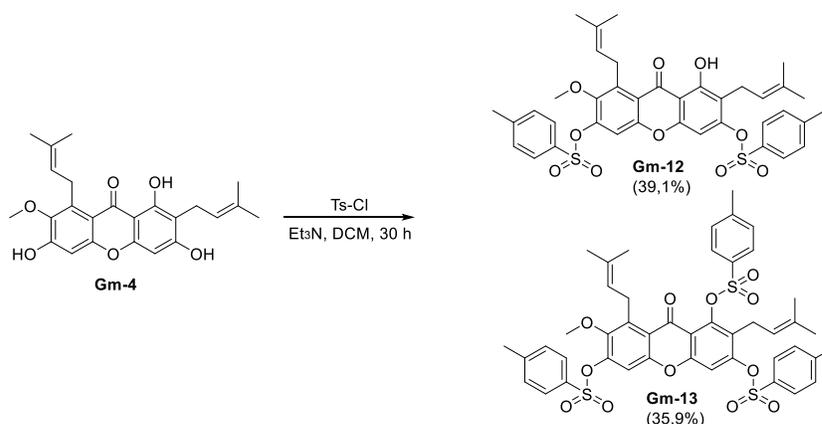
$$\text{Promedio AE} = \frac{x_e^{\text{AD4}} + x_e^{\text{ADV}} + x_e^{\text{Glide}}}{n} \quad \text{Ec. 2-5}$$

Finalmente, la normalización de estos datos generó un nuevo valor numérico. Los valores más próximos a cero significan una menor afinidad por el blanco, por otro lado, los valores más cercanos a uno significan mayor afinidad por el blanco. Valores que ayudan a descartar posibles moléculas falsos positivos (Abarca-Gómez et al. 2017; Palacio-Rodríguez et al. 2019).

### 2.3.3 Síntesis de xantonas sugeridas por el estudio de optimización molecular

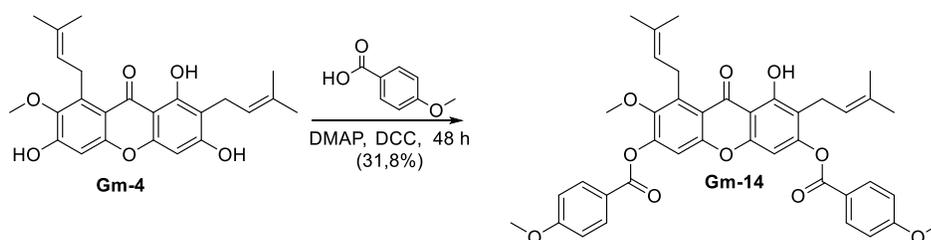
A partir de los estudios de optimización molecular se sugirieron algunas moléculas multidiana con mejores *scores* de interacción y mayores posiciones de interacción entre los ligandos y las enzimas. En la presente sección se describe la síntesis de algunas de estas moléculas (**Gm-12** a **Gm-14**) a partir del compuesto **Gm-4** (mayoritario), siguiendo las metodologías descritas a continuación.

### 2.3.3.1 Síntesis de 3,6-di-o-tosil- $\alpha$ -mangostina (**Gm-12**) y 1,3,6-tri-o-tosil- $\alpha$ -mangostina (**Gm-13**)



La reacción de tosilación sobre **Gm-4** se realizó en presencia de cloruro de tosilo (Ts-Cl), trietilamina (Et<sub>3</sub>N) y diclorometano (DCM) seco, adaptando la metodología descrita en la literatura (Ubukata et al. 2007). A una mezcla de **Gm-4** (100 mg, 0.243 mmol) disuelto en DCM seco (2.80 mL), y Et<sub>3</sub>N (1.40 mL, 0.975 mmol), se adicionó Ts-Cl (620 mg, 3.24 mmol) gota a gota, manteniendo un ambiente libre de humedad. La mezcla de reacción se mantuvo en reflujo por 30 horas y fue constantemente monitoreada por CCD para verificar la desaparición de **Gm-4**. Posteriormente, el disolvente fue eliminado a presión reducida y el residuo fue extraído con AcOEt (3 x 5 mL). Las capas orgánicas combinadas fueron secadas con sulfato de sodio anhidro y el disolvente, retirado por destilación a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante CF en un sistema de elución hexano:AcOEt (90:10) en donde se obtuvo un sólido amarillo correspondiente a 3,6-di-o-tosil- $\alpha$ -mangostina **Gm-12** (68.9 mg, 39,1%, 145-147°C) y un sólido blanco correspondiente a 1,3,6-tri-o-tosil- $\alpha$ -mangostina **Gm-13** (63.2 mg, 35,9%, p.f: 137-138°C).

### 2.3.3.2 Síntesis de 3,6-di-o-(4'-metoxibenzoil)- $\alpha$ -mangostina (**Gm-14**)



El compuesto **Gm-4** fue sometido a una reacción de esterificación usando ácido *p*-metoxibenzoico, 4-(dimetilamino)piridina (DMAP) y diciclohexilcarbodiimida (DCC), de acuerdo con las condiciones descritas en la literatura (Gai-Li et al. 2016). Se añadió a un matraz de fondo redondo **Gm-4** (100 mg, 0.243 mmol), ácido *p*-metoxibenzoico (84.1 mg, 0.448 mmol) y 5 mL de DCM seco. Adicionalmente, se añadió DMAP (103 mg, 0.25 mmol) y DCC (101.1 mg, 0.25 mmol), previamente disueltos en DCM seco (5 mL). La reacción se agitó en reflujo por 48 horas y luego la fase orgánica fue separada. Al residuo resultante se le realizaron extracciones con DCM (3 x 5 mL). Las fases orgánicas fueron reunidas y sometidas a extracción líquido-líquido sucesivas con solución de HCl al 5% (3 x 10 mL), NaHCO<sub>3</sub> (3 x 10 mL) y salmuera (3 x 10 mL). La fase orgánica fue secada con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y luego el disolvente fue retirado mediante destilación a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante CF en un sistema de elución hexano:AcOEt (80:20) en donde se obtuvo un sólido amarillo correspondiente a 3,6-di-*o*-(4'-metoxibenzoil)- $\alpha$ -mangostina **Gm-14** (58.2 mg, 31,8%, p.f: 142-145°C).

### **2.3.4 Determinación de actividad inhibitoria y modos de inhibición frente a LP, AA y AG para los compuestos sintetizados**

A los compuestos sintetizados (**Gm-12 a Gm-14**) se les determinó la capacidad para inhibir la actividad catalítica y el tipo de inhibición frente a LP, AA y AG, siguiendo la metodología descrita en 2.2.2 y 2.2.3, respectivamente.

## 3. Resultados y discusión

### 3.1 Estudio fitoquímico biodirigido del pericarpio del fruto de *Garcinia mangostana* (Clusiaceae)

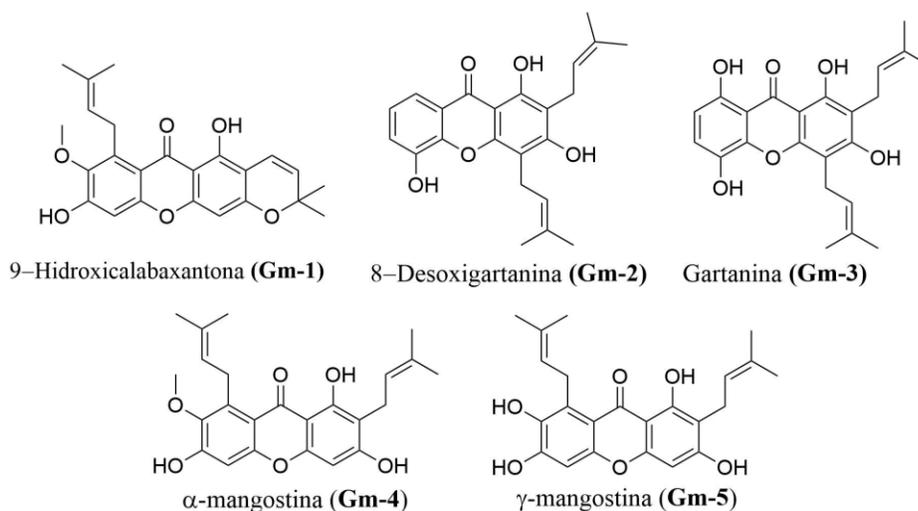
El estudio sobre el pericarpio del fruto de *G. mangostana* fue realizado con el fin de determinar sustancias con propiedades multidiana capaces de inhibir las enzimas digestivas LP, AA y AG. En este sentido el extracto etanólico (EE) y cada una de las fracciones obtenidas en el fraccionamiento por CLV fueron sometidas al ensayo de inhibición enzimática frente a LP, AA y AG. Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 3-1, y de los cuales se deduce que, a las diferentes concentraciones evaluadas el EE y la fracción de DCM son de los más promisorios para inhibir las enzimas LP, AA y AG. Las anteriores razones condujeron a seleccionar la fracción de DCM para continuar con el proceso de aislamiento e identificación de los constituyentes bioactivos. En la literatura se ha reportado previamente la actividad del EE proveniente del pericarpio del fruto frente a LP ( $CI_{50}$   $26.50 \pm 1.15$   $\mu\text{g/mL}$ ) y AA ( $CI_{50}$   $105.36 \pm 2.73$   $\mu\text{g/mL}$ ) (Adnyana et al. 2016), mientras que la actividad del EE frente a AG no se había reportado. Los valores reportados en la literatura no son comparables con los obtenidos en este estudio debido a las diferencias en la metodologías utilizadas, entre las que se destacan variaciones en el tiempo de reacción enzimática, reactivos colorimétricos empleados y longitudes de onda de medición (Adnyana et al. 2016; Bisswanger 2014).

**Tabla 3-1.** Determinación de la inhibición enzimática frente a LP, AA y AG de extracto y fracciones provenientes de *G. mangostana*,

Muestra	CI <sub>50</sub> ppm		
EE	1,73 ± 0,1	718,93 ± 9,2	261,36 ± 21,8
DCM	16,54 ± 4,2	141,73 ± 12,3	197,64 ± 1,5
AcOEt	59,00 ± 3,9	246,19 ± 18,0	NA
IPA	NA	707,42 ± 69,9	NA
EtOH:H <sub>2</sub> O	NA	575,07 ± 96,2	NA
Orlistat	0,65 ± 0,4	---	---
Acarbosa	---	820,0 ± 14,0	315,2 ± 3,2

LP: lipasa pancreática, AA: α-amilasa, AG: α-glucosidasa,  
 EE: Extracto etanólico, DCM: diclorometano, AcOEt: Acetato de etilo,  
 IPA: isopropanol, EtOH:H<sub>2</sub>O: Etanol:agua, NA: No activo,

El estudio fitoquímico biodirigido realizado sobre la fracción de DCM proveniente de *G. mangostana* condujo al aislamiento de cinco xantonas, las cuales fueron identificadas por métodos espectroscópicos y por comparación con los datos descritos en la literatura. Los compuestos aislados e identificados se ilustran en la Figura 3-1 y corresponden a 9-hidroxiclabaxantona, **Gm-1**, 8-desoxygartanina, **Gm-2**, gartanina, **Gm-3**, α-mangostina, **Gm-4**, γ-mangostina, **Gm-5**, los cuales ya han sido previamente reportadas en el pericarpio de la especie (Ah-Reum et al. 2009; Chae et al. 2016). Las xantonas encontradas en la especie se caracterizan por presentar en diferentes posiciones del anillo aromático sustituyentes oxigenados (posiciones 1, 3, 6 y/o 7) y múltiples cadenas preniladas de 5, 10 y/o 15 carbonos (posiciones 1, o 2, 4 y/o 8) (Chae et al. 2016; Genovese et al. 2016; Ibrahim et al. 2018, 2019; Liu et al. 2016; Morelli et al. 2015; Sukandar et al. 2018; Zhang et al. 2010). Adicionalmente, en la especie también se han reportado bixantonas oxigenadas y preniladas, y xantonas con un anillo extra de tipo furano o pirano (Liu et al. 2016; Peres, Nagem, y De Oliveira 2000).



**Figura 3-1.** Compuestos aislados e identificados de la fracción de DCM proveniente del pericarpio del fruto de *G. mangostana*.

Todos los compuestos aislados se caracterizaron en CCD por su coloración verde con revelador de vainillina-ácido sulfúrico y coloración azul con revelador de *p*-anisaldehído-ácido sulfúrico. En los perfiles de espectros RMN se deducen señales para las xantonas reportadas en especies del género *Garcinia* que se caracterizan por ser polipreniladas e hidroxiladas y con muy pocos hidrógenos sobre los anillos aromáticos (Peres et al. 2000). En este sentido es común ver en sus espectros de RMN  $^1\text{H}$  con señales para hidroxilos quelatados en el rango de  $\delta_{\text{H}}$  11.00 a 15.00, señales para sustituyentes prenilos hacia  $\delta_{\text{H}}$  5.30 a 5.20, 4.30 a 4.00, 3.60 a 3.40 y 1.80 a 1.60. En algunos casos se observan señales para anillos extras al núcleo xantona de tipo pirano ( $\delta_{\text{H}}$  6.70 a 6.50, 5.80 a 5.40, 4.20 a 3.30 y 1.80 a 1.50) y de tipo furano ( $\delta_{\text{H}}$  3.60 a 3.20 y 1.80 a 1.50). En el espectro de  $^{13}\text{C}$  como señales características de las xantonas está la del grupo carbonilo que suele salir en  $\delta_{\text{C}}$  175.0 a 186.0, muchas señales en la región aromática ( $\delta_{\text{C}}$  160.0 a 100.0) para carbonos cuaternarios y algunos de ellos correspondientes a carbonos cuaternarios oxigenados de hidroxilos y grupos metoxilo ( $\delta_{\text{C}}$  140.0 a 160.0). Adicionalmente, también se ven las señales características de los grupos prenilos ( $\delta_{\text{C}}$  138.0 a 130.0, 125.0 a 100.0, 26.0 a 16.0), grupos pirano ( $\delta_{\text{C}}$  145.0 a 120.0, 80.0 a 75.0, 25.0 a 15.0), y grupos furano ( $\delta_{\text{C}}$  145.0 a 135.0, 120.0 a 100.0, 35.0 a 25.0 y 20.0 a 10.0) (Boonnak et al. 2014; Deachathai et al. 2005; Le et al. 2016; Li et al. 2018; Nagem y De Oliveira 1997; Walker 2007).

El compuesto **Gm-1** fue aislado como un sólido amorfo de color café con p.f de 155-157 °C, y por análisis de RMN se determinó que corresponde a una xantona 1,2,3,4,6-

pentasustituida por las señales de  $^1\text{H}$  con  $\delta_{\text{H}}$  6.86 (s, 1H) y 6.24 (s, 1H), y de APT con  $\delta_{\text{C}}$  182.0 (C), 159.9 (C), 157.9 (C), 156.8 (C), 155.8 (C), 154.5 (C), 142.5 (C), 136.9 (C), 111.9 (C), 104.2 (C), 103.2 (C), 101.6 (CH), 94.1 (CH). Adicionalmente, del análisis de RMN se determinó que los sustituyentes sobre el núcleo de xantona corresponden a un grupo hidroxilo fenólico quelatado ( $\delta_{\text{H}}$  13.69 (s, 1H) y  $\delta_{\text{C}}$  159.9(C)), un grupo hidroxilo fenólico ( $\delta_{\text{H}}$  6.37 (s, 1H), y  $\delta_{\text{C}}$  154.5), un grupo metoxilo ( $\delta_{\text{H}}$  3.83 (s, 3H) y en APT con  $\delta_{\text{C}}$  62.0 (C)), un grupo isoprenilo ( $\delta_{\text{H}}$  5.26 (m, 1H), 4.09 (d,  $J = 6.2$  Hz, 2H), 1.83 (s, 3H) y 1.69 (s, 3H) y en con  $\delta_{\text{C}}$  132.5 (C), 123.1 (CH), 26.5 (CH<sub>2</sub>), 25.8 (CH<sub>3</sub>) y 18.2 (CH<sub>3</sub>)) y un anillo tipo pirano ( $\delta_{\text{H}}$  6.73 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H), 5.56 (d,  $J = 10.1$  Hz, 1H) y 1.46 (s, 6H), y con  $\delta_{\text{C}}$  127.1 (CH), 115.7 (CH), 77.9 (C), 28.3 (2CH<sub>3</sub>)). Cada uno de los sustituyentes fue ubicado sobre el núcleo base de la xantona por análisis de los espectros HMBC (ver Figura 5-3, anexo 5-1). Del análisis anterior y por comparación con los datos espectroscópicos reportados en la literatura se identificó a **Gm-1** como 9-hidroxiclabaxantona (Jiang et al. 2010). Esta xantona ha sido reportada en las familias Clusiaceae (*G. mangostana*, y *G. Cowa*) e Hypericaceae (*Gomphandra tetrandra* y *Cratoxylum cochinchinense*) (Han et al. 2009; Ji, Avula, y Khan 2007; Raksat et al. 2020; Raksat, Sripisut, y Maneerat 2015; Sukandar et al. 2019; Walker 2007). Para 9-hidroxiclabaxantona se ha reportado que exhibe propiedades citotóxicas frente a la línea celular de cáncer de colon HT-29 (Lim 2012). Adicionalmente, se le han reportado propiedades antibacterianas (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*) y la capacidad para inhibir enzimas digestivas como LP (CI<sub>50</sub> de 12  $\mu\text{M}$ ) (Chae et al. 2016) y AG (En condiciones diferentes CI<sub>50</sub> de 34.2  $\mu\text{M}$  y 11.4  $\mu\text{M}$ ) (Chae et al. 2016; Raksat et al. 2020; Ryu et al. 2011).

El compuesto Gm-2 fue aislado como un sólido amorfo de color amarillo oscuro con p.f de 165-167°C y por análisis de RMN se determinó que corresponde a una xantona 1,2,3,4,5-pentasustituida ( $\delta_{\text{H}}$  7.77 (dd,  $J = 7.8, 1.5$ , 1H), 7.30 (dd,  $J = 7.8, 1.5$ , 1H), 7.25 (t,  $J = 7.8, 1.5$ , 1H), y con  $\delta_{\text{C}}$  180.9 (C), 160.7 (C), 158.5 (C), 152.2 (C), 144.2 (C), 144.1 (C), 123.6 (CH), 120.7 (C), 119.5 (CH), 116.7 (CH), 108.9 (C), 105.2 (C), 103.1 (C)). En los espectros de RMN también se determinó que los sustituyentes sobre el núcleo de xantona corresponden a un grupo hidroxilo fenólico quelatado ( $\delta_{\text{H}}$  13.19 (s, 1H) y  $\delta_{\text{C}}$  160.7(C)), dos grupos hidroxilos fenólicos ( $\delta_{\text{H}}$  6.53 (s, 1H), y  $\delta_{\text{C}}$  158.5, y  $\delta_{\text{H}}$  5.68 (brs, 1H), y  $\delta_{\text{C}}$  144.1), y dos grupos isoprenilo (grupo 1:  $\delta_{\text{H}}$  5.20 (m, 1H), 3.52 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.86 (s, 3H) y 1.79 (s, 3H) y con  $\delta_{\text{C}}$  136.5 (C), 122.0 (CH), 21.9 (CH<sub>2</sub>), 25.7 (CH<sub>3</sub>) y 17.7 (CH<sub>3</sub>); grupo 2:  $\delta_{\text{H}}$

5.20 (m, 1H), 3.46 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.86 (s, 3H) y 1.76 (s, 3H) y con  $\delta_C$  133.3 (C), 121.0 (CH), 21.4 (CH<sub>2</sub>), 25.4 (CH<sub>3</sub>) y 17.7 (CH<sub>3</sub>). Mediante el análisis del espectro HMBC (ver Figura 5-6, anexo 5-1) se estableció la ubicación de los sustituyentes sobre el núcleo base de la xantona. Por comparación con los datos espectroscópicos reportados en la literatura se identificó a Gm-2 como 8-desoxigartanina (Han et al. 2009). Esta xantona presenta reportes de aislamiento en especies como *G. mangostana* y *G. braacteata*, de la familia *clusiaceae* (Khaw et al. 2014; Wang et al. 2012; Zhang et al. 2019). Los reportes de literatura indican que este compuesto presenta propiedades anticancerígenas (Wang et al. 2012), propiedades para inhibir enzimas de relevancia en el control de Alzheimer (Khaw et al. 2014), y para inhibir enzimas digestivas importantes en el control de obesidad y diabetes. En este último caso se ha reportado la inhibición frente a LP (CI<sub>50</sub> de aproximadamente 50  $\mu$ M) y AA (CI<sub>50</sub> de 21.5  $\mu$ M) (Chae et al. 2016; Ryu et al. 2011).

El compuesto **Gm-3** fue aislado como un sólido amorfo de color verde claro con p.f de 166-168°C y por análisis de RMN se determinó que corresponde a una xantona 1,2,3,4,5,8-hexasustituida (señales de RMN <sup>1</sup>H con  $\delta_H$  7.22 (d,  $J = 8.9$ , 1H), 6.66 (d,  $J = 8.9$ , 1H), y en APT con  $\delta_C$  184.3 (C), 161.7 (C), 158.2 (C), 153.9 (C), 152.6 (C), 142.9 (C), 135.8 (C), 123.0 (CH), 109.9 (CH), 109.6 (C), 107.2 (C), 105.9 (C), 102.5 (C)). Adicionalmente, del análisis de RMN se determinó que los sustituyentes sobre el núcleo de xantona corresponden a dos grupos hidroxilos fenólicos quelatados ( $\delta_H$  12.33 (s, 1H) y  $\delta_C$  161.7(C), y  $\delta_H$  11.25 (s, 1H) y  $\delta_C$  152.6 (C)), dos grupos hidroxilos fenólico ( $\delta_H$  6.60 (s, 1H), y  $\delta_C$  153.9, y  $\delta_H$  6.52 (s, 1H), y  $\delta_C$  158.2), y dos grupos isoprenilo (señales en RMN <sup>1</sup>H con  $\delta_H$  5.26 (m, 1H), 3.50 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.79 (s, 3H) y 1.75 (s, 3H) y en APT con  $\delta_C$  135.8 f(C), 122.0 (CH), 22.0 (CH<sub>2</sub>), 26.0 (CH<sub>3</sub>) y 18.1 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_H$  5.26 (m, 1H), 3.46 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.86 (s, 3H) y 1.86 (s, 3H) y en APT con  $\delta_C$  134.0 (C), 120.8 (CH), 21.8 (CH<sub>2</sub>), y 18.1 (2CH<sub>3</sub>)). Los sustituyentes fueron ubicados sobre el núcleo base de la xantona por análisis de los espectros HMBC (ver Figura 5-9, anexo 5-1). Por comparación con los datos espectroscópicos reportados en la literatura se identificó a **Gm-3** como gartanina (Han et al. 2009). **Gm-3** ha sido reportada previamente en el género *Garcinia*, en *G. braacteata*, *G. propinqua* y *G. mangostana* (Mohamed Ibrahim et al. 2019; Sriyatep et al. 2018; Zhang et al. 2019). Adicionalmente, a gartanina se le han reportado propiedades anticancerígenas frente a una línea celular de cáncer de colon HCT116 (Sriyatep et al. 2018), propiedades protectoras ante daño oxidativo producido por la acrilamida en el sistema digestivo y la capacidad para inhibir enzimas digestivas como LP (CI<sub>50</sub> de 12  $\mu$ M) (Chae et al. 2016),

AG ( $CI_{50}$  de 10.8  $\mu$ M) (Ryu et al. 2011), y AA (69.7% de inhibición a concentración de 1000  $\mu$ M (Mohamed Ibrahim et al. 2019).

El compuesto **Gm-4** fue aislado como un sólido amorfo de color amarillo claro con p.f de 180-182°C y por análisis de RMN se determinó que corresponde a una xantona 1,2,3,6,7,8-hexasustituida (señales de RMN  $^1H$  con  $\delta_H$  6.83 (s, 1H), 6.30 (s, 2H), 6.14 (s, 1H) y en APT con  $\delta_C$  181.8 (C), 161.4 (C), 160.4 (C), 155.6 (C), 154.9 (C), 154.3 (C), 142.4 (C), 131.9 (C), 112.0 (CH), 108.2 (C), 103.5 (C), 101.3 (CH), 93.1 (CH)). Adicionalmente, del análisis de RMN se determinó que los sustituyentes sobre el núcleo de xantona corresponden a un grupo hidroxilo fenólico quelatado ( $\delta_H$  13.78 (s, 1H) y  $\delta_C$  161.4(C)), dos grupos hidroxilos fenólicos ( $\delta_H$  6.30 (s, 1H), y  $\delta_C$  155.6, y  $\delta_H$  6.14 (s, 1H), y  $\delta_C$  160.4), un grupo metoxilo ( $\delta_H$  3.81 (s, 3H) y en APT con  $\delta_C$  61.9 (C)), y dos grupos isoprenilo (señales en RMN  $^1H$  con  $\delta_H$  5.26 (m, 1H), 4.09 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 1.84 (s, 3H) y 1.77 (s, 3H) y en APT con  $\delta_C$  135.7 (C), 122.9 (CH), 26.4 (CH<sub>2</sub>), 25.6 (CH<sub>3</sub>) y 18.0 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_H$  5.26 (m, 1H), 3.46 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 1.84 (s, 3H) y 1.69 (s, 3H) y en APT con  $\delta_C$  136.8 (C), 121.2 (CH), 21.2 (CH<sub>2</sub>), 25.6 (CH<sub>3</sub>) y 17.7 (CH<sub>3</sub>)). Cada uno de los sustituyentes fue ubicado sobre el núcleo base de la xantona por análisis de los espectros HMBC (ver Figura 5-12, anexo 5-1). Por comparación de los datos espectroscópicos reportados en la literatura se identificó a **Gm-4** como  $\alpha$ -mangostina, el cual es el compuesto mayoritario de la fracción de diclorometano (Chen et al. 2008). Este compuesto ha sido reportado en las familias Hypericaceae (*Cratoxylum prunifolium* y *Cratoxylum cochinchinense*), y Clusiaceae (*G. echinocarpa*, *G. terpnophylla* y *G. mangostana*) (Chen et al. 2008; Le et al. 2016; Li et al. 2018; Peres et al. 2000; Sultanbawa 1980). El compuesto **Gm-4** ha sido asociado con el control y disminución del progreso en enfermedades de Parkinson y Alzheimer (Yeong et al. 2020). Por otra parte, se le ha reportado que presenta propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias, antioxidantes, antidiabéticas y antiobesidad (Assemian et al. 2019; Han et al. 2009; Jiang et al. 2010; Liu et al. 2016). Frente a las enzimas objeto del presente estudio se le ha reportado su capacidad para inhibir la LP ( $CI_{50}$  de 5.0  $\mu$ M) y AG ( $CI_{50}$  de 5.6  $\mu$ M) (Chae et al. 2016; Ryu et al. 2011).

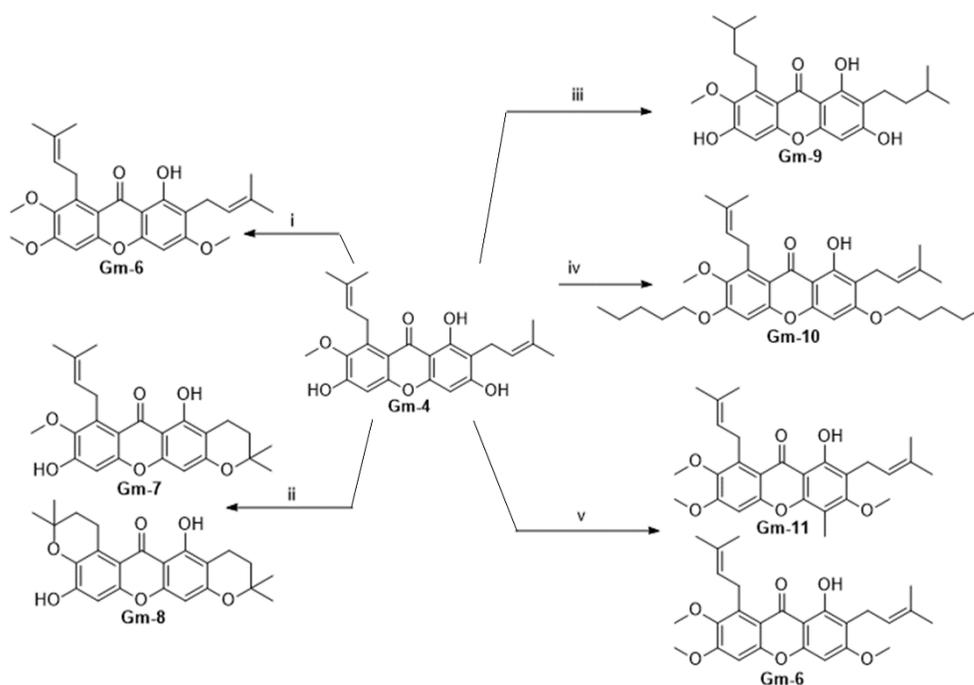
El compuesto **Gm-5** fue aislado como un sólido amorfo de color café con p.f de 206-208°C y por análisis de RMN se determinó que corresponde a una xantona 1,2,3,6,7,8-hexasustituida (señales de RMN  $^1H$  con  $\delta_H$  6.69 (s, 1H), 6.25 (s, 1H) y en APT con  $\delta_C$  182.1 (C), 161.9 (C), 160.1 (C), 154.8 (C), 152.6 (C), 151.8 (C), 140.6 (C), 130.3 (C), 130.2 (C),

109.7 (CH), 102.3 (C), 99.5 (CH), 91.5 (CH)). Adicionalmente, del análisis de RMN se determinó que los sustituyentes sobre el núcleo de xantona corresponden a un grupo hidroxilo fenólico quelatado ( $\delta_{\text{H}}$  -14 (s, 1H) y  $\delta_{\text{C}}$  161.9(C)), tres grupos hidroxilos fenólicos ( $\delta_{\text{C}}$  160.1,  $\delta_{\text{C}}$  154.8 y 152.6), y dos grupos isoprenilo (señales en RMN  $^1\text{H}$  con  $\delta_{\text{H}}$  5.28 (m, 1H), 4.09 (m, 2H), 1.86 (s, 3H) y 1.80 (s, 3H) y en APT con  $\delta_{\text{C}}$  128.2 (C), 123.4 (CH), 20.8 (CH<sub>2</sub>), 24.6 (CH<sub>3</sub>) y 16.9 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_{\text{H}}$  5.28 (m, 1H), 3.34 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 1.86 (s, 3H) y 1.68 (s, 3H) y en APT con  $\delta_{\text{C}}$  128.2 (C), 122.5 (CH), 20.8 (CH<sub>2</sub>), 24.5 (CH<sub>3</sub>) y 16.5 (CH<sub>3</sub>)). Cada uno de los sustituyentes fue ubicado sobre el núcleo base de la xantona por análisis de los espectros HMBC (ver Figura 5-15, anexo 5-1). Por comparación con los datos espectroscópicos reportados en la literatura se identificó a **Gm-5** como  $\gamma$ -mangostina (Chen et al. 2008). El compuesto (**Gm-5**) ha sido reportado en las especies *G. travancorica* y *G. mangostana* de la familia Clusiaceae, y *Cratoxylum cochinchinense* e *Hypericum perforatum* de la familia Hypericaceae (Aravindakshanpillai et al. 2016; Li et al. 2018; Mohamed Ibrahim et al. 2019; Tusevski et al. 2017). A  $\gamma$ -mangostina se le ha reportado su capacidad para inhibir PTP1B, proteína clave para el tratamiento de obesidad y diabetes. Adicionalmente, se le ha reportado su capacidad para inhibir LP (CI<sub>50</sub> de 24.1  $\mu\text{M}$ ), AG (CI<sub>50</sub> de 10  $\mu\text{M}$ ) y  $\alpha$ -amilasa (70% de inhibición a una concentración de 1000  $\mu\text{M}$ ) (Chae et al. 2016; Ibrahim et al. 2019; Ryu et al. 2011).

### 3.1.1 Obtención de algunos derivados a partir de Gm-4

A partir de constituyente químico mayoritario aislado e identificado en *G. mangostana* ( $\alpha$ -mangostina **Gm-4**), se realizó la síntesis de algunos derivados (**Gm-6** a **G-11**) con el fin de aumentar la diversidad estructural y poder establecer algunas relaciones de estructura-actividad preliminar. El compuesto mayoritario fue sometido a reacciones de alquilación, demetilación e hidrogenación, tal como se ilustra en la Figura 3-2. Las moléculas obtenidas fueron caracterizadas espectroscópicamente de manera similar a lo realizado para los compuestos naturales. En el anexo 5.2 se resumen los datos espectroscópicos para los derivados preparados. Todos los compuestos sintetizados han sido previamente reportados en la literatura y por comparación de sus datos espectroscópicos estos fueron identificados como Fuscaxantona C **Gm-6** (Ito et al. 2003), 3-isomangostina **Gm-7** (Ah-Reum et al. 2009), BR-xantona A **Gm-8** (Balasubramanian y Rajagopalan 1988), Tetrahydro- $\alpha$ -mangostina **Gm-9** (Sudta et al. 2013), 3,6-di-pentoxi- $\alpha$ -mangostina **Gm-10** (Ha et al. 2009) y 3,6-di-metoxi-4-metil- $\alpha$ -mangostina **Gm-11** (Ren et al. 2011). Los

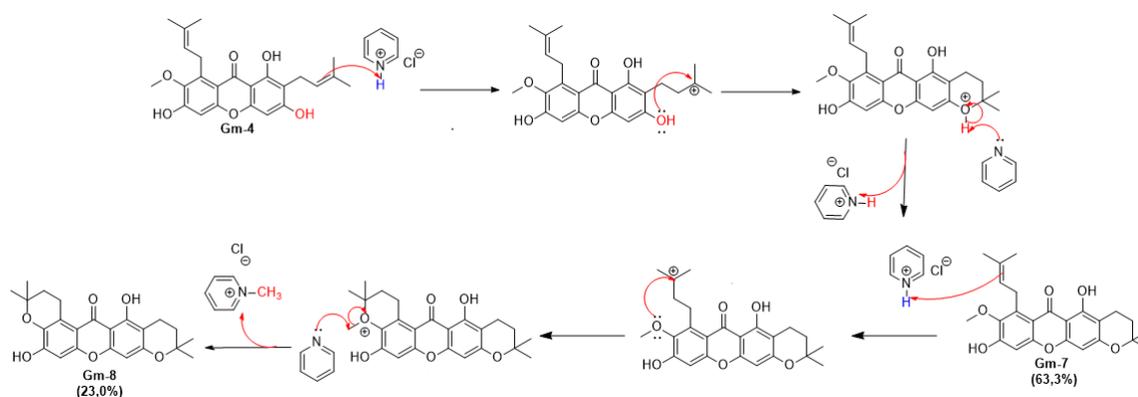
compuestos (**Gm-6** a **Gm-11**) se ilustran en la Figura 3-2, los cuales ya han sido previamente reportadas en especies como *G. fusca*, *G. mangostana* y *Cratoxylum cochinchinense* (Ah-Reum et al. 2009; Ito et al. 2003; Ren et al. 2011). Las xantonas (**Gm-6** a **Gm-11**) presentan reportes en la literatura de propiedades anticancerígenas y antibacterianas (Ah-Reum et al. 2009; Ha et al. 2009; Ito et al. 2003; Sudta et al. 2013).



**Figura 3-2.** Síntesis de derivados (**Gm-6** – **Gm-11**) a partir de **Gm-4**. Reactivos y condiciones: i)  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , Acetona, reflujo, 60 h, rendimiento total (47,3%); ii) Py-HCl, 20% de potencia de 215 W, 2 min por 13 ciclos, rendimiento total (63% - **Gm-7**), (23% - **Gm-8**); iii)  $\text{H}_2$ , Pd/C, MeOH, t.a., 60 h, rendimiento total (98%); iv) 1-bromopentano,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF, t.a., 24 h, rendimiento global (67%); v)  $\text{CH}_3\text{I}$ ,  $\text{Ag}_2\text{O}$ , acetona, reflujo, 2 h, rendimiento total (39% - **Gm-6**), (15% - **Gm-11**).

Con las metodologías empleadas en este estudio no se había reportado la síntesis de **Gm-7**, **Gm-8** y **G-11**. Inicialmente, se sometió a **Gm-4** en condiciones de una reacción típica de demetilación por irradiación de microondas en presencia de clorhidrato de piridina, lo que no condujo al producto demetilado, sino a la formación de **Gm-7** y **Gm-8**, caracterizados por la presencia de ciclos de tipo tetrahidropirano. Estos dos compuestos se habían reportado previamente como subproductos de la síntesis descrita en una patente para  $\gamma$ -mangostina (Gokaraju 2009). La metodología desarrollada en la presente investigación representa una alternativa interesante que debe ser profundizada, ya que permitiría bajo condiciones de reacción libre de disolvente y por irradiación de microondas, la obtención

de compuestos aromáticos con ciclo tetrahidropirano a partir de precursores aromáticos hidroxilados con una cadena prenilada vecinal. El mecanismo de reacción propuesto para la formación de **Gm-7** y **Gm-8** (Figura 3-3), contempla la adición del hidrógeno proveniente del ácido débil (clorhidrato de piridina) en el doble enlace de la cadena prenilada, y posteriormente, la ciclación entre el oxígeno y el carbocatión formando el ciclopirano (**Gm-7**) o el dicitopirano (**Gm-8**) de xantona. De igual manera, cuando se sometió a **Gm-4** en condiciones para una reacción típica de metilación en presencia de yoduro de metilo, carbonato de potasio y oxido de plata, se observó la formación del producto deseado **Gm-4**, junto con un producto en bajo rendimiento denominado **Gm-11**. Este producto se caracteriza porque además de las metilaciones sobre los grupos hidroxilos ocurrió una C-metilación, lo cual pudo estar favorecido por la presencia de los grupos activantes oxigenados presentes en el anillo aromático. La reacción de metilación se llevó a cabo de forma más eficiente y con mayores rendimientos al realizar la reacción sin la presencia del oxido de plata (ruta i, Figura 3-2). La reacción de hidrogenación realizada sobre **Gm-4** para formar el producto **Gm-9**, se llevó a cabo con las condiciones típicas en presencia Pd/C, siendo los rendimientos comparables a los reportados en la literatura (Zheng et al. 1992). Por otro lado, la obtención de **Gm-10** posee un rendimiento (67%) menor al reportado por Torres con un valor de 96%, resaltando la importancia del uso de  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  en lugar de  $\text{K}_2\text{CO}_3$ .



**Figura 3-3.** Mecanismo de reacción propuesto para la obtención del compuesto **Gm-7** y **Gm-8**.

## 3.2 Determinación del mecanismo de inhibición enzimática sobre las enzimas LP, AG y AA de los compuestos aislados y sintetizados.

A los compuestos aislados y sintetizados (**Gm-1** a **Gm-11**) se les determinó la capacidad de inhibir la actividad catalítica de las tres enzimas digestivas de interés. Para los compuestos que presentaron una potencial actividad inhibitoria se les estimó la concentración inhibitoria media ( $CI_{50}$ ), las constantes de inhibición y el tipo de inhibición que ejercen sobre cada enzima (lipasa pancreática **LP**,  $\alpha$ -amilasa **AA** y  $\alpha$ -glucosidasa **AG**). Además, se realizó un estudio de acoplamiento molecular para estimar los sitios de unión y las energías de unión a los sitios aminoacídicos de las enzimas. A continuación, se presentan los resultados de los estudios de inhibición sobre cada una de las enzimas.

### 3.2.1 Estudio de inhibición sobre lipasa pancreática (LP)

En la Tabla 3-2 se presentan los resultados del estudio de inhibición sobre la lipasa pancreática de los compuestos aislados y sintetizados. De los 11 compuestos evaluados, se observa que 8 lograron inhibir la lipasa pancreática con valores de  $CI_{50}$  entre 50.6 y 454.6  $\mu$ M. Sin embargo, ninguno de los compuestos logró una inhibición comparable con la causada por el control positivo Orlistat. Los compuestos sintéticos **Gm-7**, **Gm-8** y **Gm-10** fueron las sustancias que no causaron ninguna inhibición en la actividad catalítica de la enzima. Este estudio constituye el primer reporte de actividad inhibitoria frente a LP para los compuestos **Gm-6**, **Gm-9** y **Gm-11**.

En estudios previos se ha reportado la actividad frente a LP para **Gm-1** ( $CI_{50}=12 \mu$ M, (Chae et al. 2016), **Gm-2** ( $CI_{50}= 50 \mu$ M, (Chae et al. 2016), **Gm-3** ( $CI_{50}=12 \mu$ M, (Chae et al. 2016), **Gm-4** ( $CI_{50}= 5 \mu$ M, Chae et al, 2016;  $CI_{50}= 47.3 \mu$ M, Adnyana et al. 2016) y **Gm-5** ( $CI_{50}=10 \mu$ M, (Chae et al. 2016). Los resultados reportados por Chae y colaboradores y los obtenidos en este estudio no son comparables, debido a que se utilizaron metodologías muy diferentes (oleato de 4-metilumbeliferilo como sustrato, cuantificación por fluorescencia y tiempo de reacción de 10 min (Chae et al. 2016)). Por otro lado, los resultados obtenidos para **Gm-4** concuerdan con lo reportado por Adnyana y

colaboradores, ya que se utilizó el mismo método de cuantificación de la actividad enzimática.

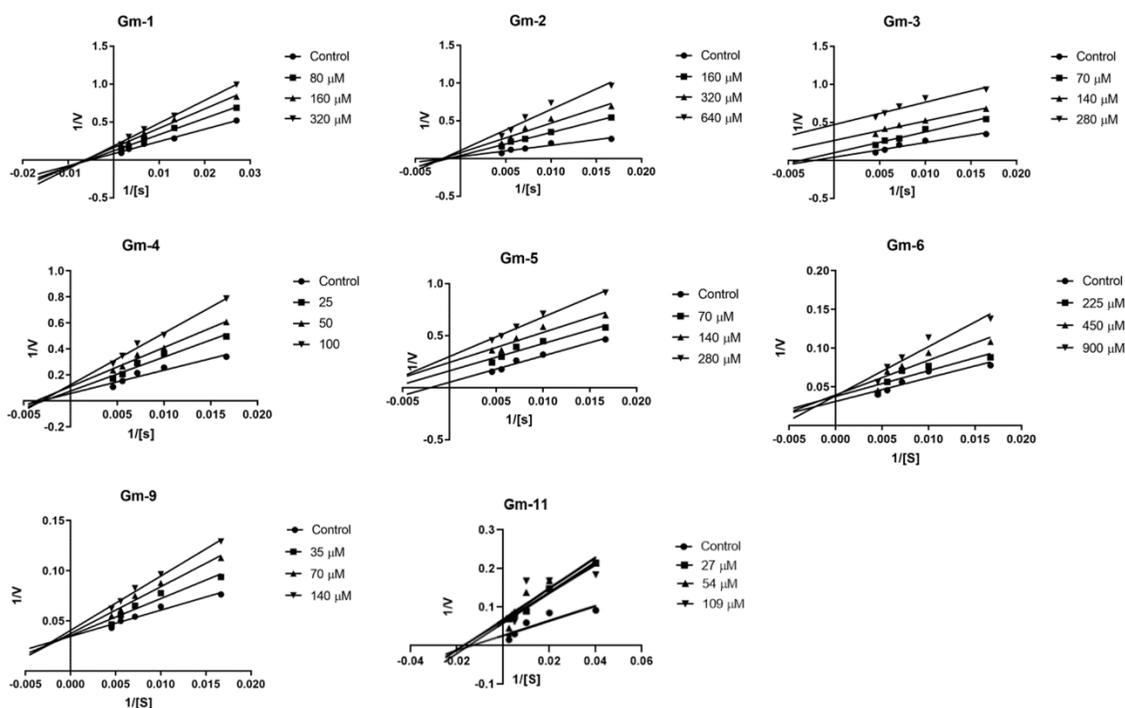
**Tabla 3-2.** Resultados de inhibición enzimática frente a LP de los compuestos **Gm-1** a **Gm-11**.

Compuestos/control positivo	Lipasa pancreática		
	Cl <sub>50</sub> (μM)	Ki (μM)	Tipo inh
<b>Gm-1</b>	138,1 ± 6,8	138,1	NC
<b>Gm-2</b>	326,3 ± 7,1	326,3	NC
<b>Gm-3</b>	134,8 ± 1,5	129,7	UC
<b>Gm-4</b>	50,6 ± 6,7	50,6	NC
<b>Gm-5</b>	67,1 ± 2,8	57,2	UC
<b>Gm-6</b>	69,2 ± 4,9	69,2	M
<b>Gm-7</b>	---	---	---
<b>Gm-8</b>	---	---	---
<b>Gm-9</b>	454,6 ± 1,9	405,2	M
<b>Gm-10</b>	---	---	---
<b>Gm-11</b>	59,4 ± 3,8	59,4	NC
<b>Orlistat</b>	0,65 ± 0,4	0,2	II

Tipo inh: tipo de inhibidor, II: Inhibidor Irreversible, C: Competitivo, NC: No competitivo, UC: Acompetitivo, M: mixto

Con los resultados de Cl<sub>50</sub> de los compuestos activos se pueden estimar algunas relaciones cualitativas de estructura-actividad inhibitoria sobre LP. Se encuentra que los compuestos que tienen cadenas de isoprenilo en las posiciones 2 y 8 del núcleo de la xantona (**Gm-4**, **Gm-5**, **Gm-6** y **Gm-11**) presentan los menores valores de Cl<sub>50</sub>, lo que sugiere que la presencia y ubicación de estos sustituyentes es importante para la inhibición de la LP. Es importante resaltar que a pesar de que el compuesto **Gm-10** tiene los sustituyentes isoprenilo en las posiciones 2 y 8 no presenta actividad sobre LP, indicando que la O-alquilación realizada en **Gm-4** sobre los hidroxilos ubicados en las posiciones 3 y 6 con cadenas de cinco átomos de carbono influye negativamente en la actividad. Otro aspecto estructural que se puede resaltar es el efecto negativo que tiene la hidrogenación de las cadenas preniladas en la actividad inhibitoria sobre LP, pues al comparar el valor Cl<sub>50</sub> de **Gm-4** (50,6 ± 6,7 μM) con el de **Gm-9** (456,6 ± 1,9 μM), se aprecia que la actividad se reduce en aproximadamente un orden de magnitud.

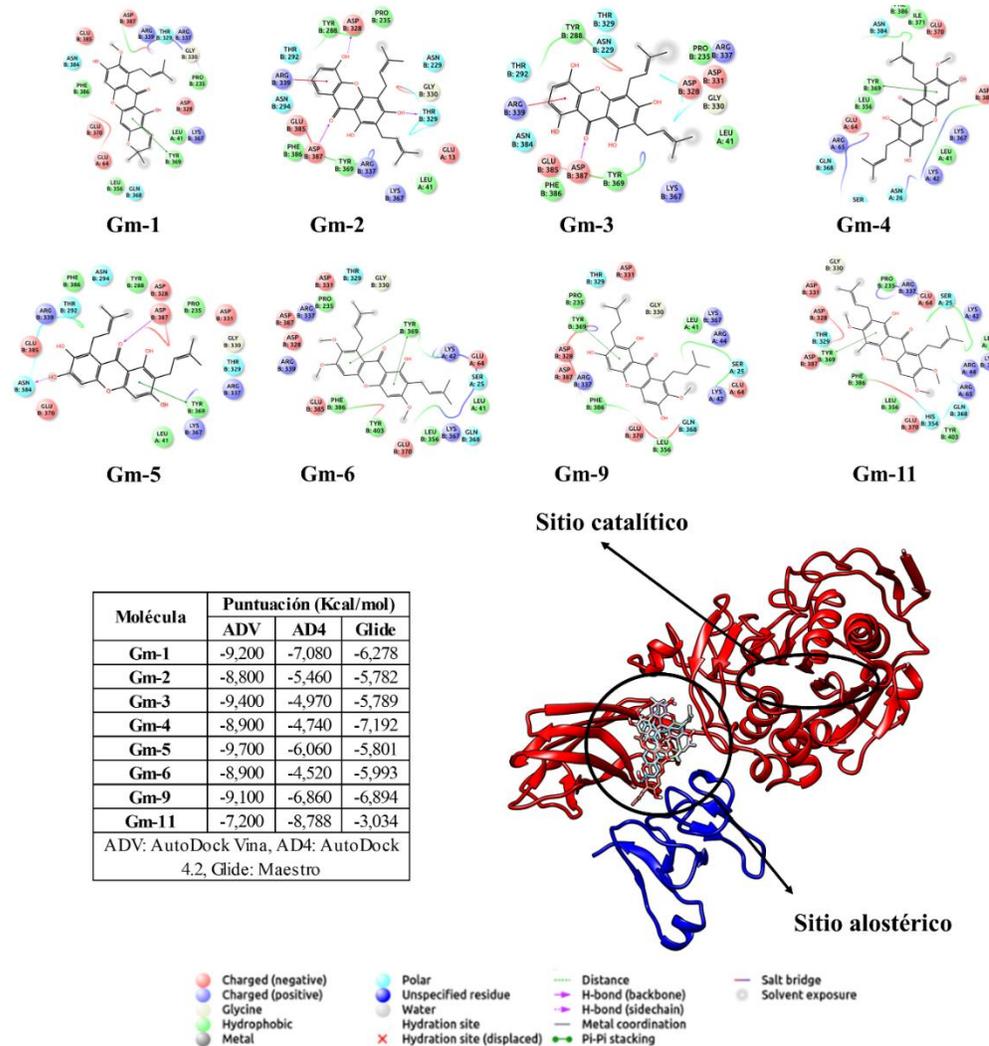
Con cada uno de los compuestos bioactivos se realizó un estudio de cinética enzimática variando las concentraciones de inhibidor y de sustrato, para estimar el tipo de inhibición que están causando sobre la LP. En la Figura 3-4 se presentan los gráficos de Lineweaver-Burk que permiten determinar el tipo de inhibición de acuerdo con el comportamiento de las líneas de tendencia (Saboury 2009). El estudio cinético permitió determinar que los compuestos **Gm-1**, **Gm-2** y **Gm-4** se comportan como inhibidores no competitivos. También se estableció que los compuestos **Gm-3** y **Gm-5** pueden ser catalogados como inhibidores incompetitivos, mientras que **Gm-6** y **Gm-9** se clasifican como inhibidores de tipo mixto. Lo anterior indica que ninguna de las xantonas bioactivas sobre LP compite con el sustrato por el sitio activo de la enzima. Adicionalmente, se estimaron las constantes de inhibición ( $K_i$ ) para establecer la afinidad de los inhibidores por la enzima, resultados que se resumen en la Tabla 3.2. En este caso se encontró que todas las constantes de inhibición estimadas son mayores a la  $K_m$  (47.4  $\mu\text{M}$ ), por lo tanto, es posible afirmar que los inhibidores tienen menor afinidad con la enzima que el sustrato empleado en el ensayo. Estudios previos catalogan a **Gm-4** como inhibidor no competitivo sobre LP (Chae et al. 2016), resultados que coinciden con lo obtenido en este trabajo. Se reportan por primera los tipos de inhibición causados por **Gm-1**, **Gm-2**, **Gm-3**, **Gm-5**, **Gm-6**, **Gm-9** y **Gm-11** sobre LP.



**Figura 3-4.** Gráficos Lineweaver-Burk del estudio cinético de los compuestos **Gm-1** a **Gm-11** activos sobre LP.

Teniendo en cuenta los resultados de actividad inhibitoria sobre la LP, se realizó un estudio de acoplamiento molecular ciego para visualizar el modo de unión y estimar las energías de unión entre las moléculas bioactivas y los residuos aminoacídicos de la LP (Figura 3-5). Para este estudio se tuvieron en cuenta el bolsillo catalítico y otros sitios de unión en los que las xantonas pueden ubicarse causando la inhibición de la actividad catalítica de la LP. Los valores de energías de unión obtenidos con los tres programas indican que la interacción de los compuestos bioactivos con LP es moderada. Los resultados del estudio de acoplamiento molecular ciego muestran que las xantonas no se ubican en el bolsillo catalítico de la enzima que contiene los aminoácidos Ser<sup>152</sup>(OH), Phe<sup>77</sup>(NH) y His<sup>263</sup>(NH) (Veeramachaneni et al. 2015). Estos resultados concuerdan con lo encontrado en los estudios de cinética enzimática, donde se encontraron inhibiciones no competitivas, acompetitivas y mixtas. En el modelo de acoplamiento molecular (Figura 3-5) se encuentra un bolsillo existente entre la LP y la colipasa donde se observaron las moléculas **Gm-1** a **Gm-11** interactuando con los residuos de esta región. La principal interacción observada sobre el bolsillo LP-colipasa es de tipo pi-pi con el aminoácido Tyr<sup>369</sup> de la colipasa, lo que sugiere que este bolsillo está involucrado en la disminución de la actividad catalítica. Las

moléculas pueden estar ocasionando un cambio conformacional de la estructura de la enzima al ser probablemente modificado el sitio catalítico ya que este está formado por el puente originado por la unión entre la LP y su colipasa (Whitcomb y Lowe 2007). En el caso de los **Gm-6** y **Gm-9**, cuya inhibición fue de tipo mixto, los resultados de acoplamiento molecular sugieren que su carácter de inhibición tiende hacia el tipo de inhibición no competitivo, pues no se observó para estas sustancias ninguna interacción con la triada catalítica de LP.



**Figura 3-5.** Visualización de los modos de unión de **Gm-1** a **Gm-11** – LP, modelo 3D y 2D de interacciones.

### 3.2.2 Estudio de inhibición sobre $\alpha$ -glucosidasa (AG)

Los resultados del estudio de inhibición sobre  $\alpha$ -glucosidasa para los compuestos aislados y sintetizados se presentan en la Tabla 3-3. Se observa que, de los 11 compuestos evaluados, 8 lograron inhibir la  $\alpha$ -glucosidasa con valores de  $CI_{50}$  entre 33.3 y 247.8  $\mu$ M. Todos los compuestos activos presentaron un mayor efecto inhibitorio sobre AG que el control positivo acarbosa, siendo los compuestos **Gm-4**, **Gm-6** y **Gm-7** los más promisorios, pues son aproximadamente 10 veces más activos que el control positivo. Los compuestos sintéticos **Gm-8**, **Gm-10** y **Gm-11** fueron las sustancias que no causaron ninguna inhibición en la actividad catalítica de la enzima.

**Tabla 3-3.** Resultados de inhibición enzimática frente a AG de los compuestos **Gm-1** a **Gm-11**.

Compuestos/control positivo	$\alpha$ -glucosidasa		
	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$Ki$ ( $\mu$ M)	Tipo inh
<b>Gm-1</b>	157,1 $\pm$ 2,1	154,0	UC
<b>Gm-2</b>	247,8 $\pm$ 4,0	247,8	M
<b>Gm-3</b>	123,6 $\pm$ 8,2	123,6	M
<b>Gm-4</b>	31,6 $\pm$ 2,6	31,6	M
<b>Gm-5</b>	84,7 $\pm$ 6,7	84,7	M
<b>Gm-6</b>	33,3 $\pm$ 4,1	23,3	C
<b>Gm-7</b>	37,2 $\pm$ 4,1	37,2	M
<b>Gm-8</b>	---	---	---
<b>Gm-9</b>	34,2 $\pm$ 1,8	23,9	C
<b>Gm-10</b>	---	---	---
<b>Gm-11</b>	---	---	---
<b>Acarbosa</b>	315,2 $\pm$ 3,2	56,4	C

Tipo inh: tipo de inhibidor, I: Inhibidor Irreversible, C: Competitivo, NC: No competitivo, UC: Acompetitivo, M: mixto

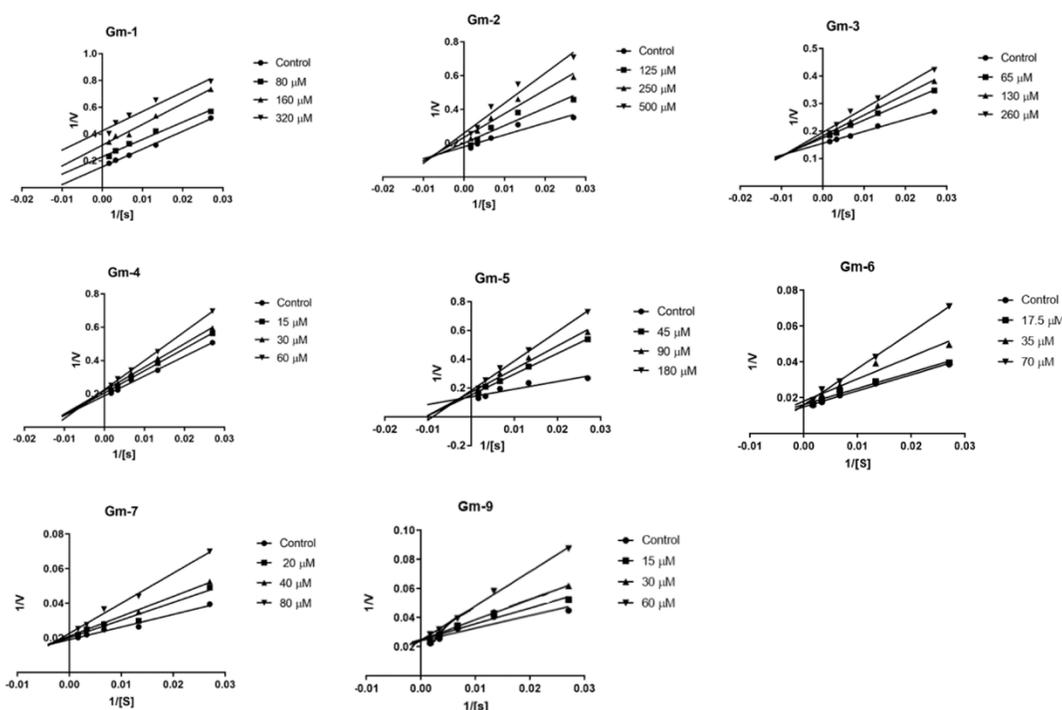
En estudios previos se reporta la actividad para los compuestos **Gm-1** a **Gm-5** frente a AG, encontrándose que los resultados obtenidos en este estudio difieren de los reportes previos. Li y colaboradores reportan valores de  $CI_{50}$  de 10.0  $\mu$ M para **Gm-4** y 5.0  $\mu$ M para **Gm-5** (Li et al. 2018). Ryu y colaboradores reportan valores de  $CI_{50}$  de 34.2  $\mu$ M para **Gm-1**, 21.5  $\mu$ M para **Gm-2**, 10  $\mu$ M para **Gm-3**, 5  $\mu$ M para **Gm-4** y 1.5  $\mu$ M para **Gm-5** (Ryu et al. 2011). En el estudio desarrollado por Vongsak y colaboradores reportan valores de  $CI_{50}$

de 29.2  $\mu\text{M}$  para **Gm-4** y 4.2  $\mu\text{M}$  para **Gm-5** (Vongsak et al. 2015). Tanto en los reportes previos como en este estudio se utiliza el mismo método para la cuantificación de la actividad enzimática de AG, sin embargo, los tiempos de reacción y las concentraciones de sustrato son diferentes en todos los casos. Dichas variaciones metodológicas pueden ser las responsables de las marcadas diferencias en los resultados encontrados en las diferentes investigaciones. Es importante anotar que los resultados reportados para los compuestos **Gm-6**, **Gm-7** y **Gm-9** constituyen el primer reporte de actividad inhibitoria frente a AG.

Con los resultados de  $\text{CI}_{50}$  de los compuestos activos se pueden estimar algunas relaciones cualitativas de estructura-actividad inhibitoria sobre AG. Al comparar los valores  $\text{CI}_{50}$  de **Gm-4** y **Gm-5** es posible establecer que la presencia de un grupo metoxilo en la posición 7 del núcleo xantona favorece la actividad inhibitoria sobre AG, pues **Gm-4** es aproximadamente tres veces más activo que **Gm-5**. También se aprecia que la presencia del anillo pirano en las posiciones 7 y 8 del núcleo xantona anula completamente la actividad sobre AG, hecho que se puede evidenciar al comparar las  $\text{CI}_{50}$  de **Gm-7** y **Gm-8**. Otra característica estructural que conlleva a la pérdida de actividad sobre esta enzima es la presencia de un grupo metilo en la posición 4 de la xantona, efecto que se confirma al comparar los resultados obtenidos para **Gm-6** y **Gm-11**. Finalmente, al comparar la actividad exhibida por **Gm-7** y **Gm-1**, es posible apreciar que la actividad se reduce aproximadamente 4 veces cuando el anillo de pirano ubicado en las posiciones 2 y 3 de la xantona posee una insaturación que extiende la conjugación del anillo aromático.

Con cada uno de los compuestos bioactivos se realizó un estudio de cinética enzimática variando las concentraciones de inhibidor y de sustrato, para determinar el tipo de inhibición que están causando sobre la AG haciendo uso de los gráficos L-B (Figura 3-6). El estudio cinético permitió determinar que los compuestos **Gm-2**, **Gm-3**, **Gm-4**, **Gm-5** y **Gm-7** actúan como inhibidores mixtos, el compuesto **Gm-1** se comporta como inhibidor acompetitivo, mientras que los compuestos **Gm-6** y **Gm-9** son catalogados como inhibidores competitivos. Lo anterior indica que las xantonas **Gm-6** y **Gm-9** compiten con el sustrato por el sitio activo de la enzima. Adicionalmente, se estimaron las constantes de inhibición ( $K_i$ ) para establecer la afinidad de los inhibidores por la enzima, resultados que se resumen en la Tabla 3.3. En este caso se encontró que todas las constantes de

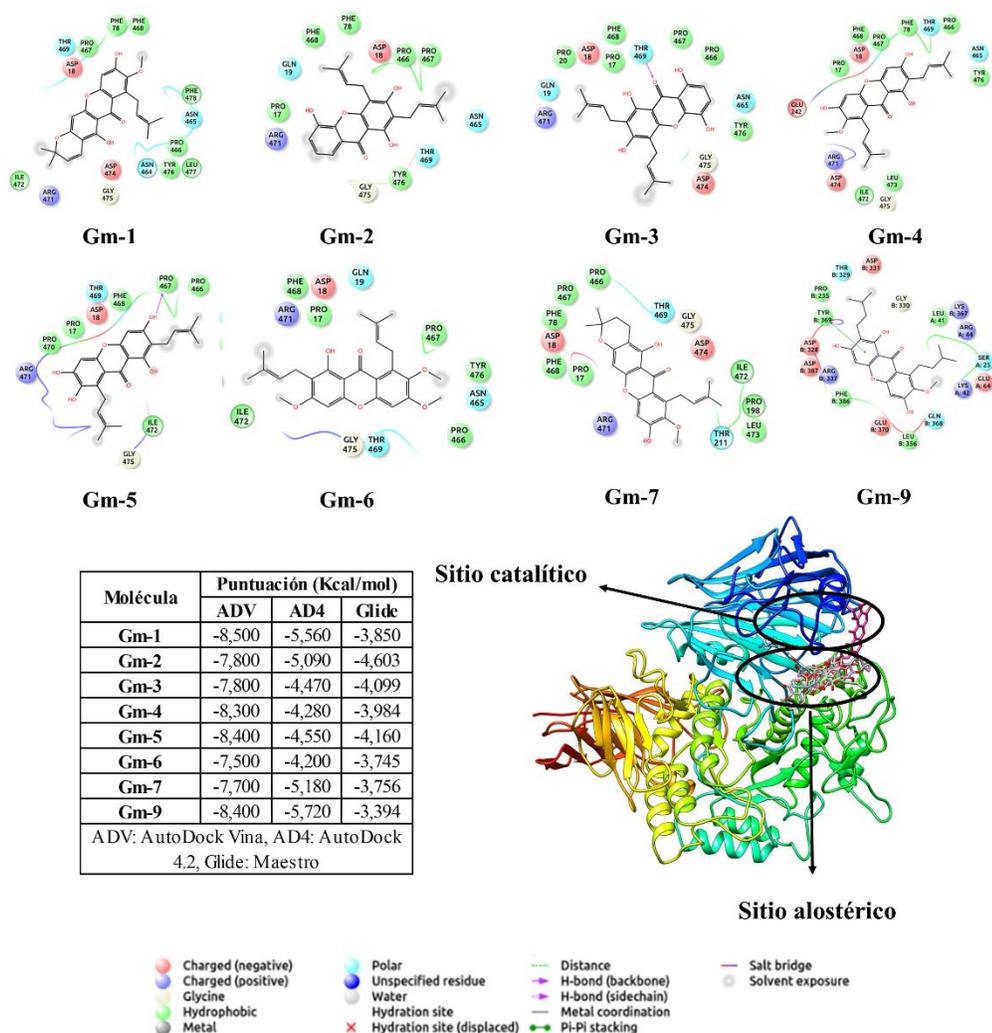
inhibición estimadas son mayores a la  $K_m$  ( $12 \mu\text{M}$ ), por lo tanto, es posible afirmar que los inhibidores tienen menor afinidad con la enzima que el sustrato empleado en el ensayo. Sin embargo, los compuestos **Gm-6** y **Gm-9** presentaron los menores valores de  $K_i$ , lo que era de esperarse, por ser los inhibidores de tipo competitivo. En estudios previos se ha determinado que los compuestos **Gm-2** y **Gm-5** se comportan como inhibidores de tipo mixto sobre AG (Ryu et al. 2011), resultados que coinciden con lo obtenido en este trabajo. Se reportan por primera los tipos de inhibición causados por **Gm-1**, **Gm-3**, **Gm-4**, **Gm-6**, **Gm-7** y **Gm-9** sobre AG.



**Figura 3-6.** Gráficos Lineweaver-Burk del estudio cinético de los compuestos **Gm-1** a **Gm-9** activos sobre AG.

Teniendo en cuenta los resultados de inhibición de la actividad catalítica de AG, se realizó un estudio de acoplamiento molecular ciego para visualizar el modo de unión y estimar las energías de unión entre las moléculas bioactivas y los residuos aminoacídicos de la AG (Figura 3-7). Para este estudio se tuvieron en cuenta el bolsillo catalítico y otros sitios de unión en los que las xantonas pueden ubicarse para ejercer la inhibición sobre AG. Las energías interacción calculadas indican que se presenta una interacción moderada entre los inhibidores y la enzima. El modelo de acoplamiento molecular permite evidenciar que

los compuestos **Gm-6** y **Gm-9** se ubican en el bolsillo catalítico de la enzima, pero no interactúan con los aminoácidos Asp<sup>203</sup>(OH), Asp<sup>327</sup>(OH) y Asp<sup>443</sup>(OH) de la triada catalítica (Sim et al. 2008), lo que sugiere que estos compuestos están ejerciendo una inhibición de tipo competitivo por obstrucción del sitio activo. También se encontró que **Gm-4** se ubica sobre el sitio catalítico de la enzima, lo que indica que es un inhibidor mixto que interactúa directamente con el sitio catalítico de la AG. Contrario a lo anterior, se observa que los compuestos **Gm-1**, **Gm-2**, **Gm-3**, **Gm-5** y **Gm-7** no se ubican en el bolsillo catalítico de la enzima, sino que interactúan con un sitio alostérico cercano al sitio catalítico de la AG, en el que están presentes los residuos aminoacídicos Asp<sup>18</sup>(OH), Glu<sup>242</sup>(OH) y Asp<sup>474</sup>(OH). Para el compuesto **Gm-4** también se encontraron interacciones con el bolsillo alostérico. Dada la proximidad que existe entre el bolsillo catalítico responsable de la escisión de los azúcares y el sitio alostérico hallado, se puede inferir que la interacción de las xantonas con el bolsillo alostérico origina un cambio conformacional en la enzima que conlleva a la reducción de su actividad catalítica (Sim et al. 2008), hecho que confirma el comportamiento de estas sustancias como inhibidores mixtos y incompetivos. Finalmente, se resalta que los compuestos **Gm-6** a **Gm-11** no se presentan reporte en la literatura de los tipos de inhibición causados sobre AG.



**Figura 3-7.** Visualización de los modos de unión de **Gm-1** a **Gm-11** – AG, modelo 3D y 2D de interacciones.

### 3.2.3 Estudio de inhibición sobre $\alpha$ -amilasa (AA)

En la Tabla 3-5 se presentan los resultados del estudio de inhibición sobre AA causada por los compuestos aislados y sintetizados. Se observa que, de los 11 compuestos evaluados, 5 lograron inhibir la enzima  $\alpha$ -amilasa con valores de  $CI_{50}$  entre 90.1 y 333.5  $\mu$ M, obteniendo una actividad muy superior a la causada por el control positivo acarbosa. Los compuestos **Gm-1**, **Gm-3**, **Gm-7**, **Gm-8**, **Gm-10** y **Gm-11** fueron las sustancias que no causaron ninguna inhibición en la actividad catalítica de la enzima AA. En estudios previos se reporta la actividad frente a AA de los compuestos **Gm-4** ( $CI_{50}$  de 29.6  $\mu$ M, (Adnyana et al. 2016); 60% de inhibición a una concentración de 100  $\mu$ M (Ibrahim et al. 2019)) y **Gm-5**

(67.3% de inhibición a una concentración de 100  $\mu\text{M}$  (Ibrahim et al. 2019)), encontrándose que los resultados obtenidos en este estudio difieren de los reportados previamente. Las diferencias encontradas están relacionadas con las metodologías empleadas, pues tanto en nuestro estudio como en el de los otros dos autores se emplean enzimas de distinto origen diferente, sustratos, tiempos de reacción y métodos de cuantificación diferentes (Adnyana et al. 2016; Bisswanger 2014; Ibrahim et al. 2019). Cabe destacar para los compuestos **Gm-2**, **Gm-6** y **Gm-9** este es el primer reporte de actividad inhibitoria que se realiza frente a AA.

**Tabla 3-3.** Resultados de inhibición enzimática frente a AA de los compuestos **Gm-1** a **Gm-11**.

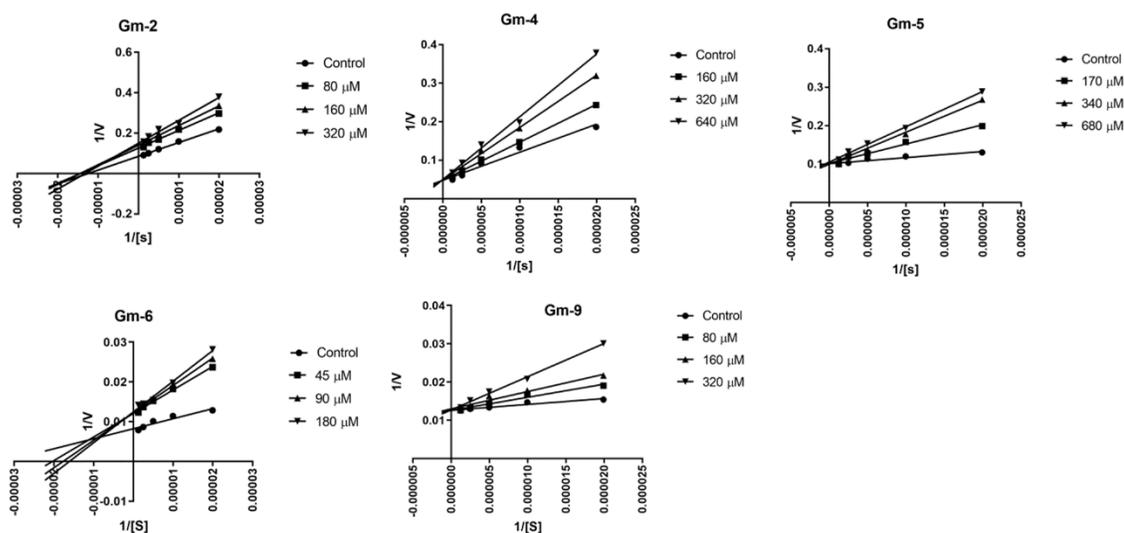
Compuestos/control positivo	$\alpha$ -amilasa		
	CI <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )	Ki ( $\mu\text{M}$ )	Tipo inh
<b>Gm-1</b>	---	---	---
<b>Gm-2</b>	165,6 $\pm$ 4,1	165,6	NC
<b>Gm-3</b>	---	---	---
<b>Gm-4</b>	317,6 $\pm$ 4,3	240,4	C
<b>Gm-5</b>	333,5 $\pm$ 4,5	138,6	C
<b>Gm-6</b>	164,4 $\pm$ 0,9	28,6	M
<b>Gm-7</b>	---	---	---
<b>Gm-8</b>	---	---	---
<b>Gm-9</b>	90,1 $\pm$ 6,0	45,1	C
<b>Gm-10</b>	---	---	---
<b>Gm-11</b>	---	---	---
<b>Acarbosa</b>	820,0 $\pm$ 14,0	130,7	C

Tipo inh: tipo de inhibidor, II: Inhibidor Irreversible, C: Competitivo, NC: No competitivo, UC: Acompetitivo, M: mixto

Con los resultados de CI<sub>50</sub> de los compuestos activos se pueden estimar algunas relaciones cualitativas de estructura-actividad inhibitoria sobre AA. Se encuentra que la metilación de los hidroxilos fenólicos favorece la actividad, lo cual se evidencia al comparar los valores CI<sub>50</sub> de **Gm-6**, **Gm-4** y **Gm-5**, siendo **Gm-6** aproximadamente 2 veces más activo que **Gm-4** y **Gm-5**. También se pudo observar que la hidrogenación de las cadenas preniladas aumenta la actividad inhibitoria sobre AA, pues **Gm-9** es aproximadamente 3,5

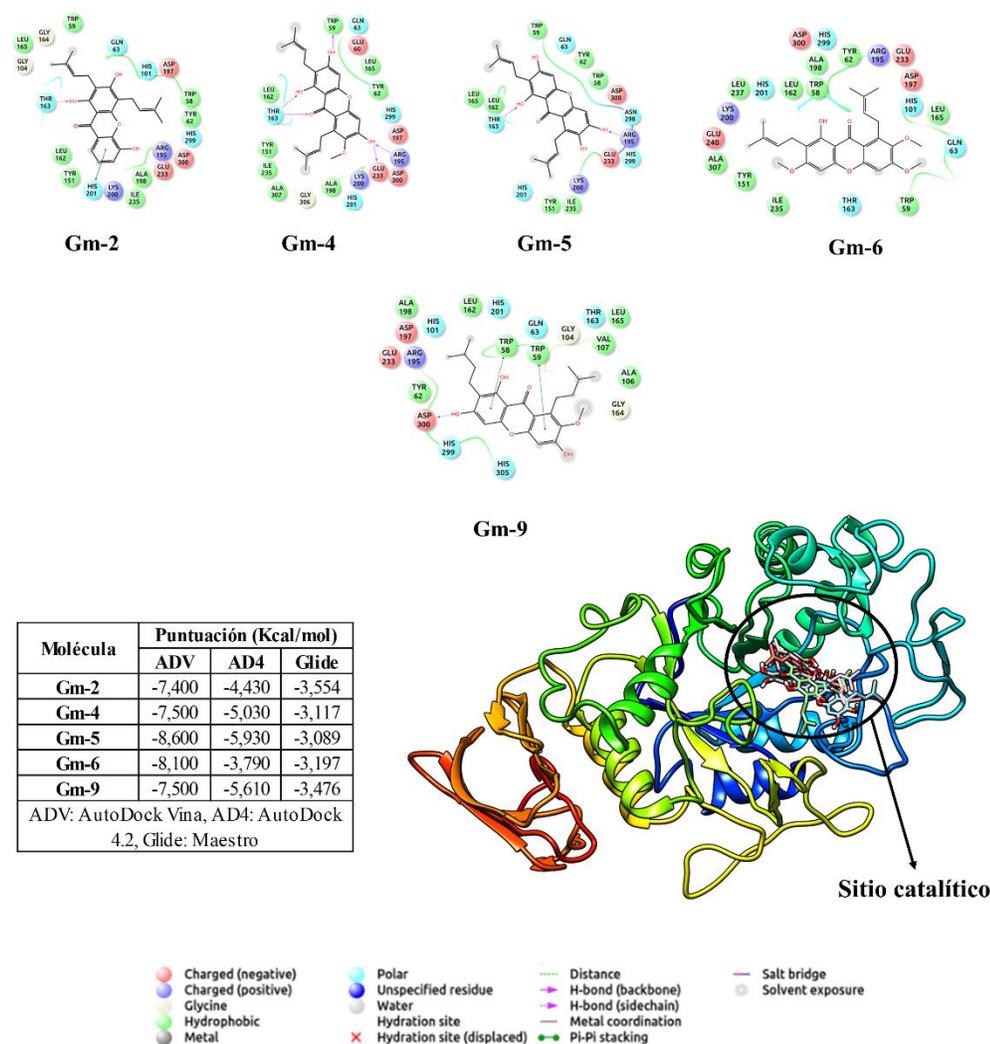
veces más activo que **Gm-4**. Por otro lado, comparando los resultados de actividad inhibitoria causada en AA por **Gm-11** y **Gm-6** se encuentra que la metilación en la posición 4 del núcleo xantona anula completamente la actividad sobre la enzima. Finalmente, se puede establecer que los anillos tipo pirano presentes en las estructuras de **Gm-1**, **Gm-7** y **Gm-8** hacen que se pierda completamente la actividad inhibitoria sobre AA.

Con cada uno de los compuestos bioactivos se realizó un estudio de cinética enzimática para estimar el tipo de inhibición que están causando sobre la AA tomando como base los gráficos de L-B mostrados en la Figura 3-8. El estudio cinético permitió determinar que los compuestos **Gm-4**, **Gm-5** y **Gm-9** se comportan como inhibidores competitivos, que el compuesto **Gm-2** corresponde a un inhibidor no competitivo y que **Gm-6** ejerce una inhibición de tipo mixto. Dichos resultados sugieren que los compuestos **Gm-4**, **Gm-5**, **Gm-9**, y posiblemente **Gm-6** compiten con el sustrato por el sitio catalítico. Adicionalmente se calcularon las constantes de inhibición ( $K_i$ ), que se resumen en la Tabla 3-5. Los valores de  $K_i$  determinados para todos los inhibidores son menores que la  $K_m$  (340  $\mu\text{M}$ ), lo que indica que estos tienen mayor afinidad por la enzima que el sustrato empleado en el ensayo. Por otro lado, cabe resaltar que los tipos de inhibición determinados para las xantonas bioactivas sobre AA se reportan por primera vez en este estudio.



**Figura 3-8.** Gráficos Lineweaver-Burk del estudio cinético de los compuestos **Gm-2** a **Gm-9** activos sobre AA.

Teniendo en cuenta los resultados de actividad biológica sobre la AA, se realizó un estudio de acoplamiento molecular ciego para visualizar el modo de unión y estimar las energías de unión entre las moléculas bioactivas y los residuos aminoacídicos de la AA (Figura 3-9). Para este estudio se tuvo en cuenta el bolsillo catalítico y otros sitios de unión en los que las xantonas pueden ubicarse causando la inhibición de la actividad catalítica de AA. Las energías de unión calculadas indican que los compuestos bioactivos tienen una interacción moderada con AA. Los resultados del estudio de acoplamiento molecular ciego muestran que las xantonas bioactivas se ubican sobre el sitio catalítico de la enzima. Para los compuestos **Gm-4**, **Gm-5** y **Gm-9** se observan interacciones de tipo puente de hidrógeno con los residuos aminoacídicos Asp<sup>197</sup>(OH), Glu<sup>233</sup>(OH), Arg<sup>195</sup>(NH<sub>2</sub>), interactuando de esta manera con por lo menos uno de los aminoácidos de la triada catalítica, confirmando la inhibición competitiva ejercida por estos compuestos. Es importante resaltar que **Gm-9** posee una interacción tipo puente de hidrógeno con Asp<sup>300</sup>(OH), aminoácido del bolsillo catalítico responsable del anclaje del sustrato y posterior escisión de azúcares (Brás et al. 2018), lo cual corrobora la inhibición competitiva de este compuesto, ya que está bloqueando el sitio catalítico y compitiendo con el sustrato. Por otro lado, el compuesto **Gm-6**, a pesar de ubicarse sobre el sitio catalítico no mostró ninguna interacción con los aminoácidos de la triada catalítica o con aminoácidos cercanos a esta, lo que sugiere que la inhibición mixta de esta sustancia tiene una tendencia mayor a una inhibición de tipo no competitivo. Lo anterior puede estar relacionado con la presencia de los grupos metoxilo en las posiciones 4,6 y 7 que modifican su disposición en el espacio y por ende no permite que se establezcan interacciones con la tríada catalítica. Finalmente, el compuesto **Gm-2** posee interacciones con los aminoácidos Thr<sup>163</sup>, Trp<sup>58</sup> y Trp<sup>59</sup> que no pertenecen a la triada catalítica, lo que permite confirmar su tendencia no competitiva en el modo de inhibición.



**Figura 3-9.** Visualización de los modos de unión de **Gm-2** a **Gm-9** – AA, modelo 3D y 2D de interacciones.

### 3.2.4 Compuestos con acción polifarmacológica

Los fármacos multidiana, que pueden interactuar con varias dianas biológicas simultáneamente, conducen a medicamentos nuevos y más efectivos para una variedad de enfermedades complejas, incluso con actividades relativamente débiles (Shang et al. 2014). En este sentido, al comparar los resultados de actividad de las xantonas sobre las tres enzimas digestivas (LP; AG y AA) (Tabla 3-4), se encontró que los compuestos **Gm-2**, **Gm-4**, **Gm-5**, **Gm-6** y **Gm-9** ejercen un efecto inhibitorio sobre los tres blancos enzimáticos. Los compuestos **Gm-4** y **Gm-6** son los de mayor potencial multidiana, pues presentan una actividad moderada sobre LP y una actividad sobre AG aproximadamente

10 veces mayor que la de acarbosa. Para la enzima AA, se observa que el compuesto **Gm-6** es 5 veces más activo que el control positivo, mientras que el compuesto **Gm-4** es aproximadamente 3 veces más activo que acarbosa. Es importante resaltar que el compuesto **Gm-9** pese a tener una baja actividad sobre la enzima LP, exhibe un perfil de inhibición promisorio sobre las dos enzimas glicósido hidrolasas, pues sobre AA y AG la actividad de este compuesto es aproximadamente 10 veces mayor que la del control positivo. Lo anterior sugiere que **Gm-9** podría ser propuesto como un candidato para el desarrollo de tratamientos enfocados en diabetes tipo II.

**Tabla 3-4.** Tabla comparativa de valores  $CI_{50}$  sobre las tres enzimas LP; AA y AG,

Compuestos/control positivo	Lipasa pancreática	$\alpha$ -glucosidasa	$\alpha$ -amilasa
	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)
<b>Gm-1</b>	138,1 $\pm$ 6,8	157,1 $\pm$ 2,1	---
<b>Gm-2</b>	326,3 $\pm$ 7,1	247,8 $\pm$ 4,0	165,6 $\pm$ 4,1
<b>Gm-3</b>	134,8 $\pm$ 1,5	123,6 $\pm$ 8,2	---
<b>Gm-4</b>	50,6 $\pm$ 6,7	31,6 $\pm$ 2,6	317,6 $\pm$ 4,3
<b>Gm-5</b>	67,1 $\pm$ 2,8	84,7 $\pm$ 6,7	333,5 $\pm$ 4,5
<b>Gm-6</b>	69,2 $\pm$ 4,9	33,3 $\pm$ 4,1	164,4 $\pm$ 0,9
<b>Gm-7</b>	---	37,2 $\pm$ 4,1	---
<b>Gm-8</b>	---	---	---
<b>Gm-9</b>	454,6 $\pm$ 1,9	34,2 $\pm$ 1,8	90,1 $\pm$ 6,0
<b>Gm-10</b>	---	---	---
<b>Gm-11</b>	59,4 $\pm$ 3,8	---	---
<b>Orlistat</b>	0,65 $\pm$ 0,4	---	---
<b>Acarbosa</b>	---	315,2 $\pm$ 3,2	820,0 $\pm$ 14,0

### 3.3 Optimización farmacodinámica de Gm-4

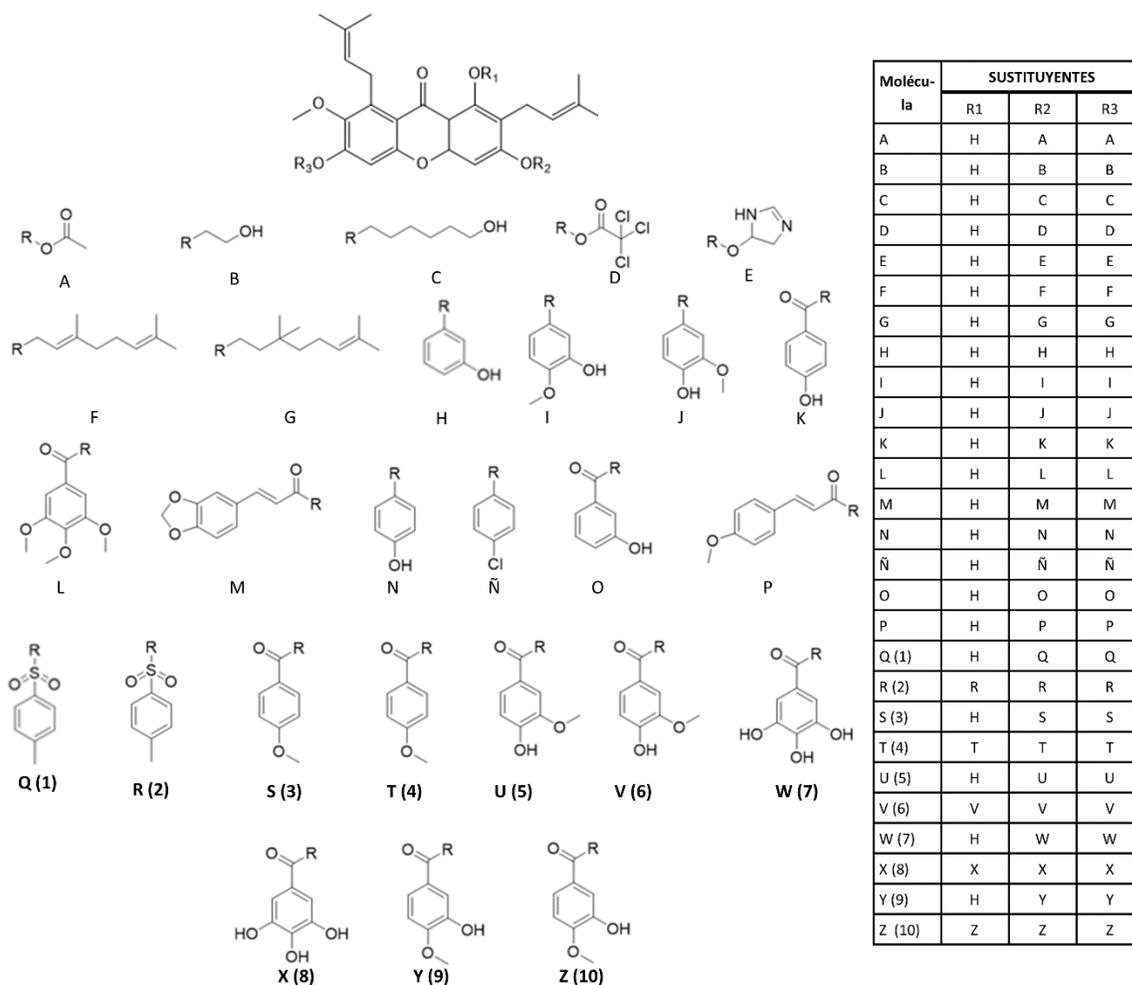
El proceso de optimización farmacodinámica se desarrolló a partir del compuesto mayoritariamente aislado **Gm-4** y que tiene propiedades polifarmacológicas sobre LP, AG y AA. Para el modelo de optimización se estableció como línea base de trabajo las interacciones generadas por el compuesto **Gm-4** con cada enzima y la puntuación de interacción hallada para las mismas por cada programa de *Docking* molecular. Para **Gm-4** la puntuación de interacción tuvo valores de -8.900 (ADV), -4.740 (AD4) y -7.192 (Glide) frente a LP con interacción tipo pi-pi con Tyr<sup>369</sup>. Frente a AG las puntuaciones halladas tuvieron valores de -8.300 (ADV), -4.280 (AD4) y -3.984 (Glide), sin observarse

interacciones con aminoácidos de la triada catalítica. Finalmente, la puntuación de interacción frente a AA tuvo valores de -7.500 (ADV), -5.030 (AD4) y -3.117 (Glide) y se observaron interacciones con los aminoácidos Thr<sup>163</sup>, Trp<sup>59</sup>, Arg<sup>195</sup> y Glu<sup>233</sup>. Teniendo en cuenta la información anterior, el modelo se construyó proponiendo variaciones estructurales in silico que permitieran mejorar los modos de unión y la puntuación de interacción. Este modelo fue desarrollado bajo la inspección de la estructura 3D y 2D del complejo ligando-proteína, ya que esta es una herramienta altamente usada en el descubrimiento de fármacos y complementaria para la obtención de moléculas líderes (Fischer et al. 2020).

### 3.3.1 Modelo de optimización farmacodinámica

El modelo se desarrolló mediante la modificación de las zonas estructurales de la xantona **Gm-4** que están relacionadas con la actividad inhibitoria sobre LP, AG y AA, pues presentaron interacción con los residuos aminoacídicos de cada una de las enzimas. Se diseñaron estructuras con sustituyentes en posiciones 1, 3 y/o 6, como se visualiza en la Figura 3-10. Todas las estructuras fueron acopladas molecularmente en los programas ADV, AD4 y Glide, y se realizó un consenso. Posteriormente se normalizaron los resultados del acoplamiento molecular, donde se usaron todas las moléculas de este trabajo (naturales, derivados sintetizados y optimizadas) para verificar que los resultados entregados por el consenso contengan un menor número de falsos positivos. Los valores de puntuación de interacción se resumen en la Tabla 3-5. En la tabla se puede observar que la mayoría las moléculas (A - P) tienen menores valores de interacción con los blancos moleculares, comparado con **Gm-4**. Adicionalmente, la inspección visual del acoplamiento molecular permite observar que la mayor parte de las moléculas (A - P) no poseen interacciones importantes en los bolsillos catalíticos y alostéricos de las enzimas blanco. Sin embargo, moléculas como I y K presentaron energías de interacción similares o mejores a las obtenidas con **Gm-4** frente a las tres enzimas, y mostraron interacciones interesantes con los aminoácidos Tyr<sup>369</sup> en LP; Thr<sup>469</sup> y Pro<sup>467</sup> en AG; y Thr<sup>163</sup>, Trp<sup>59</sup>, Arg<sup>195</sup> y Glu<sup>233</sup> en AA. Tomando como base estos resultados, se propusieron las moléculas **Q(1)–Z(10)** para buscar mejorar las energías de interacción y los acoplamientos con aminoácidos clave para la inhibición de las tres enzimas. Los resultados del consenso mostraron que dichas moléculas poseen un promedio de escalado alejado de cero, y en su mayoría poseen puntuaciones promediadas mayores que la obtenida por **Gm-4**, I y K

en al menos dos de los tres blancos enzimáticos (Tabla 3-5). Del consenso es posible resaltar que las moléculas optimizadas **Q(1)**, **T(4)** y **U(5)** tienen puntuaciones e interacciones destacadas frente a los blancos como AG y AA, y las moléculas **R(2)**, **S(3)**, **W(7)** y **Z(10)** que poseen resultados destacados sobre el blanco LP que por los blancos enzimáticos AG y AA. Adicionalmente, la inspección visual del *Docking* molecular permite evidenciar mejores interacciones para las moléculas **Q(1)–Z(10)**, hecho que condujo a seleccionar estas moléculas como las de trabajo.



**Figura 3-10.** Lista de moléculas usadas para proceso de optimización (A – Z).

**Tabla 3-5.** Consenso de los resultados de interacción de las moléculas (aisladas, derivadas sintéticas y diseñadas) acopladas molecularmente con programas ADV, AD4 y Glide para la enzima LP, AG y AA,

Consenso															
Lipasa pancreática					$\alpha$ -glucosidasa					$\alpha$ -amilasa					
P	Molécula	ADV	AD4	Glide	Promedio Ae	Molécula	ADV	AD4	Glide	Promedio Ae	Molécula	ADV	AD4	Glide	Promedio Ae
		(Kcal/mol)					(Kcal/mol)					(Kcal/mol)			
1	<b>R (2)</b>	-9,100	-6,520	-7,279	0,750	<b>U (5)</b>	-9,900	-4,050	-5,553	0,699	<b>Q (1)</b>	-11,000	-6,640	-4,547	0,745
2	Gm-9	-9,100	-6,860	-6,894	0,748	<b>V (6)</b>	-9,900	-4,050	-5,553	0,699	Gm-8	-9,600	-5,767	-5,350	0,686
3	<b>Z (10)</b>	-9,100	-6,860	-6,894	0,748	E	-9,400	-0,750	-7,842	0,646	<b>T (4)</b>	-8,600	-5,930	-3,089	0,593
4	Gm-1	-9,200	-7,080	-6,278	0,740	<b>Q (1)</b>	-9,300	-5,420	-4,323	0,642	<b>U (5)</b>	-8,600	-5,930	-3,089	0,593
5	<b>W (7)</b>	-9,200	-7,080	-6,278	0,740	D	-9,000	-2,020	-6,940	0,616	A	-9,700	-1,780	-10,774	0,569
6	Gm-7	-8,900	-6,550	-7,303	0,735	A	-9,100	-1,010	-7,199	0,602	I	-9,000	-5,170	-5,875	0,543
7	<b>Y (9)</b>	-8,900	-6,550	-7,303	0,735	N	-9,200	-3,840	-4,439	0,586	F	-8,600	-5,920	-5,558	0,537
8	Gm-5	-9,700	-6,060	-5,801	0,725	B	-9,000	-3,370	-5,020	0,579	G	-9,700	-4,610	-4,349	0,534
9	<b>T (4)</b>	-9,700	-6,060	-5,801	0,725	Gm-1	-8,500	-5,560	-3,850	0,560	Gm-11	-7,000	-7,525	-5,496	0,532
10	Gm-8	-9,100	-8,028	-3,776	0,665	<b>W (7)</b>	-8,500	-5,560	-3,850	0,560	E	-9,000	-0,580	-12,552	0,500
11	Gm-6	-8,900	-4,740	-7,192	0,661	<b>X (8)</b>	-8,500	-5,560	-3,850	0,560	<b>S (3)</b>	-8,600	-5,140	-3,023	0,498
12	<b>Gm-4</b>	<b>-8,900</b>	<b>-4,740</b>	<b>-7,192</b>	<b>0,661</b>	<b>R (2)</b>	-8,200	-5,060	-4,340	0,539	<b>R (2)</b>	-10,200	-4,560	-1,233	0,490
13	Gm-3	-9,400	-4,970	-5,872	0,659	<b>S (3)</b>	-8,200	-5,060	-4,340	0,539	K	-10,200	-5,200	0,000	0,488
14	<b>V (6)</b>	-9,400	-4,970	-5,789	0,656	Gm-9	-8,400	-5,720	-3,394	0,537	N	-9,600	-3,630	-4,691	0,488
15	Gm-2	-8,800	-5,460	-5,782	0,622	<b>Z (10)</b>	-8,400	-5,720	-3,394	0,537	Gm-5	-8,600	-5,930	-3,089	0,472
16	<b>Q (1)</b>	-8,800	-5,460	-5,782	0,622	Gm-5	-8,400	-4,550	-4,160	0,531	M	-8,600	-4,550	-5,159	0,461
17	K	-10,300	-4,580	3,313	0,619	<b>T (4)</b>	-8,400	-4,550	-4,160	0,531	Gm-1	-8,300	-5,690	-3,530	0,447
18	<b>X (8)</b>	-8,900	-4,520	-5,993	0,603	P	-8,600	-4,210	-3,940	0,527	Gm-10	-7,200	-5,490	-4,142	0,416
19	<b>U (5)</b>	-8,800	-3,800	-6,333	0,581	Gm-2	-7,800	-5,090	-4,603	0,518	D	-8,600	-0,990	-9,587	0,408
20	D	-9,600	-1,090	-7,020	0,575	J	-7,800	-5,090	-4,603	0,518	C	-9,100	-1,940	-6,237	0,406
21	B	-9,400	-3,880	-4,786	0,573	Gm-8	-7,600	-7,603	-3,629	0,511	Gm-9	-7,500	-5,610	-3,476	0,375
22	I	-9,100	-6,290	-2,944	0,564	I	-8,300	-4,050	-4,165	0,507	P	-8,100	-3,460	-5,157	0,367
23	E	-8,500	-1,720	-8,147	0,548	<b>Gm-4</b>	<b>-8,300</b>	<b>-4,280</b>	<b>-3,984</b>	<b>0,507</b>	B	-7,900	-3,220	-5,353	0,344
24	N	-9,500	-4,370	-3,369	0,543	K	-9,800	-2,990	-1,967	0,503	Gm-6	-8,100	-3,790	-3,197	0,331
25	M	-8,800	-4,710	-4,313	0,533	Gm-7	-7,700	-5,180	-3,756	0,477	Gm-2	-7,400	-4,430	-3,554	0,312
26	<b>S (3)</b>	-7,500	-5,150	-6,318	0,518	<b>Y (9)</b>	-7,700	-5,180	-3,756	0,477	Gm-7	-7,300	-4,640	-3,169	0,304
27	F	-8,300	-6,050	-3,617	0,512	Gm-3	-7,800	-4,470	-4,099	0,476	Gm-3	-7,400	-4,340	-2,917	0,291
28	G	-9,200	-5,420	-2,014	0,501	Gm-10	-5,900	-10,234	-3,700	0,466	<b>W (7)</b>	-8,300	-5,690	-3,530	0,289
29	Gm-11	-7,200	-8,788	-3,034	0,497	O	-8,400	-2,480	-3,412	0,431	<b>X (8)</b>	-8,300	-5,690	-3,530	0,289
30	A	-9,000	-5,780	-1,563	0,479	Gm-6	-7,500	-4,200	-3,745	0,427	N	-9,100	-1,250	0,000	0,207
31	O	-8,100	-4,830	-3,866	0,458	M	-8,500	-4,740	-1,359	0,427	O	-8,800	-0,880	0,000	0,164
32	H	-8,600	-3,350	-4,076	0,453	G	-8,200	-3,060	-3,118	0,421	<b>Gm-4</b>	<b>-7,500</b>	<b>-5,030</b>	<b>-3,117</b>	<b>0,159</b>
33	J	-8,000	-5,030	-3,668	0,449	Gm-11	-6,500	-6,910	-4,077	0,406	<b>V (6)</b>	-7,400	-4,340	-2,917	0,111
34	Gm-10	-6,500	-9,353	-2,091	0,419	F	-7,700	-5,470	-1,850	0,405	<b>Z (10)</b>	-7,500	-5,610	-3,476	0,095
35	C	-8,900	-1,920	-1,563	0,322	C	-9,000	-0,980	-1,339	0,344	<b>Y (9)</b>	-8,100	-3,790	-3,197	0,085
36	<b>Ñ</b>	-8,800	-2,460	0,000	0,270	H	-7,400	-2,160	-2,715	0,308	J	-7,400	-4,430	-3,554	-0,148
37	P	-8,800	-1,980	-0,257	0,262	<b>Ñ</b>	-8,600	-1,500	0,000	0,271	H	-7,400	-4,430	-3,554	-0,148

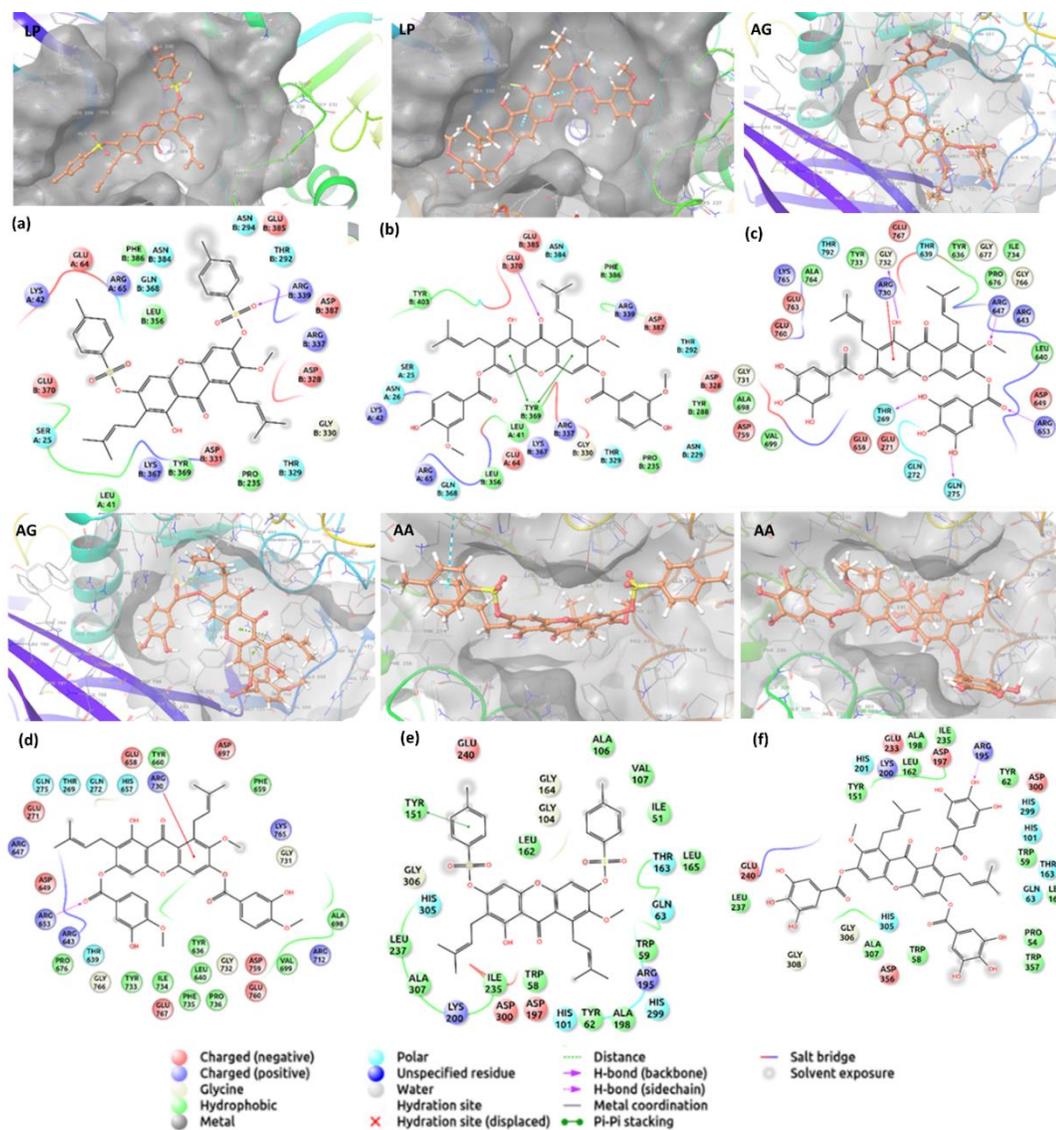
P: posición, Ae: auto escalado, ADV: AutoDock Vina, AD4: AutoDock 4

En la Tabla 3-5 se aprecia que moléculas como **R(2)** (promedio AE de 0.750), **T(4)** (promedio AE de 0.725), **W(7)** (promedio AE de 0.740), **Y(9)** (promedio AE de 0.735) y **Z(10)** (promedio AE de 0.748) fueron clasificadas entre las primeras posiciones del consenso por encima del obtenido por **Gm-4** (promedio AE de 0.0661) para LP. Por lo cual, se esperaría que estas moléculas posean mayor actividad de inhibición frente a LP. Los modos de unión de las 10 moléculas optimizadas sobre LP se visualizan en el anexo 5.4. Además, el consenso de puntuación dado sobre los resultados obtenidos para la enzima AG con **Gm-4** (promedio AE de 0.507) como valor de referencia, se determina que las moléculas **Q(1)** (promedio AE de 0.646), **U(5)** (promedio AE de 0.699), **V(6)** (promedio AE de 0.699) y **W(7)** (promedio AE de 0.560) fueron aquellas que obtuvieron el valor más

cercano a uno en el consenso, y **Y(9)** (promedio AE de 0.477), aunque fue la molécula más baja en promedio, es bastante cercana al valor de **Gm-4**, por lo que la mayor parte de modificaciones estructurales frente a este blanco pueden ser probables para generar inhibición de AG. Los modos de unión de las 10 moléculas optimizadas sobre AG se visualizan en el anexo 5.4. Finalmente, los resultados del consenso de puntuación dado para la enzima AA, permiten observar que el promedio de AE de **Gm-4** obtuvo un valor de 0.159, bastante cercano a cero y que lo caracteriza como molécula poco probable en su efecto como inhibidor de AA. Las moléculas optimizadas **Q(1)**, **R(2)**, **S(3)**, **T(4)**, **U(5)** y **W(7)** fueron aquellas que obtuvieron el valor más cercano a uno en el consenso, y aunque **8** (promedio AE de 0.289) tiene el valor más bajo posee casi el doble de puntuación comparado con **Gm-4**. Los modos de unión de las 10 moléculas optimizadas sobre AA se visualizan en el anexo 5.4.

A continuación, se presentan las interacciones observadas para algunas de las moléculas optimizadas seleccionadas a partir de la inspección visual del *Docking* molecular con los tres blancos enzimáticos (Figura 3-11). Se puede observar el modo de unión de la molécula **Q(1)** con LP (Figura 3-11a), la cual presentó un puente de hidrógeno con Arg<sup>339</sup>(NH<sub>2</sub>) e interacciones con Asp<sup>328</sup>(OH) y Ser<sup>25</sup>(OH). La molécula **W(7)** también interactúa con LP (Figura 3-11b) por medio de interacciones tipo puente de hidrógeno con Glu<sup>370</sup>(OH) y dos apilamientos de tipo pi-pi con la Tyr<sup>369</sup>(aromático). Por otro lado, la molécula **W(7)** interactúa con AG (Figura 3-11c) a través de interacciones de tipo puente de hidrógeno con Arg<sup>647</sup>(NH<sub>2</sub>), Arg<sup>653</sup>(NH<sub>2</sub>), y tipo pi-pi con Arg<sup>730</sup> y los electrones del anillo aromático de la molécula. La molécula **Y(9)** también presenta modos de unión con AG (Figura 3-11d) mediante interacciones de tipo puente de hidrógeno con la Arg<sup>653</sup>(NH<sub>2</sub>) y tipo pi-pi con Arg<sup>730</sup>(NH<sub>2</sub>). Además, en la inspección visual realizada sobre las demás moléculas optimizadas se resalta la prevalencia de esta última interacción tipo pi-pi (Arg<sup>730</sup>(NH<sub>2</sub>)) con AG. Finalmente, la visualización del modo de unión frente a AA de la molécula **Q(1)** (Figura 3-11e) mostró apilamientos tipo pi-pi de la molécula con Tyr<sup>151</sup>(aromático). Para la molécula **8** (Figura 3-11f) el modo de unión con AA se observa a través de un puente de hidrógeno con Arg<sup>195</sup>(NH<sub>2</sub>) y una zona hidrofóbica constituida por Tyr<sup>151</sup>(aromático) y Leu<sup>162</sup>(alifático). En la inspección de los modos de unión de las moléculas optimizadas se evidenció la ocupación del bolsillo donde se encuentran los residuos aminoacídicos de la triada catalítica (Asp<sup>197</sup>(OH), Glu<sup>233</sup>(OH) y Asp<sup>327</sup>(OH)) del complejo con AA, generando con esto

una posible ocupación del sitio activo. Debido a esto, probablemente las moléculas optimizadas competirán por este bolsillo con el sustrato natural (Alqahtani et al. 2020).



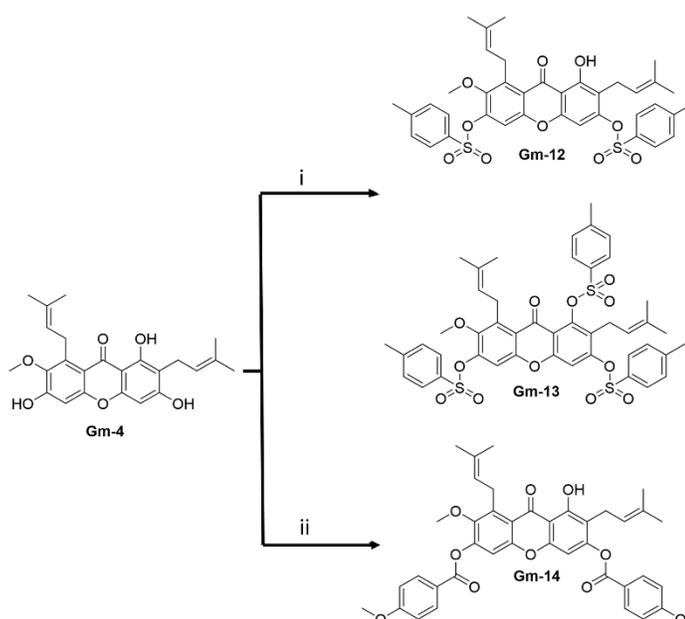
**Figura 3-11.** Modelo de acoplamiento en 3D y 2D del complejo para LP-1 (a), LP-7 (b), AG-7 (c), AG-9 (d), AA-1 (e) y AA-8 (f).

Por último, tras el proceso de optimización farmacodinámica se observó que las moléculas optimizadas **Q(1)** a **Z(10)** mantienen modos de unión en bolsillos referenciados con **Gm-4**, aumentaron en la mayoría de los casos las interacciones (interacción tipo puente de hidrogeno y tipo pi-pi). Cada molécula optimizada obtuvo consensos de puntuación de auto escado referente a las energías dada por cada programa de acoplamiento molecular (AD4, ADV y Glide) mayores al compuesto base de comparación (**Gm-4**) en al menos dos

blancos enzimáticos, manteniendo con esto el objetivo de obtener compuestos optimizados con propiedades polifarmacológicas frente a LP, AG y AA. Por lo tanto, se buscó sintetizar las moléculas pertenecientes a este modelo de optimización con mejor promedio de auto escalado (consenso).

### 3.3.2 Síntesis de compuestos optimizados a partir de **Gm-4**

A partir del estudio de optimización farmacodinámica realizado sobre la xantona **Gm-4** se postularon algunas moléculas con mayores afinidades de interacción frente a LP, AA y AG. Algunas de estas moléculas fueron sintetizadas mediante las reacciones de tosilación y esterificaciones descritas en la Figura 3-12. La reacción de tosilación sobre **Gm-4** se realizó adaptando condiciones típicas de literatura en presencia de cloruro de tosilo, trietilamina y diclorometano, lo que condujo a la obtención de 3,6-di-o-tosil- $\alpha$ -mangostina **Gm-12** (39,1%) y de 1,3,6-tri-o-tosil- $\alpha$ -mangostina **Gm-13** (35,9%). El compuesto **Gm-4** fue sometido a condiciones típicas de una reacción de esterificación en presencia de ácido *p*-metoxibenzoico, 4-(dimetilamino)piridina y dicitclohexilcarbodiimida, obteniéndose a 3,6-di-o-(4'-metoxibenzoil)- $\alpha$ -mangostina **Gm-14** (31,8%). De esta forma fueron sintetizados los compuestos **Gm-12**, **Gm-13** y **Gm-14**, los cuales no presentan reportes previos en la literatura.



**Figura 3-12.** Síntesis de compuestos optimizados (**Gm-12 – Gm-14**) a partir del compuesto **Gm-4**. Reactivos y condiciones: i) Ts-Cl, Et<sub>3</sub>N, DCM, t.a., 30 h, rendimiento total (39,1% - **Gm-12**), (35,4% - **Gm-13**); ii) ácido *p*-metoxibenzoico, DMAP, DCC, t.a., 48 h, rendimiento total (31.8%).

El compuesto **Gm-12** fue sintetizado como un sólido amorfo de color amarillo con p.f de 145-147 °C. Por análisis de RMN se determinó que los sustituyentes sobre el núcleo de xantona corresponden a un grupo hidroxilo fenólico quelatado ( $\delta_H$  13.30 (s, 1H) y  $\delta_C$  161.1(C)), dos grupos *p*-toluenosulfonilo ( $\delta_H$  7.82 (d,  $J = 8.2$ , 2H), 7.28 (dd,  $J = 8.2$ , 3.2, 2H), 2.48 (s, 3H) y  $\delta_C$  139.6 (C), 130.8 (C-S), 129.9 (CH), 128.4 (CH), 21.3 (CH<sub>3</sub>) y  $\delta_H$  7.82 (d,  $J = 8.2$ , 2H), 7.28 (dd,  $J = 8.2$ , 3.2, 2H) y 2.48 (s, 3H), y  $\delta_C$  130.8 (C-S), 129.9 (CH), 128.4 (CH), 21.3 (CH<sub>3</sub>)), un grupo metoxilo ( $\delta_H$  3.69 (s, 3H) y con  $\delta_C$  61.6 (CH<sub>3</sub>)), y dos grupos isoprenilo ( $\delta_H$  4.98 (m, 1H), 4.02 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.76 (s, 3H) y 1.69 (s, 3H) y por  $\delta_C$  139.5 (C), 122.1 (CH), 26.3 (CH<sub>2</sub>), 25.5 (CH<sub>3</sub>) y 18.1 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_H$  4.98 (m, 1H), 3.15 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.76 (s, 3H) y 1.64 (s, 3H) y en APT con  $\delta_C$  132.5 (C), 120.8 (CH), 22.1 (CH<sub>2</sub>), 25.5 (CH<sub>3</sub>) y 17.7 (CH<sub>3</sub>)). Cada uno de los sustituyentes fue ubicado sobre el núcleo base de la xantona por análisis del espectro HMBC (ver Figura 5-36, Anexo 5-4).

El compuesto **Gm-13** fue sintetizado como un sólido amorfo de color blanco con p.f de 137-138 °C. Por análisis de RMN se determinó la presencia sobre el núcleo de xantona de tres grupos *p*-toluenosulfonilo ( $\delta_H$  7.88 (d,  $J = 8.0$ , 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), y 2.48 (s, 3H)

y  $\delta_c$  139.6 (C), 130.8 (C-S), 130.1 (CH), 128.7 (CH), 21.7 (CH<sub>3</sub>),  $\delta_H$   $\delta_H$  7.82 (d,  $J = 8.0$ , 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), y 2.48 (s, 3H) y  $\delta_c$  133.2 (C), 131.7 (C-S), 129.8 (CH), 128.4 (CH), 21.7 (CH<sub>3</sub>) y  $\delta_H$   $\delta_H$  7.78 (d,  $J = 8.0$ , 2H), 7.38-7.34 (m, 2H), y 2.45 (s, 3H), y  $\delta_c$  132.3 (C), 131.7 (C-S), 129.7 (CH), 128.3 (CH), 21.3 (CH<sub>3</sub>), un grupo metoxilo ( $\delta_H$  3.68 (s, 3H) y con  $\delta_c$  61.5 (CH<sub>3</sub>)), y dos grupos isoprenilo (señales en RMN <sup>1</sup>H con  $\delta_H$  4.98 (m, 1H), 4.02 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.76 (s, 3H) y 1.69 (s, 3H) y en APT con  $\delta_c$  139.4 (C), 122.8 (CH), 26.0 (CH<sub>2</sub>), 25.6 (CH<sub>3</sub>) y 18.1 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_H$  4.98 (m, 1H), 3.15 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H), 1.76 (s, 3H) y 1.64 (s, 3H) y en APT con  $\delta_c$  127.0 (C), 120.3 (CH), 23.1 (CH<sub>2</sub>), 25.5 (CH<sub>3</sub>) y 17.8 (CH<sub>3</sub>)). Cada uno de los sustituyentes fue ubicado sobre el núcleo base de la xantona soportado por análisis del espectro HMBC (ver Figura 5-39, Anexo 5-4).

El compuesto **Gm-14** fue sintetizado (rendimiento total, 31.8%) como un sólido amorfo de color amarillo con p.f de 142-145 °C, y por análisis de RMN se determinó la presencia de un grupo hidroxilo fenólico quelatado ( $\delta_H$  13.53 (s, 1H) y  $\delta_c$  161.0 (C)), dos grupos *p*-metoxibenzoilo ( $\delta_H$  8.22 (d,  $J = 9.7$ , 2H) y 7.03 (d,  $J = 9.7$ , 2H), 3.93 (s, 3H), y  $\delta_c$  164.3 (C), 163.9 (C), 132.6 (CH), 121.5 (C), 114.1 (CH), 55.6 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_H$  8.22 (d,  $J = 9.7$ , 2H) y 7.02 (d,  $J = 9.7$ , 2H), 3.92 (s, 3H), y  $\delta_c$  164.1 (C), 163.6 (C), 132.5 (CH), 121.2 (C), 113.9 (CH), 55.5 (CH<sub>3</sub>),), un grupo metoxilo ( $\delta_H$  3.81 (s, 3H) y con  $\delta_c$  61.8 (C)), y dos grupos isoprenilo ( $\delta_H$  5.28 (t,  $J = 1.4$ , 1H), 4.21 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.88 (s, 3H) y 1.74 (s, 3H) y con  $\delta_c$  139.0 (C), 122.8 (CH), 26.5 (CH<sub>2</sub>), 25.8 (CH<sub>3</sub>) y 18.2 (CH<sub>3</sub>), y  $\delta_H$  5.23 (t,  $J = 1.4$ , 1H), 3.41 (d,  $J = 7.0$  Hz, 2H), 1.88 (s, 3H) y 1.65 (s, 3H) y con  $\delta_c$  132.5 (C), 121.5 (CH), 22.4 (CH<sub>2</sub>), 25.8 (CH<sub>3</sub>) y 17.8 (CH<sub>3</sub>)). Cada uno de los sustituyentes fue ubicado sobre el núcleo base de la xantona soportado por análisis del espectro HMBC (ver Figura 5-42, Anexo 5-4).

### 3.3.2.1 Estudio de inhibición de LP, AG y AA a partir de los compuestos optimizados **Gm-12**, **Gm-13** y **Gm-14**

A partir de las moléculas optimizadas y sintetizadas se realizaron los ensayos de actividad enzimática, encontrando que todos los compuestos presentaron actividad inhibitoria frente a LP, AG y AA. La Tabla 3-6 muestra los resultados de la evaluación realizada, adicionalmente se muestran los resultados del estudio de cinética enzimática que permitió determinar el tipo de inhibidor y la constante de inhibición de cada compuesto frente a cada una de las enzimas. Para los compuestos **Gm-12** a **Gm-14** no se encuentran resultados de actividad inhibitoria sobre las enzimas objeto de estudio, siendo este el primer reporte del efecto de estas sustancias sobre LP, AG y AA

**Tabla 3-6.** Determinación del tipo de inhibición, valor de  $CI_{50}$  y  $K_i$  para los compuestos optimizados de **Gm-4** sobre LP, AG y AA,

Compuestos/control positivo	Lipasa pancreática			$\alpha$ -glucosidasa			$\alpha$ -amilasa		
	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)	Tipo inh	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)	Tipo inh	$CI_{50}$ ( $\mu$ M)	$K_i$ ( $\mu$ M)	Tipo inh
<b>Gm-4</b>	50,6 $\pm$ 6,7	50,6	NC	31,6 $\pm$ 2,6	31,6	M	317,6 $\pm$ 4,3	240,4	C
<b>Gm-12</b>	210,4 $\pm$ 1,5	124,4	UC	601,6 $\pm$ 1,1	601,6	NC	55,0 $\pm$ 1,7	1,3	C
<b>Gm-13</b>	394,6 $\pm$ 6,7	394,6	NC	135,1 $\pm$ 2,3	135,1	NC	341,8 $\pm$ 2,5	51,0	C
<b>Gm-14</b>	174,3 $\pm$ 2,8	132,3	UC	20,3 $\pm$ 0,3	20,3	NC	95,1 $\pm$ 1,9	7,3	C
<b>Orlistat</b>	0,65 $\pm$ 0,4	0,2	II	---	---	---	---	---	---
<b>Acarbosa</b>	---	---	---	315,2 $\pm$ 3,27	56,35	C	820,0 $\pm$ 14,0	130,1	C

Tipo inh: tipo de inhibidor, II: Inhibidor Irreversible, C: Competitivo, NC: No competitivo, UC: Acompetitivo,

Los resultados del estudio de inhibición enzimática permiten evidenciar la pérdida de actividad frente a LP en los tres compuestos sintetizados, pues los valores de  $CI_{50}$  obtenidos para **Gm-12** a **Gm-14** fueron entre 3 y 8 veces mayores que el valor de  $CI_{50}$  obtenido para **Gm-4**, lo que indica que no se logró optimizar la actividad sobre esta enzima. Por otro lado, los valores de  $CI_{50}$  obtenidos sobre AG demuestran que el compuesto **Gm-14** es aproximadamente 1.6 veces más activo que el compuesto **Gm-4**, lográndose en este caso la optimización de la actividad inhibitoria sobre esta enzima al esterificar los hidroxilos de las posiciones 3 y 6 con el ácido *p*-metoxibenzoico. En el caso de los compuestos **Gm-12** y **Gm-13** se puede observar que las modificaciones estructurales desmejoraron la actividad inhibitoria sobre AG. Finalmente, frente a AA para los compuestos **Gm-12** y **Gm-14** se aprecia que existe una disminución significativa en el valor de la  $CI_{50}$ , por lo tanto, se consiguió optimizar la actividad inhibitoria sobre la AA. **Gm-12** es aproximadamente 6 veces más activo que **Gm-4**, indicando que la adición de grupos *p*-toluenosulfonilo sobre los hidroxilos de las posiciones 3 y 6 tiene una influencia muy positiva para ejercer el efecto inhibitorio sobre AA. El compuesto **Gm-14** es aproximadamente 3 veces más activo que **Gm-4**, encontrándose que sobre AA también se obtiene un mejor efecto inhibitorio cuando se esterifican los hidroxilos en las posiciones 3 y 6 con unidades de ácido *p*-metoxibenzoico. Es importante resaltar que los resultados obtenidos para el compuesto **Gm-13** sobre las tres enzimas, sugieren que la sustitución sobre el grupo hidroxilo de la posición 1 tiene un efecto negativo sobre la inhibición de la actividad catalítica de las enzimas, demostrando que esta posición es importante para la actividad inhibitoria (Chantarasiwong et al. 2018; Ye et al. 2019). Por último, es posible mencionar que las

modificaciones sintéticas que conllevaron a la obtención de **Gm-14** permitieron optimizar los resultados de actividad inhibitoria sobre los blancos enzimáticos AA y AG, y fueron las que causaron los menores efectos negativos en la actividad frente a LP.

Para las moléculas optimizadas se observó que la manipulación de la estructura no generó cambios en los modos de inhibición (competitivo) de las moléculas **Gm-12** a **Gm-14**, respecto a **Gm-4** para la enzima AA. Por otro lado, las moléculas **Gm-12** a **Gm-14** varían los modos en que se inhibe las enzimas LP y AG siendo esto asociado a los cambios estructurales realizados sobre **Gm-4**, hallando frente a LP tipo de inhibición acompetitivo para los compuestos **Gm-12** y **Gm-14**, y no competitivo para **Gm-13**. Frente a la enzima AG los tipos de inhibición son no competitivos para los tres compuestos (**Gm-12** a **Gm-14**).

## 4. Conclusiones y recomendaciones

### 4.1 Conclusiones

El presente trabajo contribuye con la búsqueda de moléculas con potencial inhibitorio multidiana frente a lipasa pancreática,  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, a partir de un estudio de optimización molecular sobre las xantonas provenientes de *G. mangostana*. Los resultados de esta investigación permitieron concluir:

- El estudio permitió la obtención de xantonas preniladas con acción inhibitoria sobre las enzimas digestivas lipasa pancreática (LP),  $\alpha$ -glucosidasa (AG) y  $\alpha$ -amilasa (AA) provenientes de *G. mangostana*. Se destaca la propuesta de una nueva metodología libre de disolvente y por irradiación con microondas para la obtención de compuestos aromáticos con ciclo tetrahidropirano, a partir de precursores aromáticos hidroxilados con una cadena prenilada vecinal.
- Se contribuyó a la caracterización del mecanismo de inhibición enzimática de las xantonas aisladas y sintetizadas sobre las tres enzimas digestivas de interés, permitiendo determinar que **Gm-2**, **Gm-4**, **Gm-5**, **Gm-6** y **Gm-9** son inhibidores polifuncionales de LP, AG y AA. Adicionalmente, este es el primer reporte de actividad inhibitoria frente a AA de los compuestos naturales **Gm-1**, **Gm-2** y **Gm-3**, y de los compuestos sintetizados **Gm-6** a **Gm-11** frente a las tres enzimas.
- Se sintetizaron tres moléculas predichas por el modelo de optimización farmacodinámica (**Gm-12**, **Gm-13** y **Gm-14**) sin reportes previos en la literatura, los cuales ejercen efecto inhibitorio frente a LP, AG y AA, destacándose **Gm-14** por su acción inhibitoria polifuncional, y por ser el único compuesto con el que se logró optimizar de manera simultánea la actividad inhibitoria frente a AG y AA.



## 4.2 Recomendaciones

Es necesario continuar con las investigaciones fitoquímicas en la especie y en otras especies del género *Garcinia* con el fin de seguir caracterizando los constituyentes químicos con potencial polifarmacológico frente a enzimas digestivas (LP, AG y AA).

Teniendo en cuenta la tendencia de inhibición enzimática presentada por algunos de los compuestos evaluados, es necesaria la realización de ensayos más específicos que permitan determinar su verdadera aplicación para el tratamiento de obesidad y/o diabetes tipo 2.

Es necesario continuar con los estudios de optimización farmacodinámica e incluir un mayor número de ligandos para hacer más robusto el modelo computacional, para predecir moléculas con mayor afinidad e interacción con las dianas biológicas de interés.

Se recomienda continuar con la síntesis de las moléculas predichas por el modelo de optimización que permitan tener más información acerca de la estructura y la actividad inhibitoria que genera, así como para validar el modelo de optimización y obtener compuestos más activos.



## **5 Anexos**

### **5.1 Anexos de fitoquímica**

**Datos espectroscópicos y constantes físicas de los compuestos:**

9-Hidroxiclabaxantona (**Gm-1**)

8-Desoxigartanina (**Gm-2**)

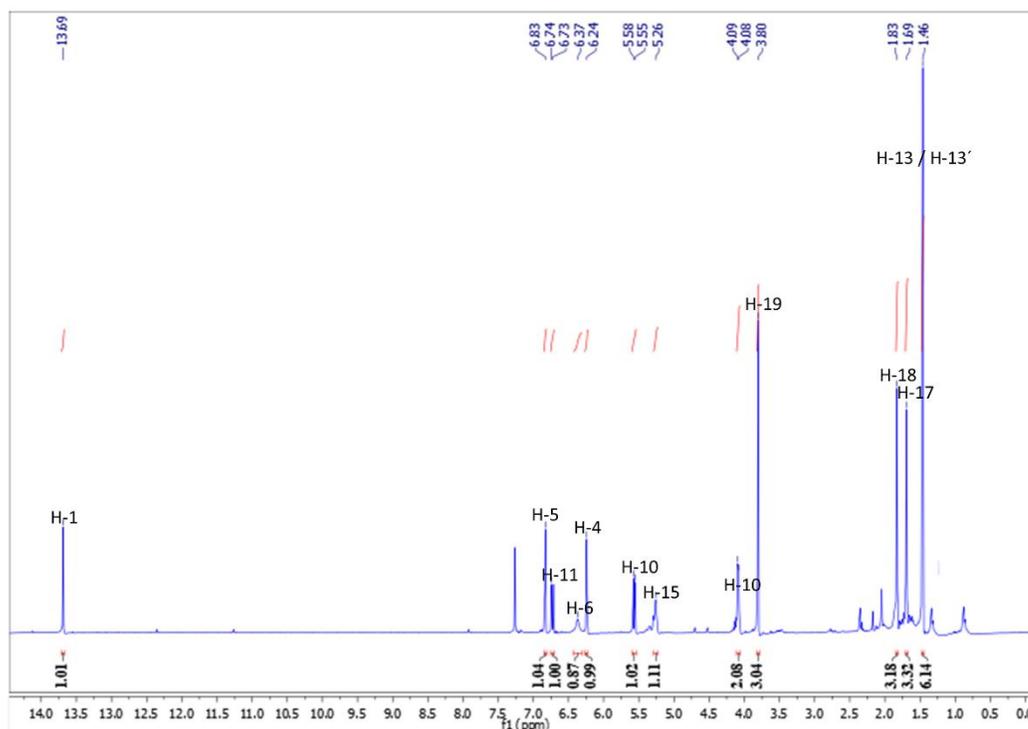
Gartanina (**Gm-3**)

$\alpha$ -mangostina (**Gm-4**)

$\gamma$ -mangostina (**Gm-5**)

**Tabla 5-1.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-1**

	<b>Nombre</b>	9-Hidroxiclabaxantona ( <b>Gm-1</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>24</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>
	<b>Peso molecular</b>	408.15784 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	155-157 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 407.15784 / M = 408.15784
<p><b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm)</b> 13.69 (s, 1H, OH), 6.83 (s, 1H, H-5), 6.73 (d, J = 10.1 Hz, 1H, H-10), 6.37 (s, 1H, OH), 6.24 (s, 1H, H-4), 5.56 (d, J = 10.1 Hz, 1H, H-11), 5.26 (s, 1H, H-15), 4.09 (d, J = 6.2 Hz, 2H, H-14), 3.80 (s, 3H, H-19), 1.83 (s, 3H, H-18), 1.69 (s, 3H, H-17), 1.46 (s, 6H, H-13, H-13').</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)</b> 182.0 (C-9), 159.9 (C-1), 157.9 (C-3), 156.8 (C-4), 155.8 (C-5'), 154.5 (C-6), 142.5 (C-7), 136.9 (C-8), 132.1 (C-16), 127.1 (C-11), 123.1 (C-15), 115.7 (C-10), 111.9 (C-8'), 104.2 (C-2), 103.2 (C-9'), 101.6 (C-5), 94.1 (C-4), 77.9 (C-12), 62.0 (C-19), 28.3 (C-13, C-13'), 26.5 (C-14), 25.8 (C-17), 18.2 (C-18).</p>		
<p>Referencia: (Ah-Reum, H <i>et al.</i>, 2009)</p>		



**Figura 5-1.** Espectro RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-1**.

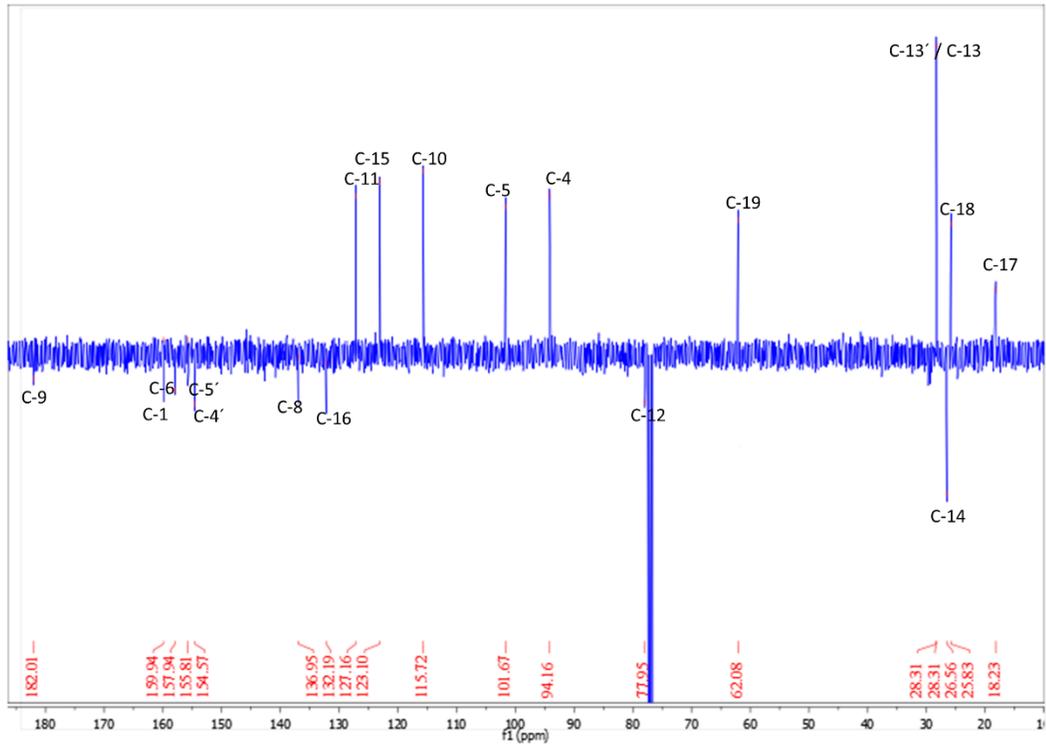


Figura 5-2. Espectro APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-1**.

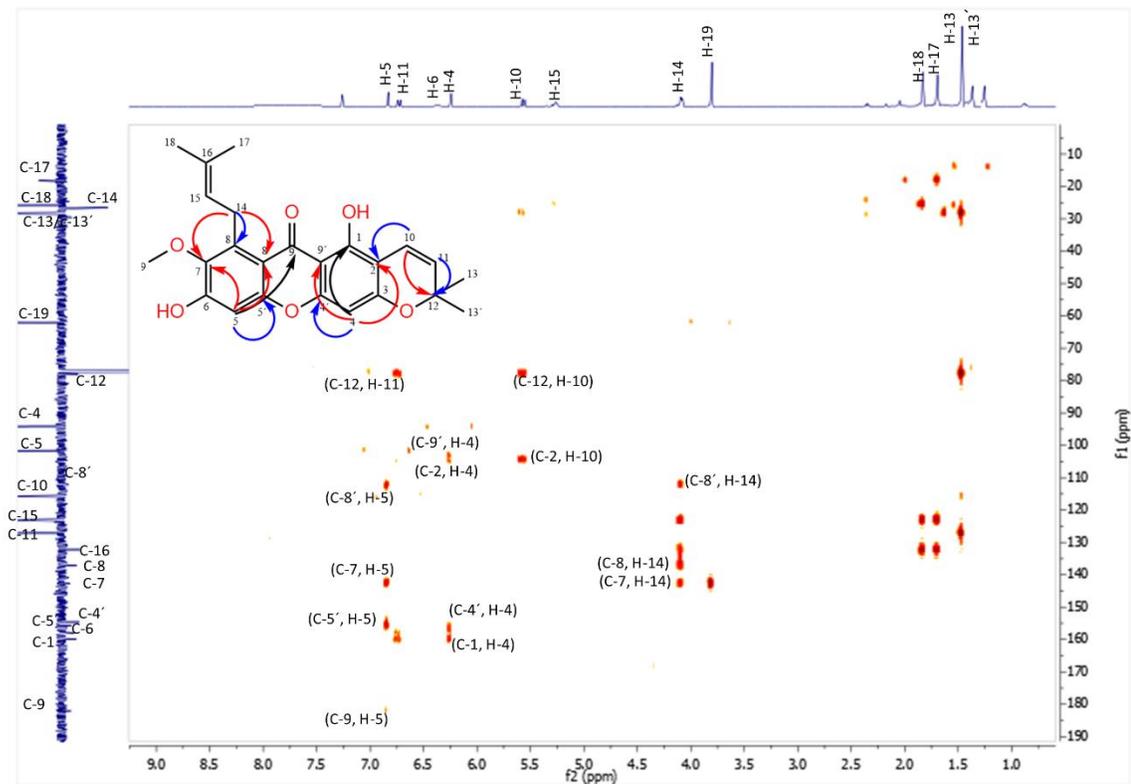
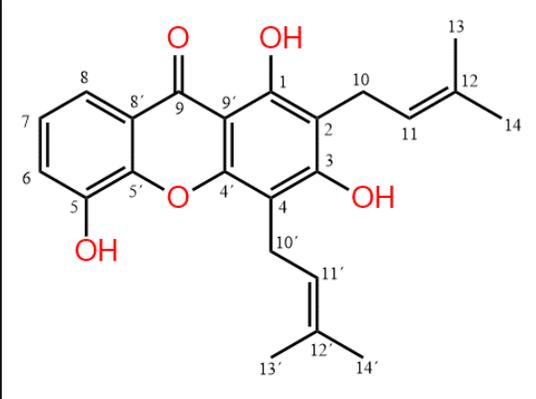
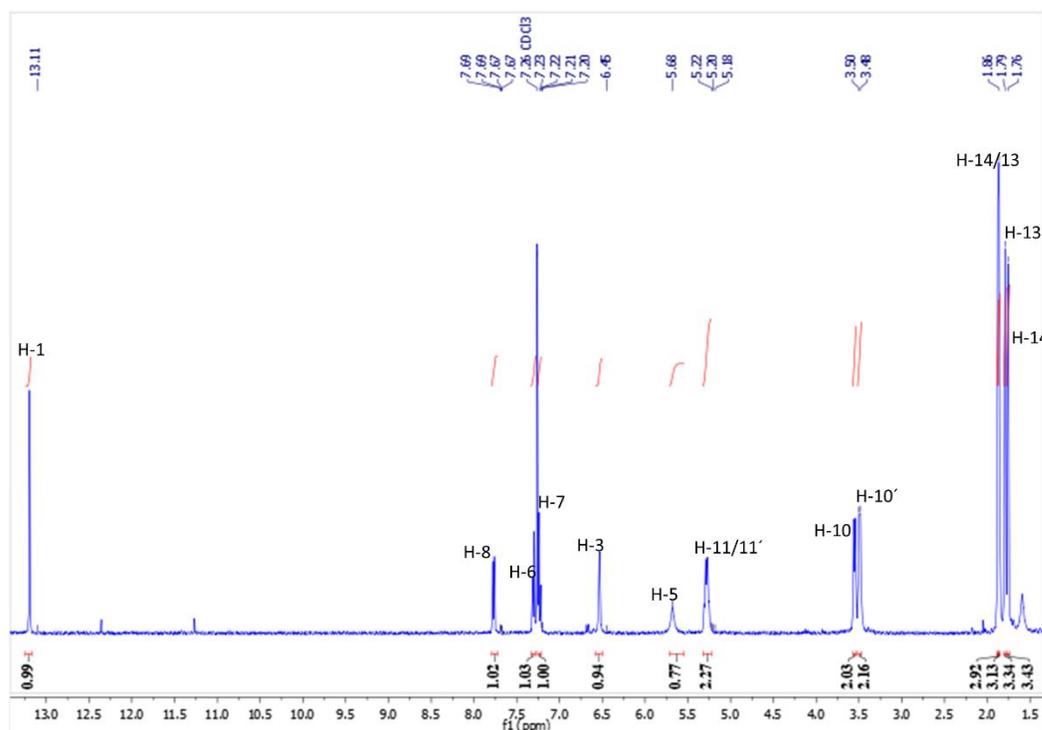


Figura 5-3. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-1**

**Tabla 5-2.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-2**

	<b>Nombre</b>	8-Desoxigartanina ( <b>Gm-2</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido verde
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>5</sub>
	<b>Peso molecular</b>	380.43 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	165-167°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 379.16292 / M = 380.16292
<p><b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm)</b> 13.19 (s, 1H, OH), 7.77 (dd, J = 7.9, 1.5 Hz, 1H, H-8), 7.30 (dd, J = 7.8, 1.6 Hz, 1H, H-7), 7.25 (s, 1H, H-6), 6.53 (s, 1H, OH), 5.68 (br s, 1H, OH), 5.32 – 5.23 (m, 2H, H-11, H-11'), 3.56 (d, J = 7.0 Hz, 2H, H-10), 3.49 (d, J = 7.2 Hz, 2H, H-10'), 1.88 (s, 3H, H-13'), 1.86 (s, 3H, H-14'), 1.79 (s, 3H, H-14), 1.76 (s, 3H, H-13).</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)</b> 180.9 (C-9), 160.7 (C-1), 158.5 (C-3), 152.2 (C-4'), 144.2 (C-5'), 144,1 (C-5), 136.0 (C-12'), 133.3 (C-12), 123.6 (C-7), 122.0 (C-11), 121.0 (C-11'), 120.7 (C-4), 119.5 (C-8), 116.7 (C-6), 108.9 (C-9'), 105.2 (C-2), 103.1 (C-9'), 25.7 (C-14), 25.4 (C-13), 21.9 (C-10'), 21.5 (C-10'), 17.7 (C-13').</p>		
<p>Referencia: (Ah-Reum, H et al., 2009)</p>		



**Figura 5-4.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-2**

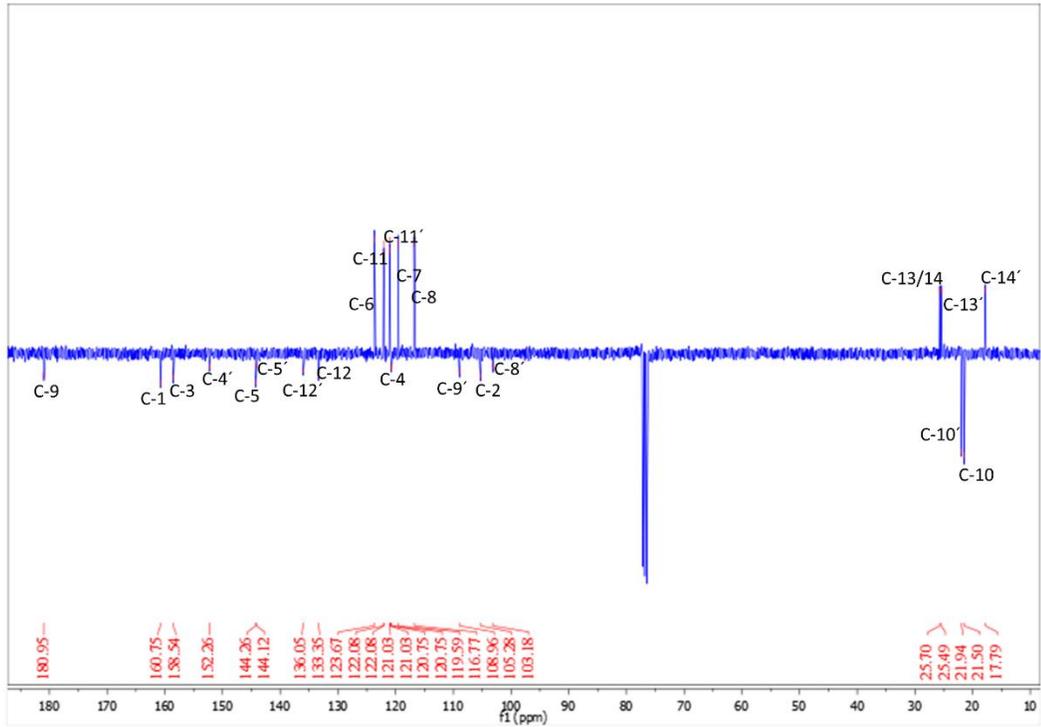


Figura 5-5. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de Gm-2

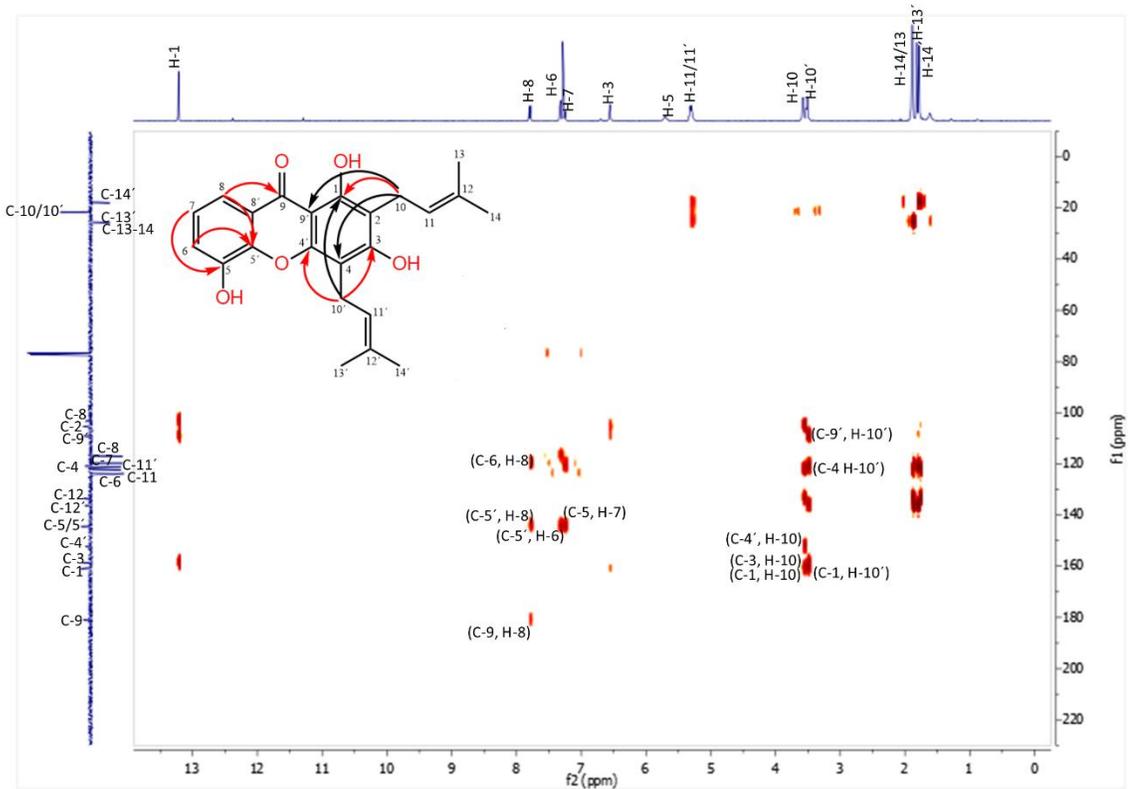
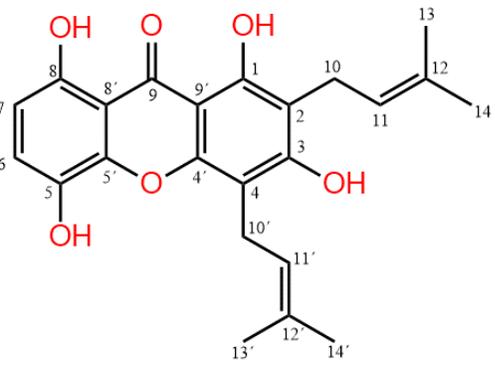
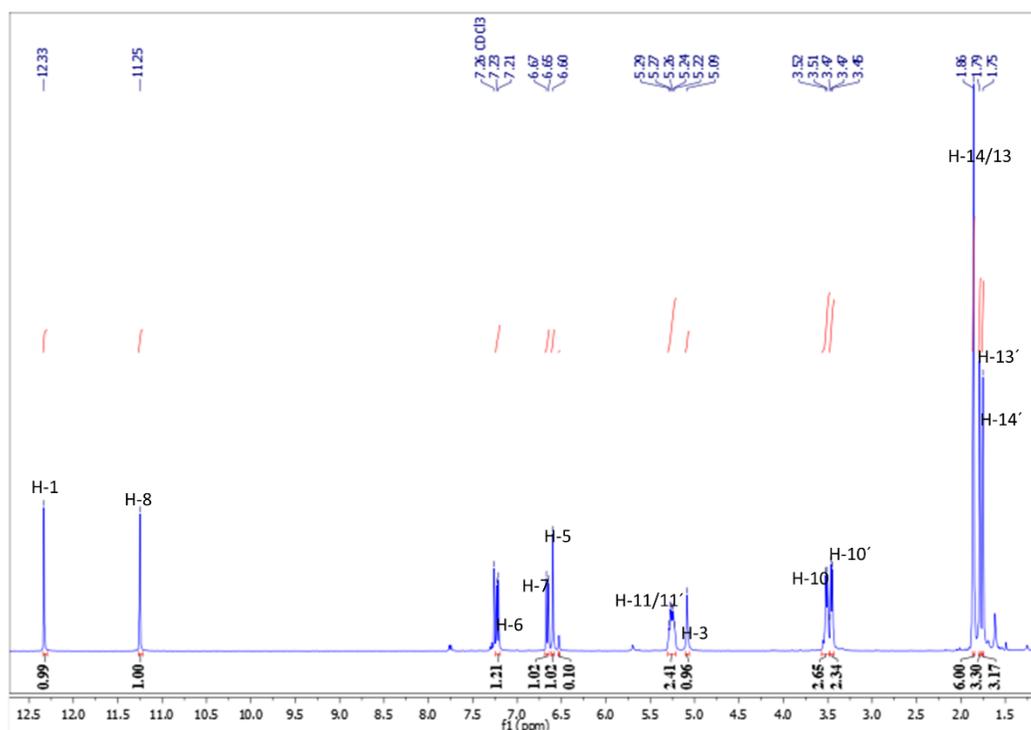


Figura 5-6. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de Gm-2

**Tabla 5-3.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-3**

	<b>Nombre</b>	Gartanina ( <b>Gm-3</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido verde
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>
	<b>Peso molecular</b>	396.43 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	166-168°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 395.15784 / M = 396.15784
<p><b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm)</b> 12.33 (s, 1H, OH), 11.25 (s, 1H, OH), 7.22 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-7), 6.66 (d, J = 8.9 Hz, 1H, H-6), 6.60 (s, 1H, OH), 5.30 – 5.21 (m, 2H, H-11, H-11'), 5.09 (s, 1H, OH), 3.50 (d, J = 7.2 Hz, 2H, H-10'), 3.46 (d, J = 7.2 Hz, 2H, H-10), 1.86 (s, 6H, H-13, H-14), 1.79 (s, 3H, H-13'), 1.75 (s, 3H, H-14').</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)</b> 184.8 (C=O), 161.7 (C-1), 158.2 (C-8), 153.9 (C-3), 152.6 (C-5), 142.9 (C-5'), 136.4 (C-12'), 135.8 (C-4'), 134.0 (C-12), 123.0 (C-7), 121.9 (C-11), 121.1 (C-11'), 109.9 (C-6), 109.6 (C-9'), 105.9 (C-8'), 102.3 (C-9'), 26.0 (C-13, C-14), 25.8 (C-14'), 22.1 (C-10), 21.7 (C-10'), 18.11 (C-13').</p>		
<p>Referencia: (Ah-Reum, H et al., 2009)</p>		



**Figura 5-7.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-3**

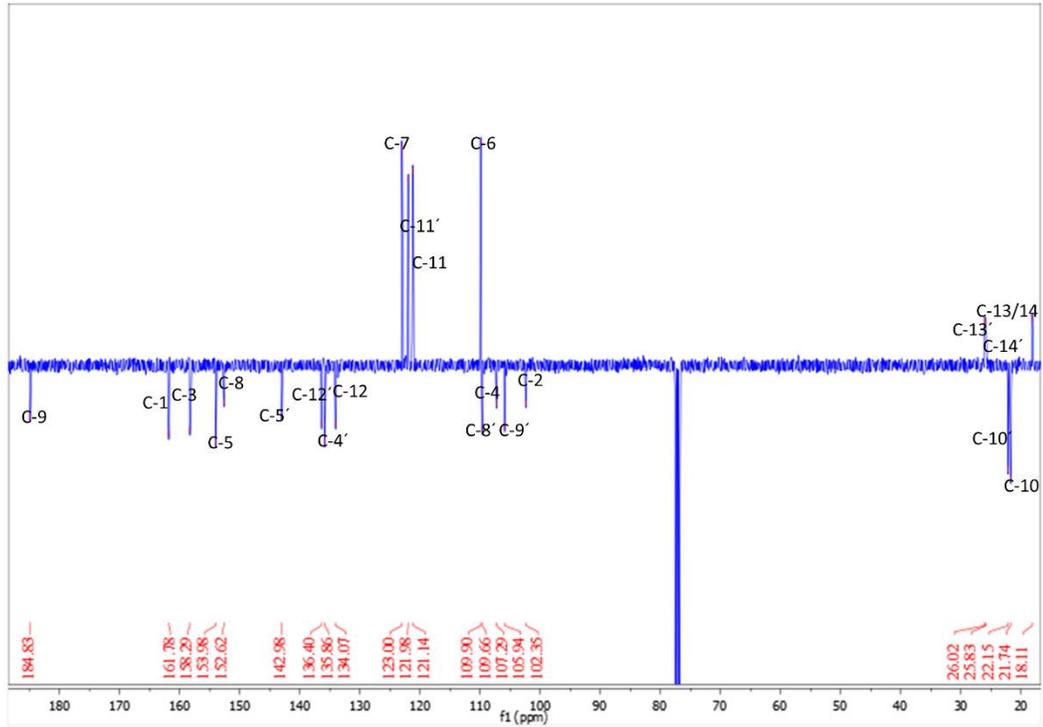


Figura 5-8. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-3**

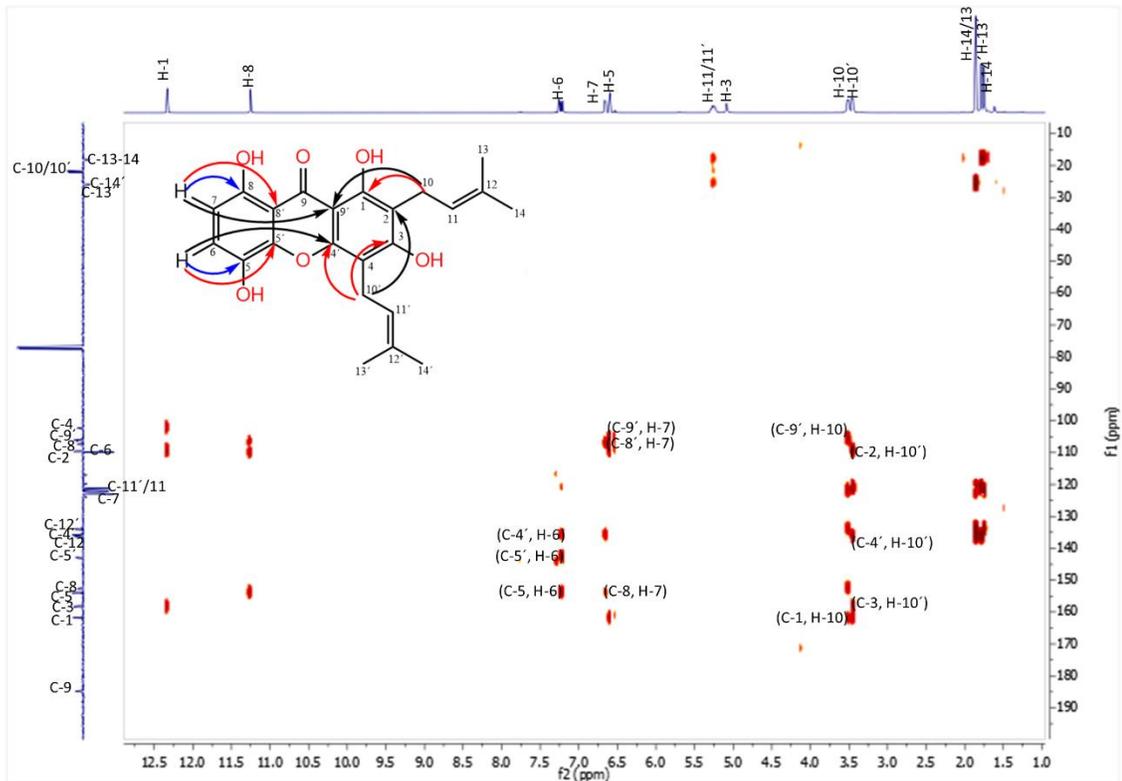
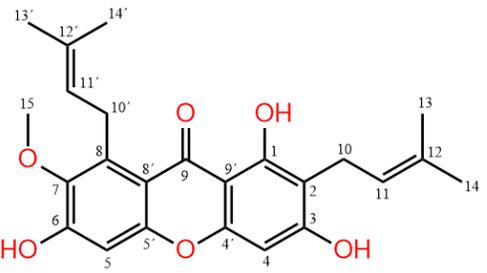
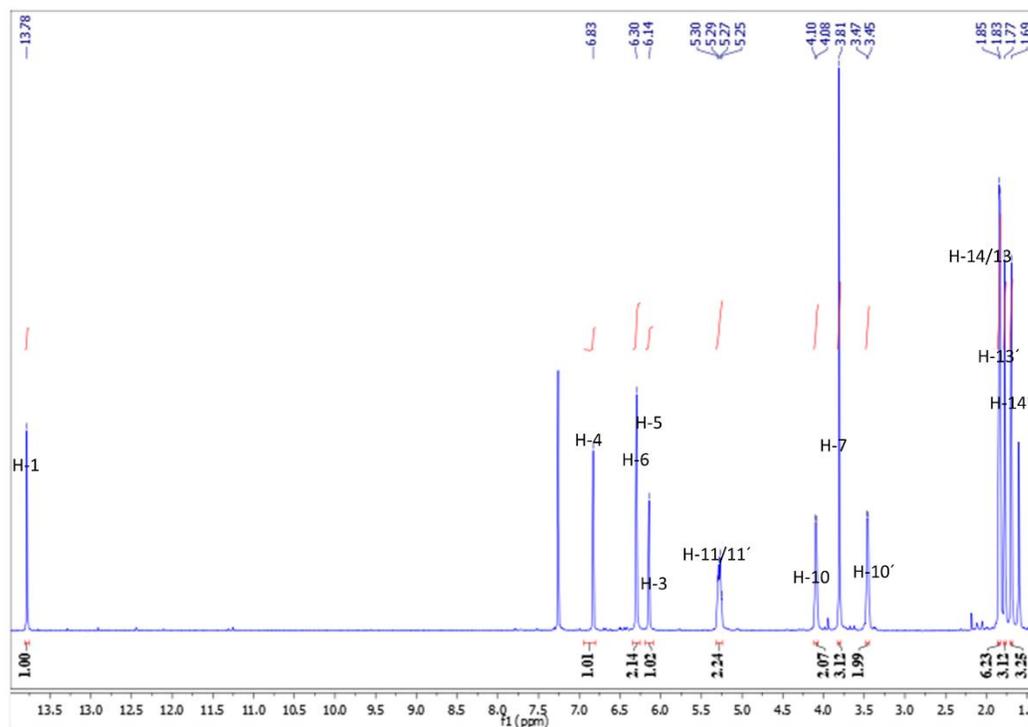


Figura 5-9. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-3**

**Tabla 5-4.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-4**

	<b>Nombre</b>	$\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-4</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{24}H_{26}O_6$
	<b>Peso molecular</b>	410.46 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	180-182°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 409.15789 / M = 410.15789
<p><b>RMN <math>^1H</math> (<math>CDCl_3</math>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 13.78 (s, 1H, OH), 6.83 (s, 1H, H-5), 6.30 (s, 2H, OH, H-4), 6.14 (s, 1H, OH), 5.37 – 5.21 (m, <math>J = 13.5, 5.4</math> Hz, 2H, H-11, H-11'), 4.09 (d, <math>J = 6.0</math> Hz, 1H, H-10'), 3.81 (s, 3H), 3.46 (d, <math>J = 7.2</math> Hz, 1H, H-10), 1.84 (d, <math>J = 4.8</math> Hz, 6H, H-13', H-14'), 1.77 (s, 3H, H-14), 1.69 (s, 3H, H-13).</p>		
<p><b>APT (100 MHz, <math>CDCl_3</math>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 181.8 (C-9), 161.4 (C-1), 160.4 (C-3), 155.6 (C-6), 154.9 (C-5'), 154.3 (C-4'), 142.4 (C-7), 136.8 (C-12'), 135.7 (C-12), 131.9 (8), 122.9 (C-11), 121.2 (C-11'), 112.0 (C-9'), 108.2 (C-2), 103.5 (C-8'), 101.3 (C-5), 93.1 (C-4), 61.9 (C-15), 26.4 (C-13', C-14'), 25.6 (C-14), 21.2 (C-10'), 18.0 (C-10), 17.75 (C-13).</p>		
Referencia: (Chen, L. et al., . 2008)		



**Figura 5-10.** Espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) de **Gm-4**

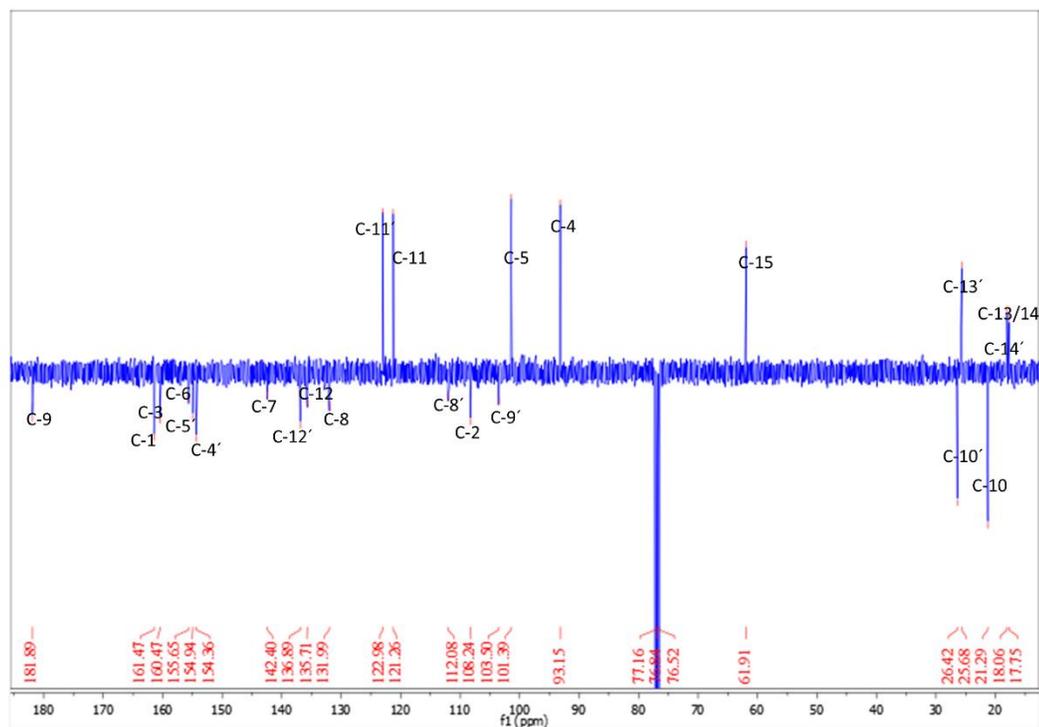


Figura 5-11. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-4**

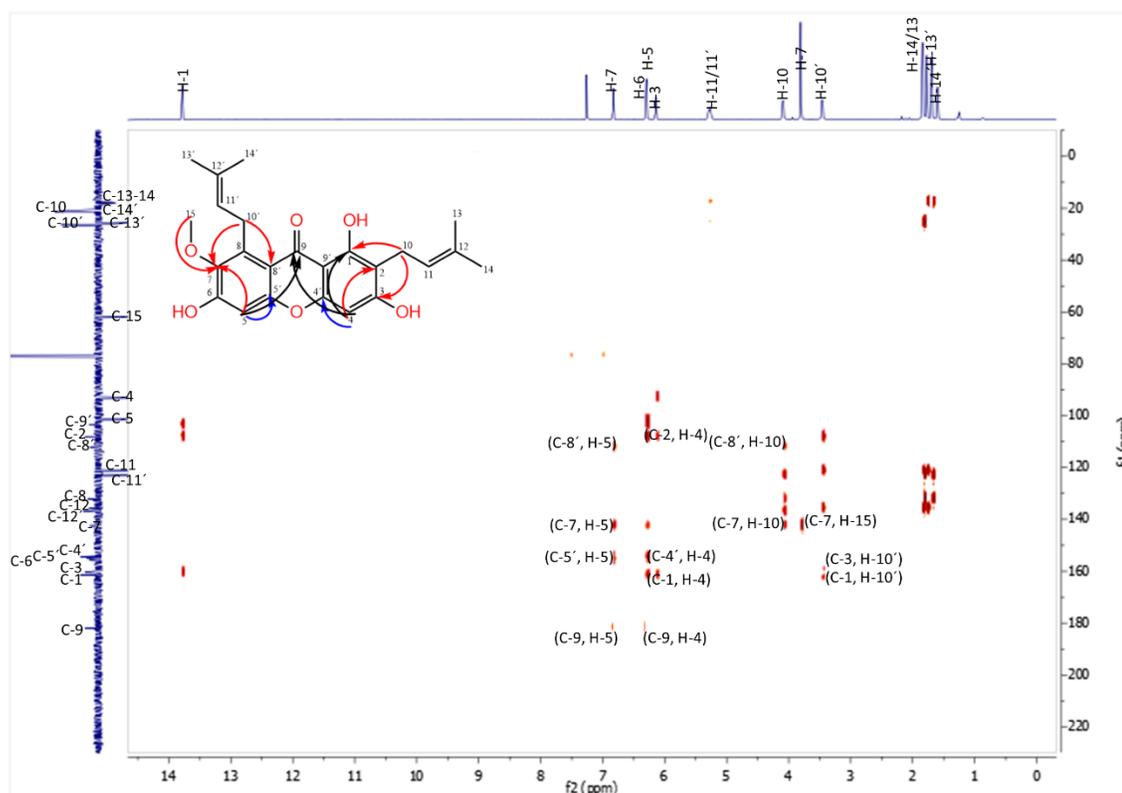
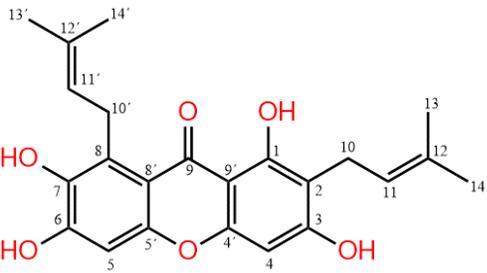
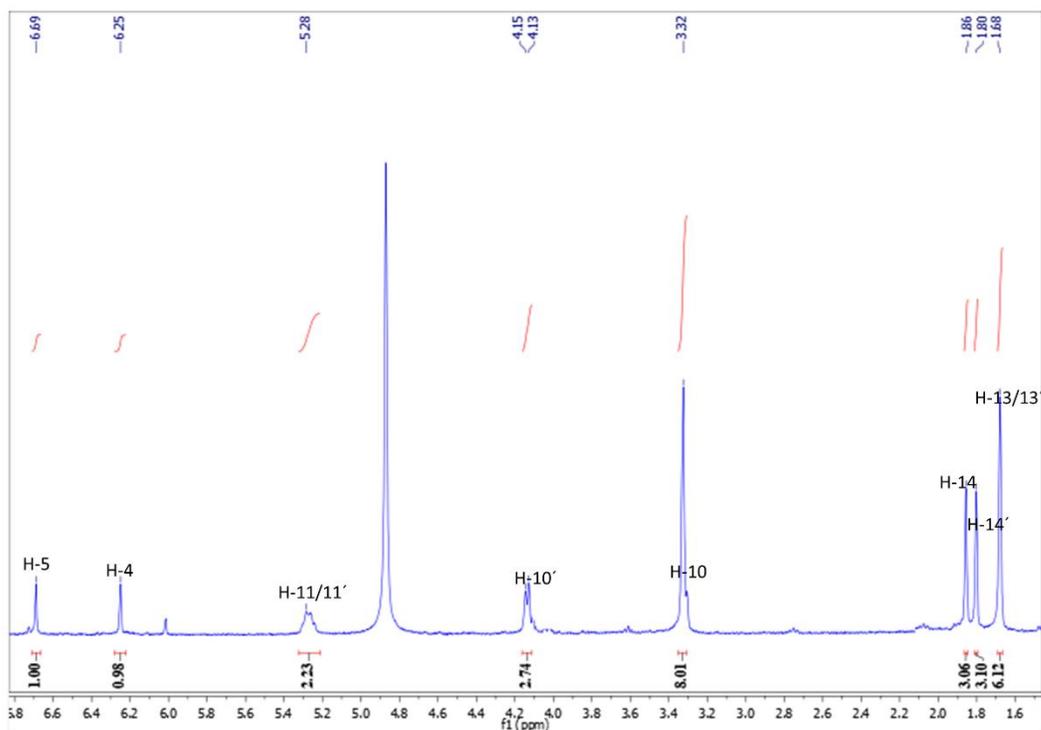


Figura 5-12. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-4**.

**Tabla 5-5.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-5**

	<b>Nombre</b>	$\gamma$ -mangotina ( <b>Gm-5</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{23}H_{24}O_6$
	<b>Peso molecular</b>	396.43 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	206-208°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 395.15784 / M = 396.15784
<p><b>RMN <math>^1H</math> (MeOD, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 6.69 (s, 1H, H-5), 6.25 (s, 1H, H-4), 5.28 (s, 2H, H-10, H-10'), 4.14-4.04 (d, <math>J = 6.9</math> Hz, 4H, H-10, H-10'), 3.31 (s, 2H, H-10), 1.86 (s, 3H, H-13'), 1.80 (s, 3H, H-14'), 1.68 (s, 6H, H-14, H-13).</p>		
<p><b>APT (100 MHz, MeOD): <math>\delta</math> (ppm)</b> 182.1 (C-9), 161.9 (C-1), 160.1 (C-3), 154.8 (C-7), 152.6 (C-6), 151.8 (C-4'), 140.6 (C-5'), 130.3 (C-8), 130.2 (C-2), 128.1 (C-12 y C-12'), 123.4 (C-11'), 122.5 (C-11), 109.7 (C-9'), 102.4 (C-8'), 99.5 (C-5), 91.5 (C-4), 25.2 (C-13'), 24.6 (C-14'), 24.5 (C-10'), 20.8 (C-10), 16.9 (C-14), 16.5 (C-13).</p>		
Referencia: (Chen, L. et al., . 2008)		



**Figura 5-13.** Espectro de RMN  $^1H$  (MeOD, 400 MHz) de **Gm-5**

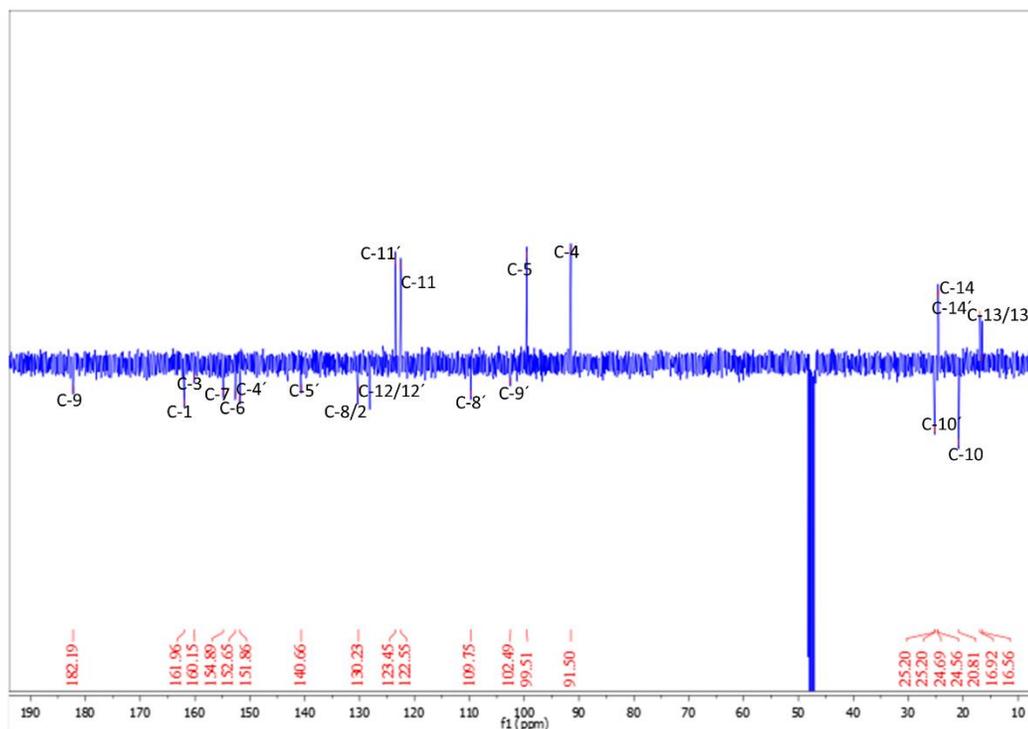


Figura 5-14. Espectro de APT (MeOD, 100 MHz) de **Gm-5**

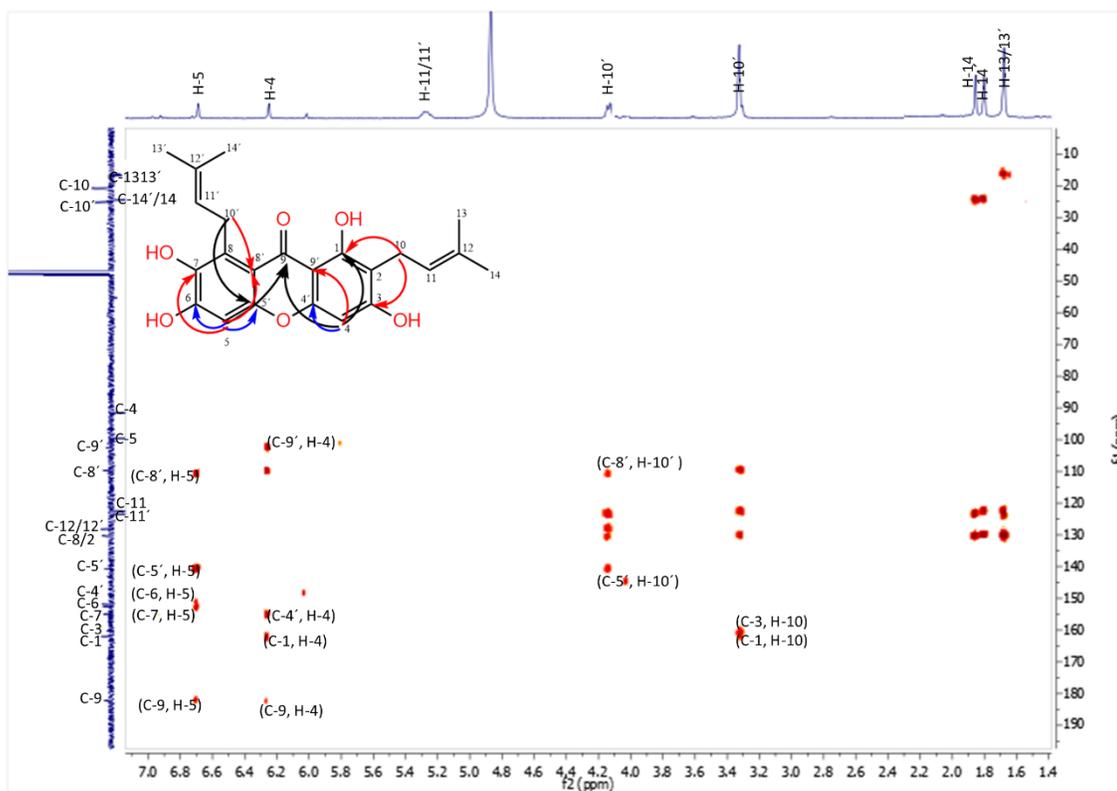


Figura 5-15. Espectro HMBC (MeOD) de **Gm-5**.

## 5.2 Anexo de derivados de síntesis

**Datos espectroscópicos y constantes físicas de los compuestos:**

Fuscaxantona C (**Gm-6**)

3-isomangostina (**Gm-7**)

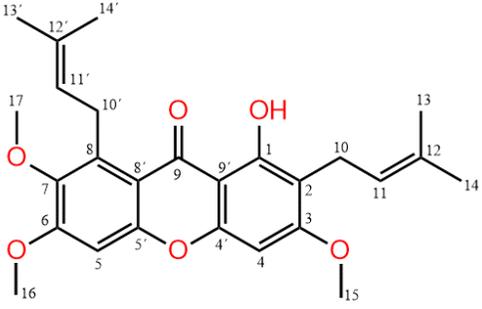
BR-xantona A (**Gm-8**)

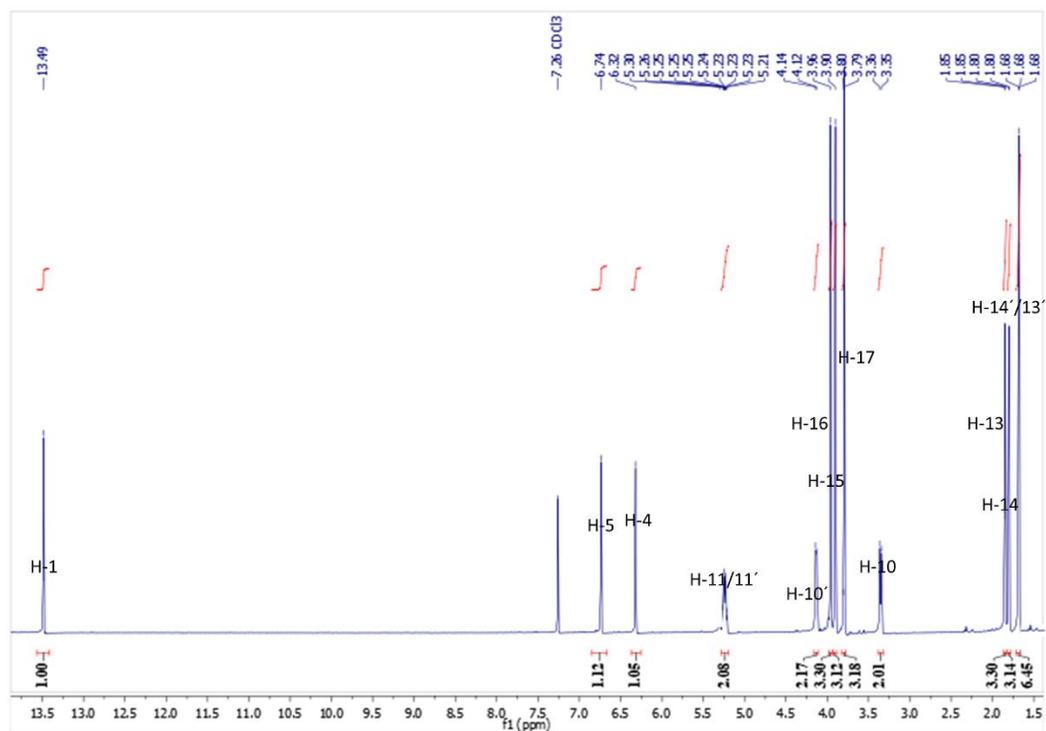
Tetrahidro- $\alpha$ -mangostina (**Gm-9**)

3,6-di-pentoxi- $\alpha$ -mangostina (**Gm-10**)

3,6-di-metoxi-4-metil- $\alpha$ -mangostina (**Gm-11**)

**Tabla 5-6.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-6**.

	<b>Nombre</b>	Fuscaxantona C ( <b>Gm-6</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>26</sub> H <sub>30</sub> O <sub>6</sub>
	<b>Peso molecular</b>	438.52 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	118-120°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 437.20479 / M = 438.20479
<p><b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm)</b> 13.71 (s, 1H, OH), 6.72 (d, J = 11.1 Hz, 1H, H-5'), 6.32 (s, 1H, H-4), 5.32 – 5.15 (m, 2H, H-11', H-11), 4.16 (d, J = 6.6 Hz, 2H, H-10'), 3.95 (s, 3H, H-15), 3.90 (s, 3H, H-18), 3.79 (s, 3H, H-17), 3.35 (d, J = 7.1 Hz, 2H, H-10), 1.85 (d, J = 18.9 Hz, 6H, H-13, H-14), 1.68 (s, 6H, H-13' - H-14').</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)</b> 182.0 (C-9), 163.4 (C-1), 159.8 (C-3), 158.0 (C-6), 155.4 (C-5'), 155.3 (C-4'), 144.0 (C-7), 137.3 (C-8), 131.8 (C-12'), 131.2 (C-12), 123.2 (C-11), 122.3 (C-11'), 112.1 (C-2), 111.5 (C-8'), 104.0 (C-9'), 98.2 (C-5), 88.6 (C-4), 60.9 (C-17), 56.0 (C-16), 55.8 (C-15), 26.1 (C-14), 25.9 (C-13), 25.9 (C-10'), 21.3 (C-10'), 18.2 (C-14'), 17.8 (C-13').</p>		
<b>Referencia: (Ito, C et al., 2003)</b>		

**Figura 5-16.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-6**.

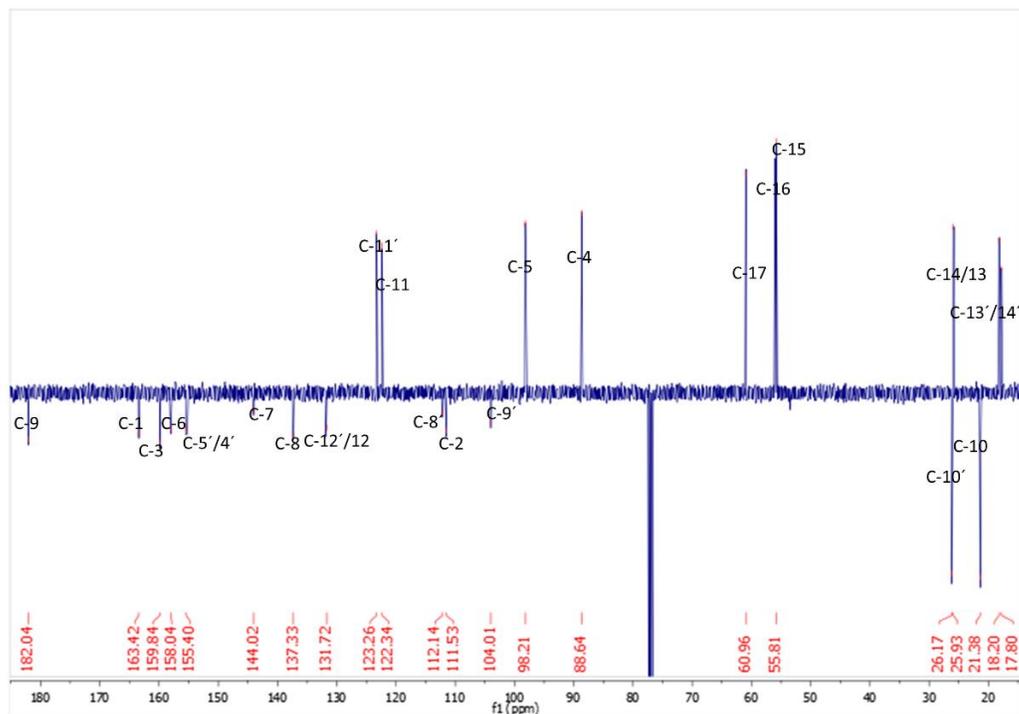


Figura 5-17. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-6**.

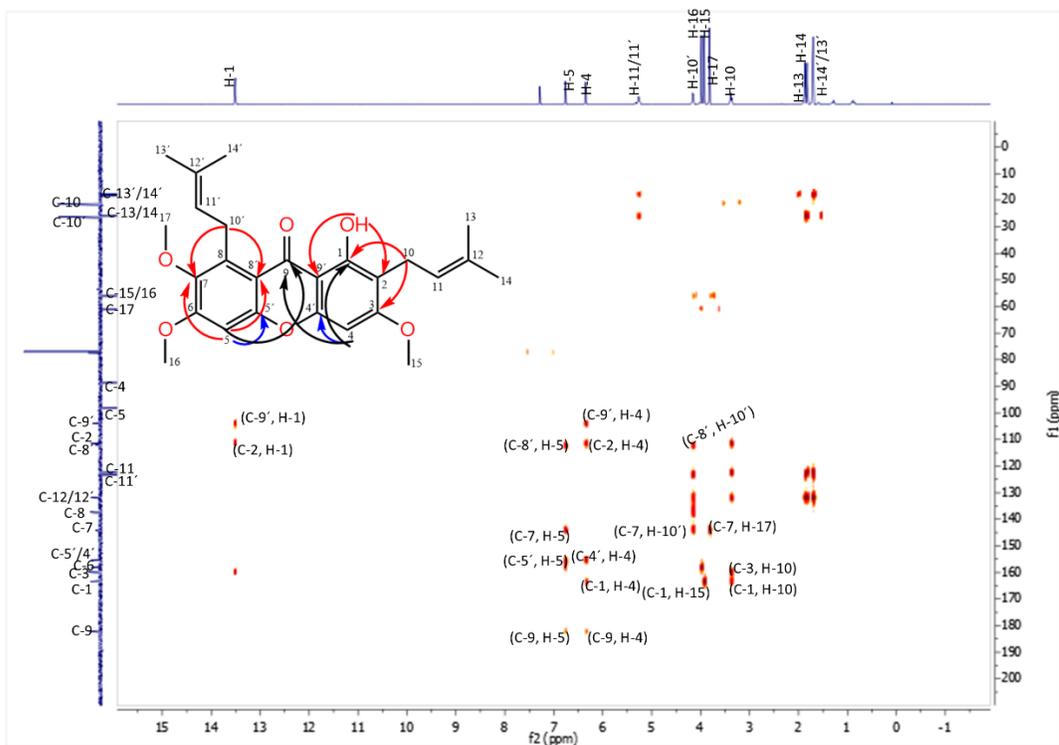
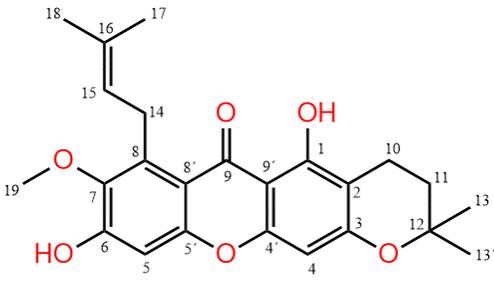
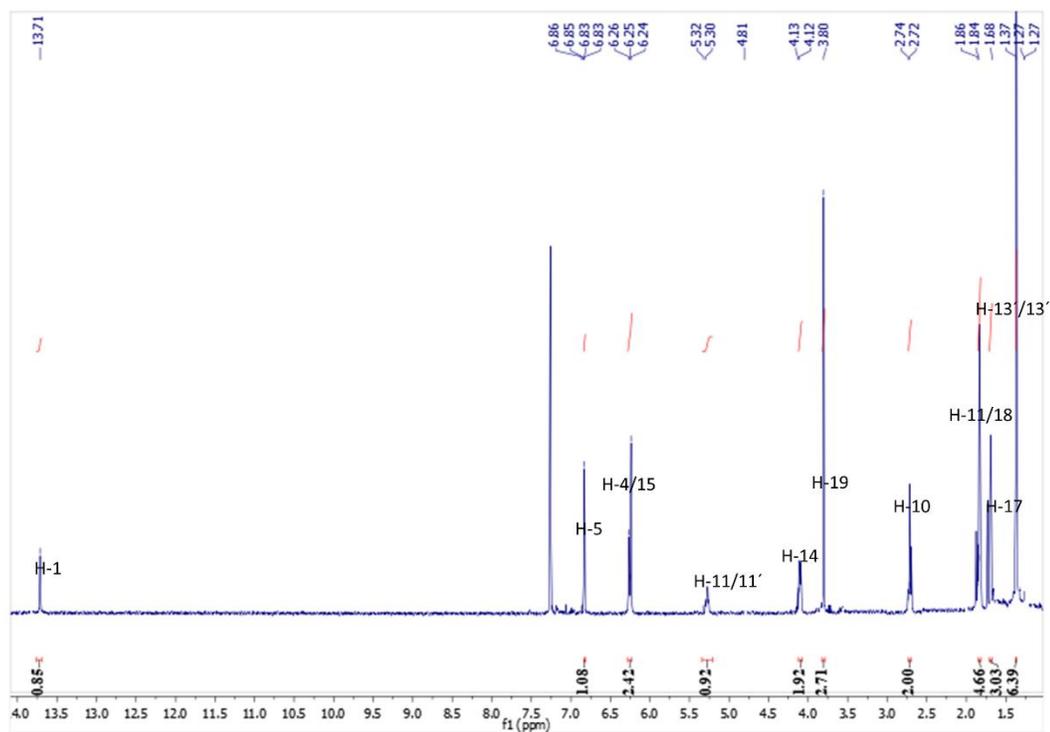


Figura 5-18. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-6**.

**Tabla 5-7.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-7**.

	<b>Nombre</b>	3-isomangostina ( <b>Gm-7</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo palido
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>24</sub> H <sub>26</sub> O <sub>6</sub>
	<b>Peso molecular</b>	410.47 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	165-167°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 409.15789 / M = 410.15789
<p><b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm)</b> 13.71 (s, 1H, OH), 6.83 (s, 1H, H-5'), 6.27 – 6.23 (m, 2H, H-4, OH), 5.29 (d, J = 10.5 Hz, 1H, H-11), 4.12 (d, J = 6.2 Hz, 1H, H-10), 3.80 (s, 3H, H-15), 2.73 (d, J = 6.8 Hz, 2H, H-18), 1.85 (d, J = 6.4 Hz, 5H, H-17, H-19), 1.68 (s, 3H, H-20), 1.37 (s, 6H, H-13, H-14).</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)</b> 182.0 (C-9), 160.7 (C-1), 160.5 (C-6), 154.7 (C-5'), 154.4 (C-4'), 145.8 (C-3), 142.5 (C-7), 136.9 (C-8), 132.1 (C-16), 123.2 (C-15), 109.9 (C-8'), 103.5 (C-2), 102.5 (C-9'), 101.6 (C-5), 94.0 (C-4), 76.0 (C-12), 62.0 (C-19), 31.9 (C-11), 26.7 (C-13/13'), 26.5 (C-14), 25.8 (C-18), 18.2 (C-17), 16.1 (C-10).</p>		
<b>Referencia: (Ah-Reum, H et al., 2009)</b>		

**Figura 5-19.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-7**.

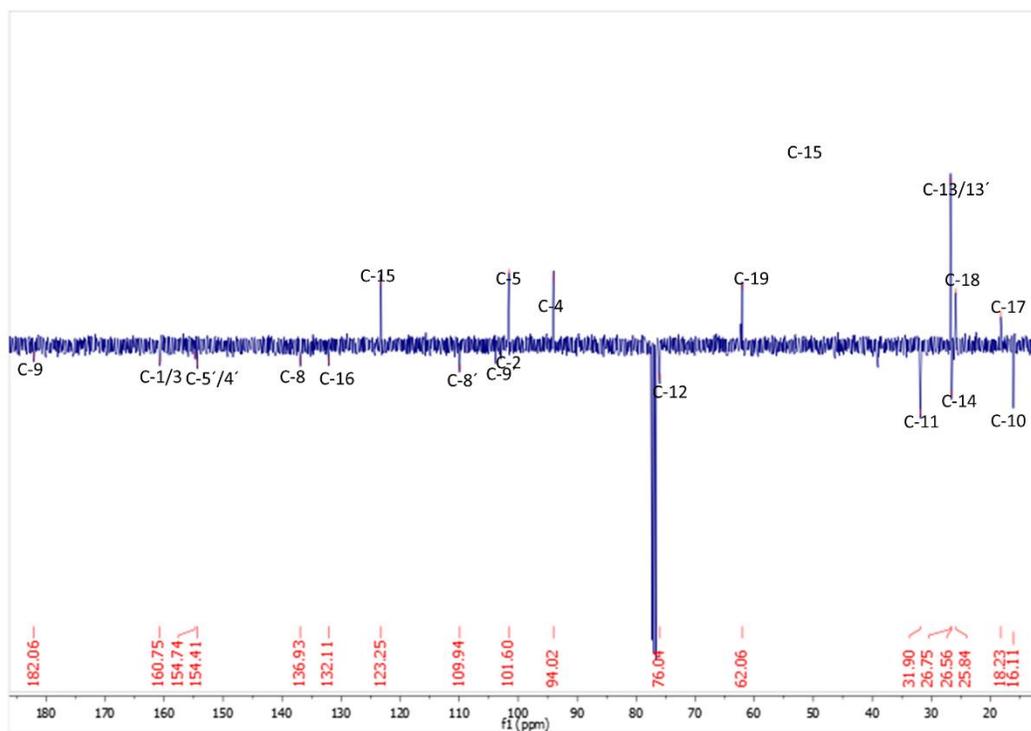


Figura 5-20. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-7**.

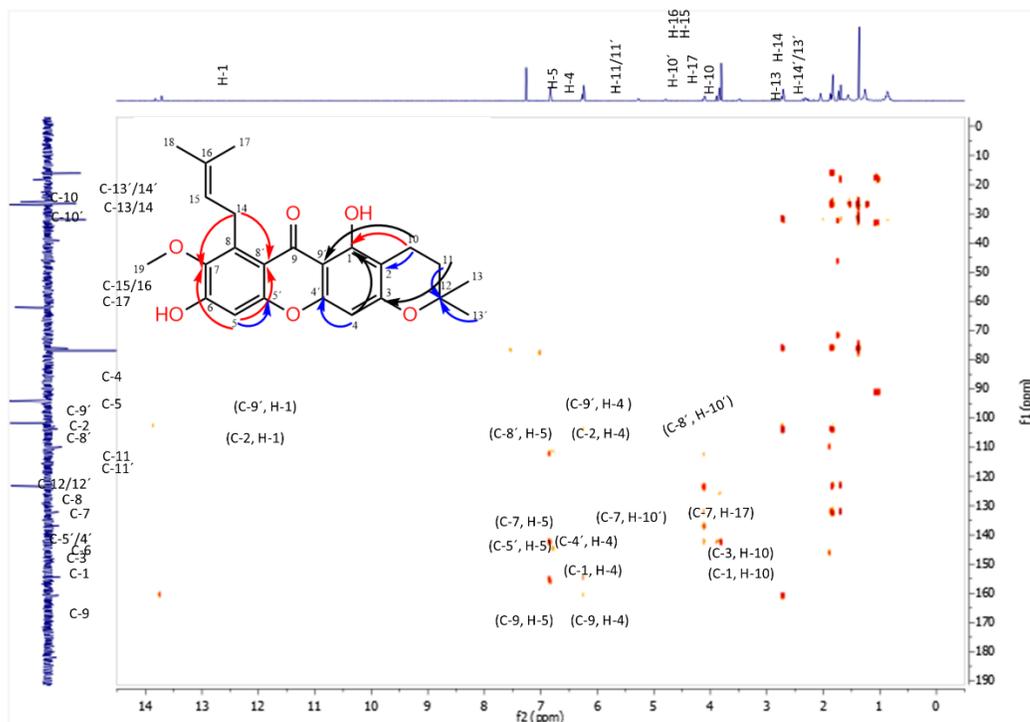
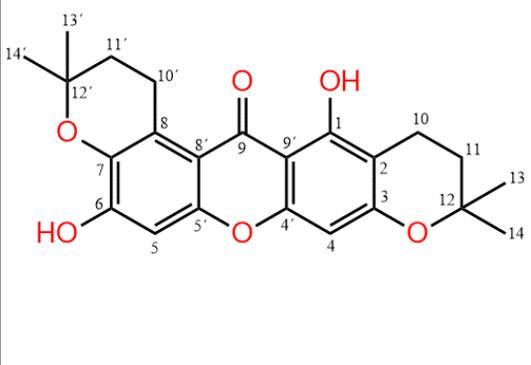
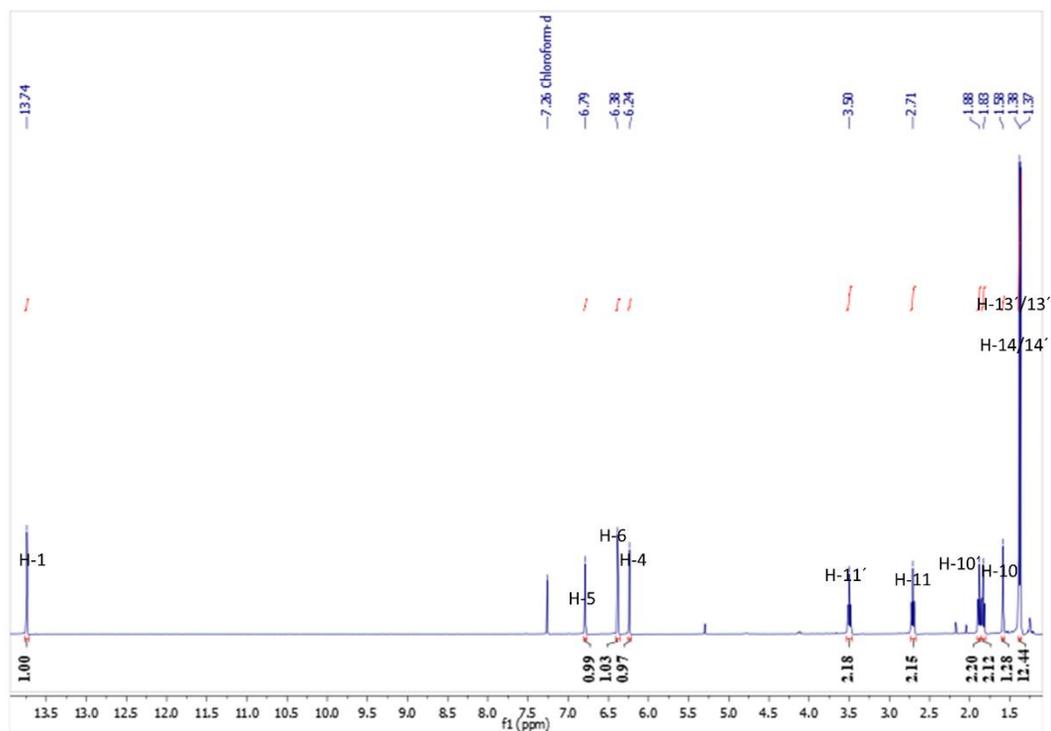


Figura 5-21. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-7**.

**Tabla 5-8.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-8**.

	<b>Nombre</b>	BR-xantona A ( <b>Gm-8</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido blanco
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>23</sub> H <sub>24</sub> O <sub>6</sub>
	<b>Peso molecular</b>	396,44 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	160-162 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 395.15784 / M = 396.15784
<b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ (ppm)</b> 13.74 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.38 (s, 1H), 6.24 (s, 1H), 3.50 (s, 2H), 2.71 (s, 2H), 1.88 (s, 2H), 1.83 (s, 2H), 1.58 (s, 1H), 1.38 (d, J = 6.7 Hz, 12H)		
<b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ (ppm)</b> 182.6 (C=O), 160.5 (C-1), 160.4 (C-6), 154.9 (C-4'), 153.2 (C-5'), 151.5 (C-3), 147.4 (C-4), 137.7 (C-7), 121.3 (C-8), 111.2 (C-8'), 103.5 (C-9'), 103.0 (C-2), 100.5 (C-5), 94.0 (C-4), 75.9 (C-12'), 75.5 (C-12), 32.8 (C-11), 31.9 (C-11'), 26.7 (C-13 y 14), 26.4 (C-13' y 14'), 22.3 (C-10'), 16.0 (C-10).		
<b>Referencia: (Balasubramanian, K., et al., 1988)</b>		

**Figura 5-22.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-8**.

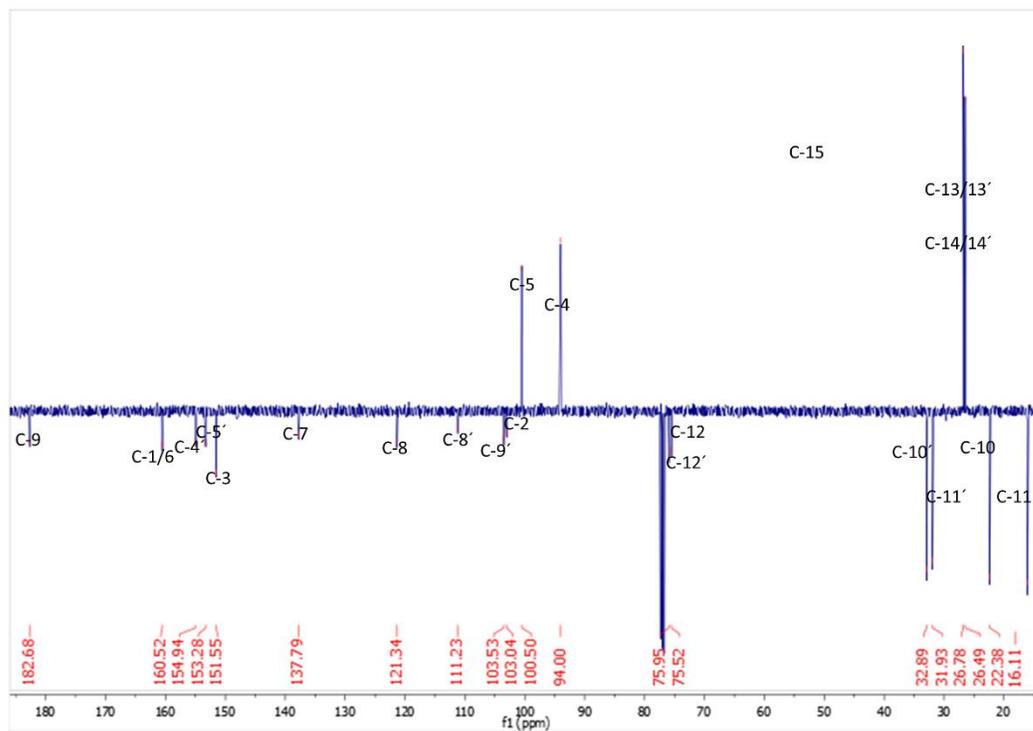


Figura 5-23. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-8**.

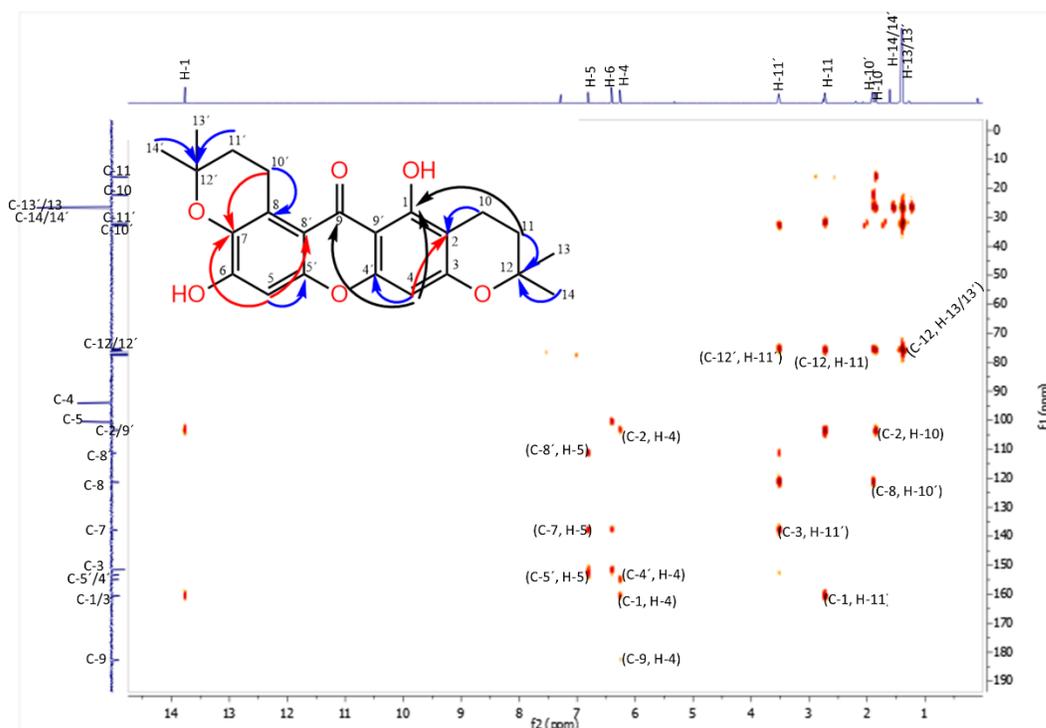
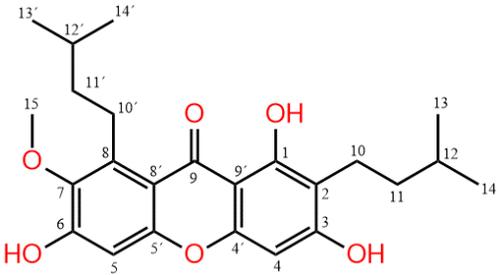
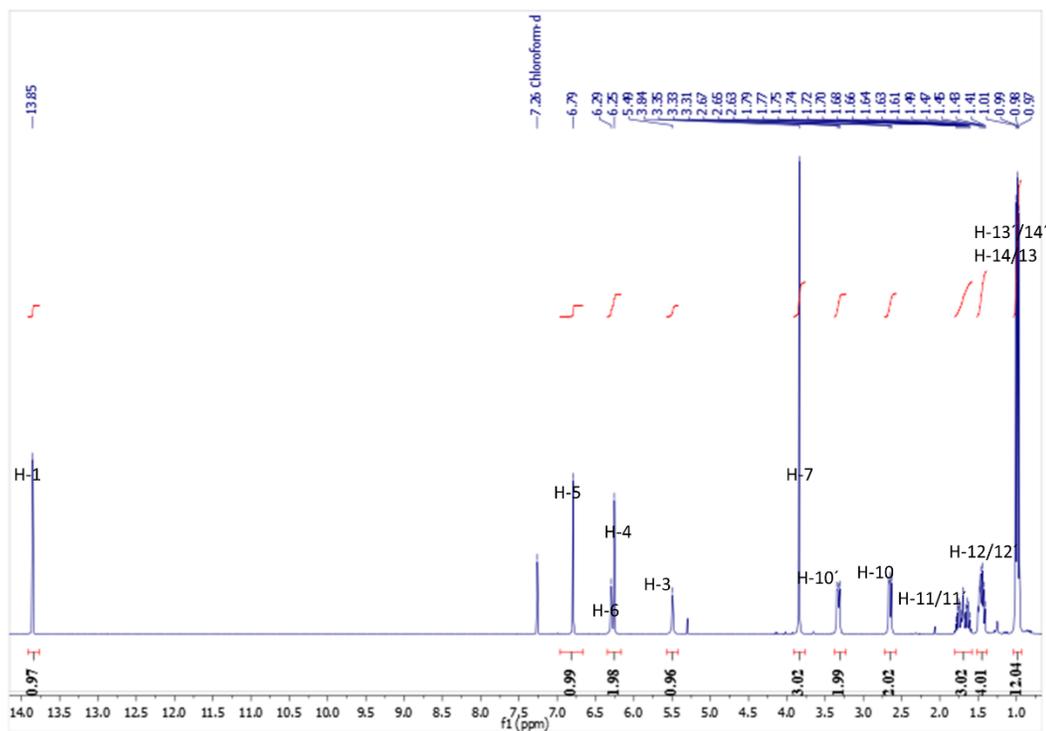


Figura 5-24. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-8**.

**Tabla 5-9.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-9**.

	<b>Nombre</b>	Tetrahydro- $\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-9</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido Blanco
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{24}H_{30}O_6$
	<b>Peso molecular</b>	414.50 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	85-87°C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 413.20479 / M = 414.20479
<b>RMN <math>^1H</math> (<math>CDCl_3</math>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 13.84 (s, 1H, OH), 6.78 (s, 1H, H-5'), 6.40 (s, 1H, OH), 6.26 (s, 1H, H-4), 5.98 (s, 1H, OH), 3.83 (s, 3H, H-15), 3.36 – 3.24 (m, 2H, H-10'), 2.69 – 2.59 (m, 2H, H-10), 1.79 – 1.54 (m, 2H, H-12', H-12), 1.49 – 1.37 (m, 4H, H-11, H-11'), 1.03 – 0.91 (m, 12H, H-13, H-14, H-13', H-14').		
<b>APT (100 MHz, <math>CDCl_3</math>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 182.0 (C-9), 161.1 (C-1), 159.9 (C-3), 155.8 (C-6), 154.3 (C-4'), 154.3 (C-5'), 142.4 (C-7), 139.3 (C-8), 112.2 (C-8'), 110.9 (C-2), 103.7 (C-9'), 101.2 (C-5), 92.6 (C-4), 62.3 (C-15), 40.2 (C-11'), 37.9 (C-11), 28.8 (C-12), 28.2 (C-12'), 25.5 (C-10'), 22.5 (C-13 y 14), 22.5 (C-13' y 14'), 20.1 (C-10).		
<b>Referencia: (Sudta, P., et al., 2013)</b>		

**Figura 5-25.** Espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) de **Gm-9**.

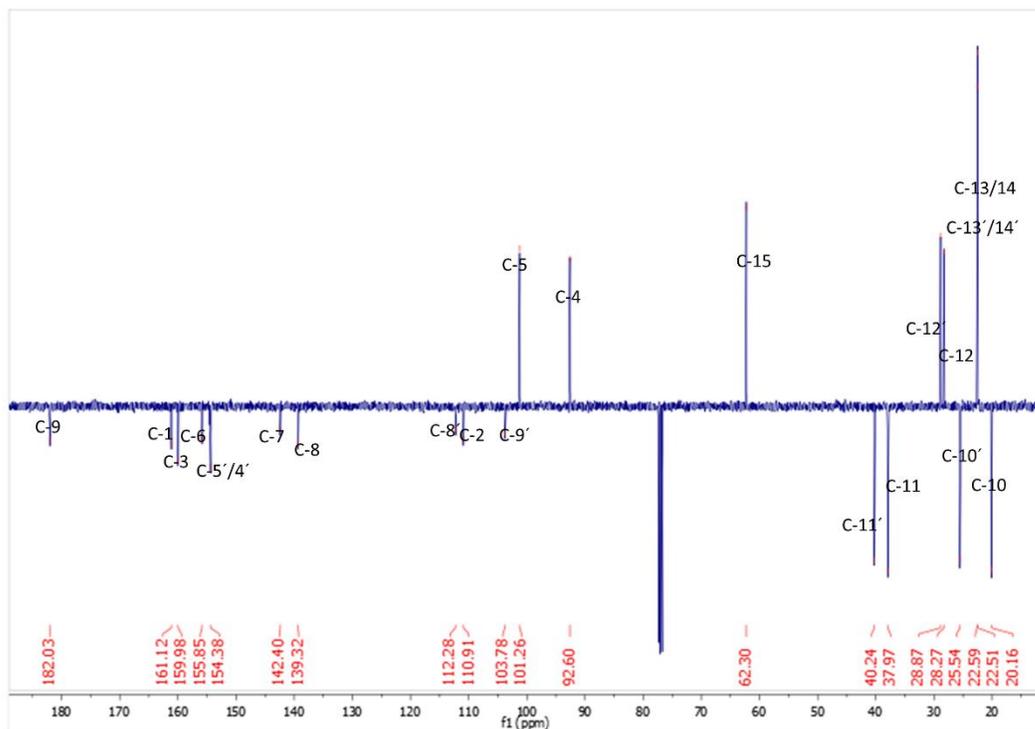


Figura 5-26. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-9**.

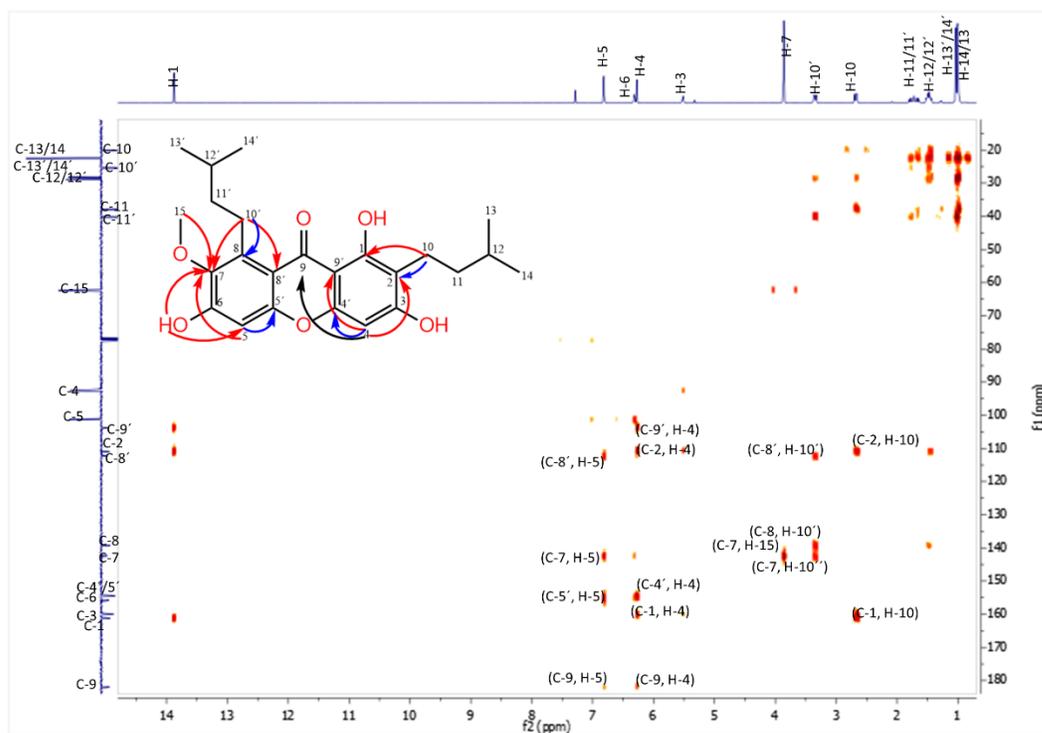
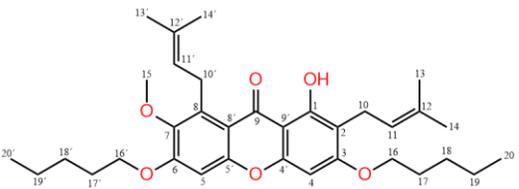
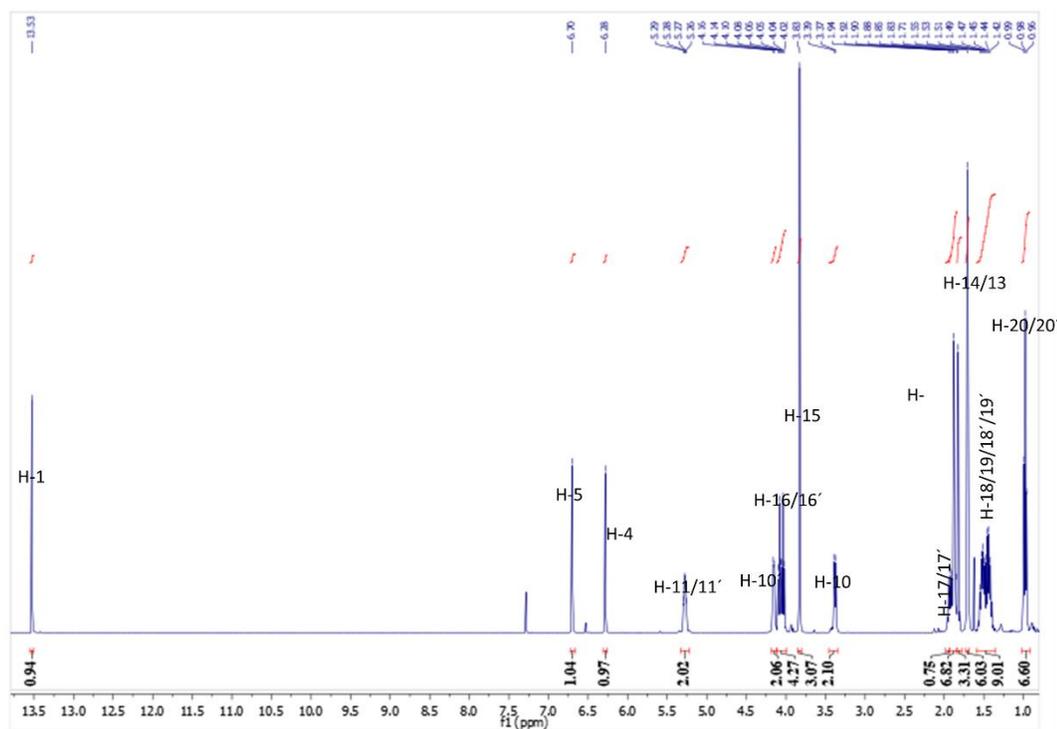


Figura 5-27. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-9**.

**Tabla 5-10.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-10**.

	<b>Nombre</b>	3,6-di-pentoxi- $\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-10</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	C <sub>34</sub> H <sub>46</sub> O <sub>6</sub>
	<b>Peso molecular</b>	550.74 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	176-178 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 549.32999 / M = 550.32999
	<b>RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 13.53 (s, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 5.28 (q, J = 4.4 Hz, 2H), 4.15 (d, J = 6.5 Hz, 2H), 4.06 (dt, J = 17.2, 6.5 Hz, 4H), 3.83 (s, 3H), 3.38 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 1.93 – 1.84 (d, 6H), 1.83 (s, 3H), 1.71 (s, 6H), 1.48 (ddd, J = 29.3, 15.0, 7.5 Hz, 10H), 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 6H).	
<b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 181.9 (C-9), 162.8 (C-1), 159.7 (C-3), 157.4 (C-6), 155.2 (C-4' y 5), 144.0 (C-7), 137.5 (C-8), 131.5 (C-12), 131.2 (C-12'), 123.4 (C-11), 122.5 (C-11'), 111.8 (C-8'), 111.4 (C-2), 103.8 (C-2), 98.6 (C-5'), 89.2 (C-4), 68.8 (C-16), 68.4 (C-16'), 60.7 (C-15), 28.6 (C-18), 28.6 (C-18'), 28.2 (C-19), 28.2 (C-14'), 28.2 (C-13'), 26.2 (C-17), 26.1 (C-17'), 25.9 (C-14), 25.8 (C-13), 18.1 (C-14), 17.8 (C-13), 14.0 (C-20/20').		
<b>Referencia: (Ha, L., et al., 2009)</b>		

**Figura 5-28.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-10**.

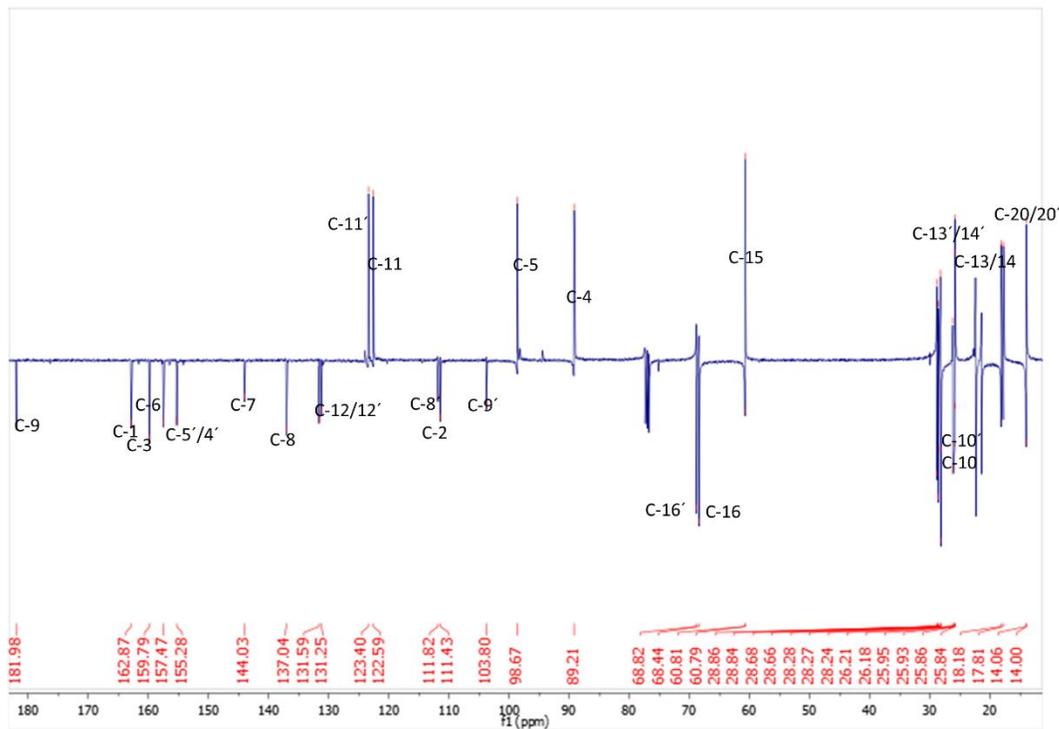


Figura 5-29. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de Gm-10.

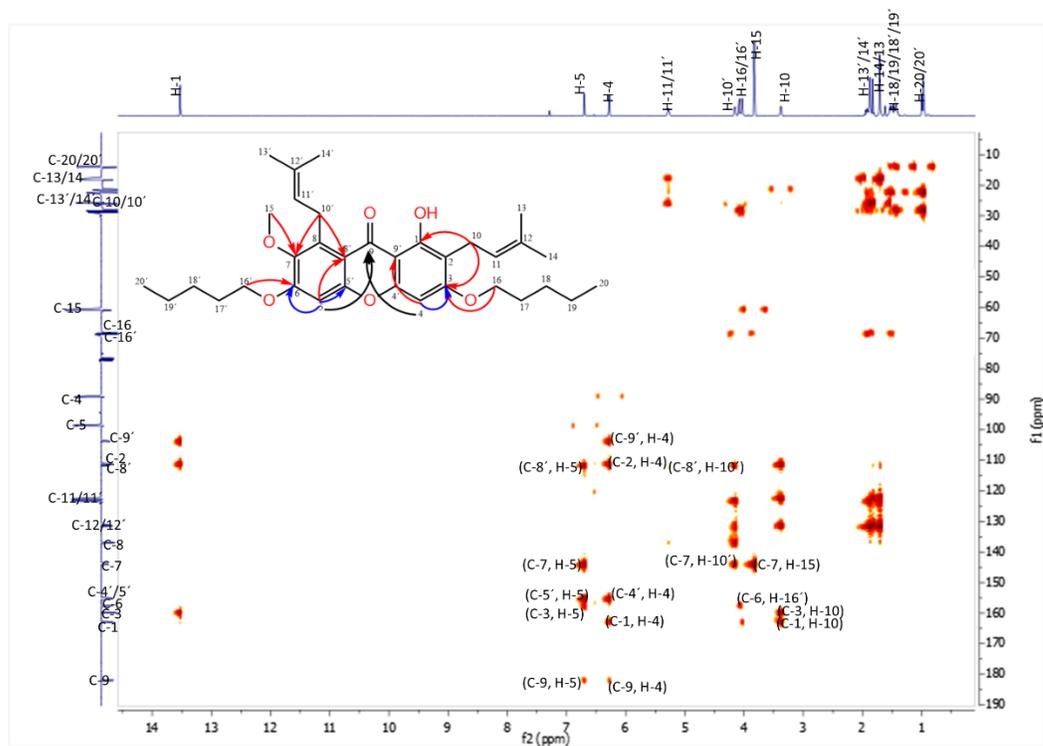
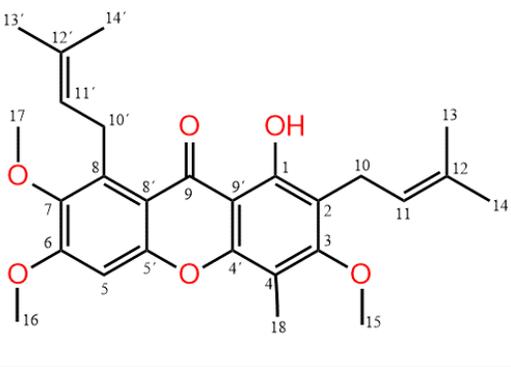
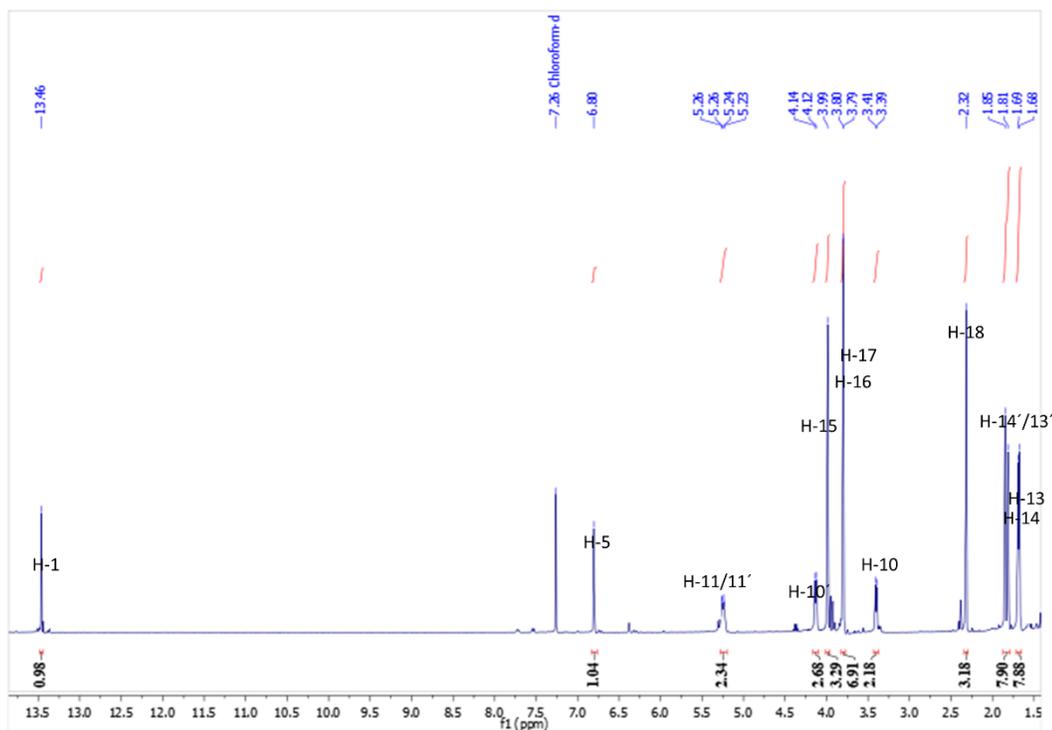


Figura 5-30. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de Gm-10.

**Tabla 5-11.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-11**.

	<b>Nombre</b>	3,6-di-metoxi-4-metil- $\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-11</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{27}H_{33}O_6$
	<b>Peso molecular</b>	452,49 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	90-92 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 451,22044 / M = 452,22044
<b>RMN <math>^1H</math> (<math>CDCl_3</math>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 13.46 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 5.25 - 5.20 (m, 2H), 4.13 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 3.99 (s, 3H), 3.80 (d, J = 2.9 Hz, 6H), 3.40 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 2.32 (s, 3H), 1.85 (d, J = 1.3 Hz, 4H), 1.81 (d, J = 1.3 Hz, 6H).		
<b>APT (100 MHz, <math>CDCl_3</math>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 182.8 (C-9), 162.8 (C-1), 158.6 (C-3), 158.3 (C-6), 155.6 (C-5'), 152.3 (C-4'), 144.0 (C-7), 137.3 (8), 131.8 (C-12'), 131.6 (C-12), 123.1 (C-11'), 122.8 (C-11), 116.6 (C-2), 111.8 (C-8'), 107.6 (C-4), 106.2 (C-9'), 98.3 (C-5), 61.0 (C-16), 60.9 (C-17), 56.0 (C-15), 26.2 (C-10), 25.9 (C-13), C-14), 22.4 (C-10'), 18.2 (C-14), 17.9 (C-13), 8.5 (C-18).		
<b>Referencia: (Ren, Y., et al., 2011)</b>		

**Figura 5-31.** Espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) de **Gm-11**.

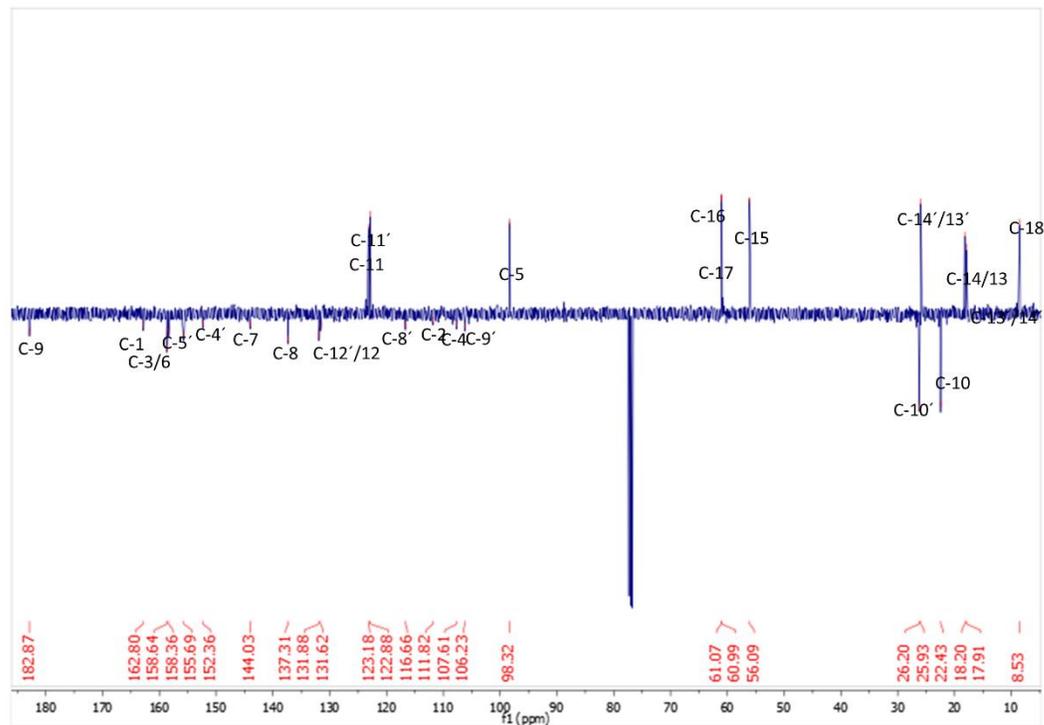


Figura 5-32. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-11**.

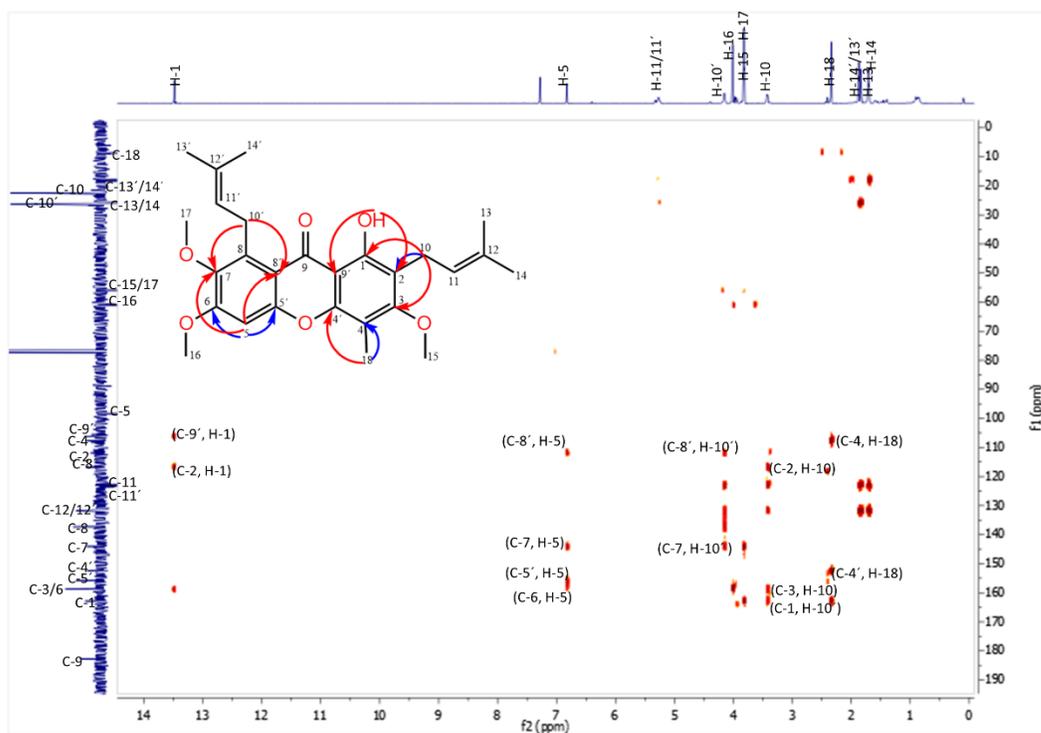
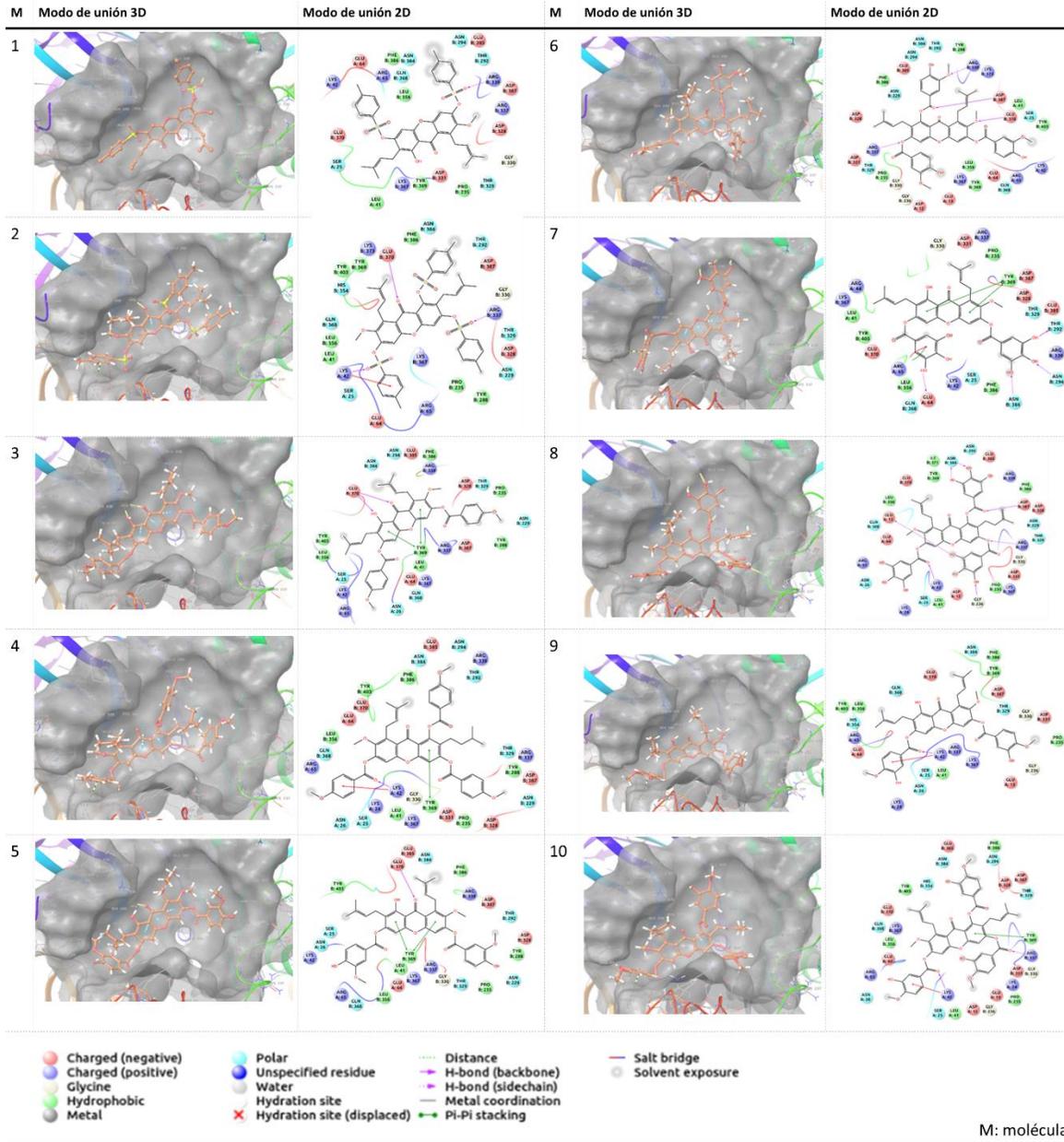


Figura 5-33. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-11**.

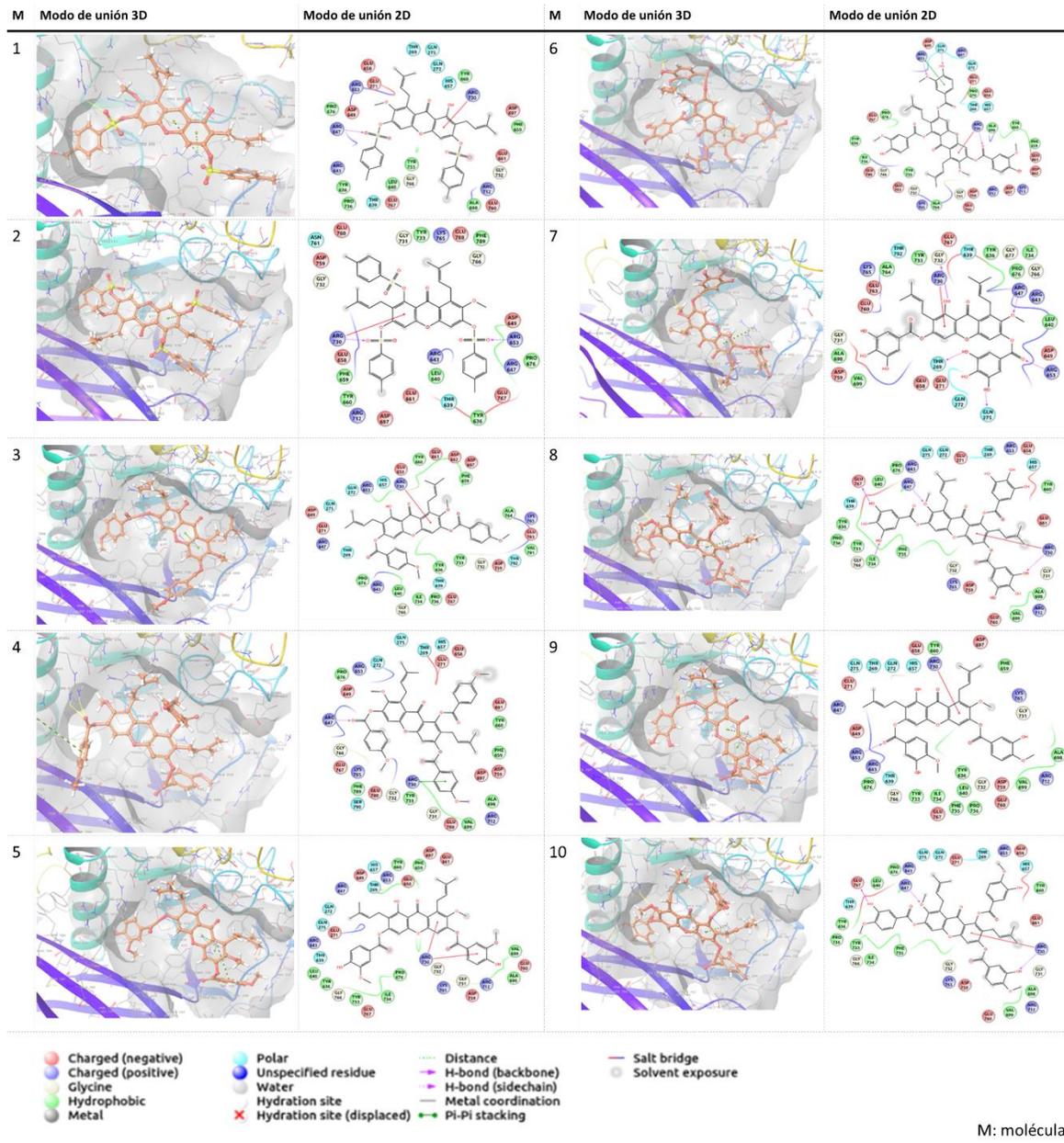
### 5.3 Anexo de estudio de optimización computacional

- 1- **Tabla** Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de **Gm-4** en el complejo **LP**
- 2- **Tabla** Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de **Gm-4** en el complejo **AG**
- 3- **Tabla** Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de **Gm-4** en el complejo **AA**

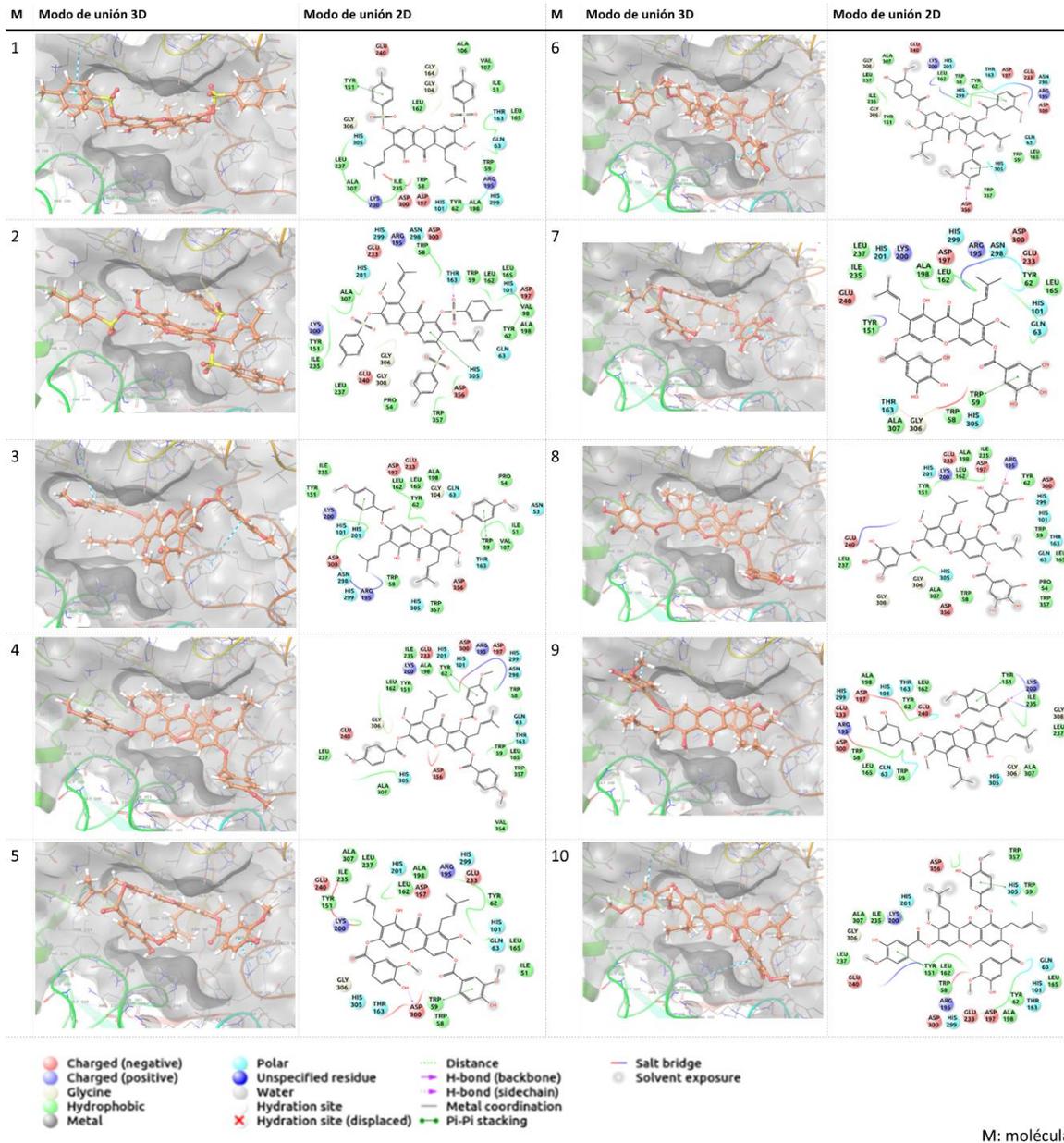
**Tabla 5-12.** Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de **Gm-4** en el complejo **LP**



**Tabla 5-13.** Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de **Gm-4** en el complejo **AG**



**Tabla 5-14.** Modos de unión de las moléculas seleccionadas para semi síntesis basadas en la optimización farmacodinámica de **Gm-4** en el complejo **AA**



## 5.4 Anexo de derivados optimizados

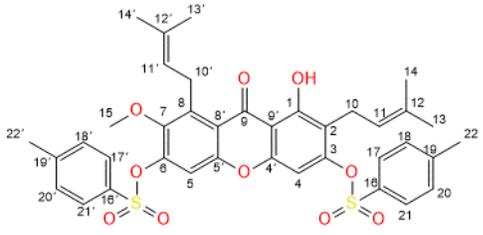
**Datos espectroscópicos y constantes físicas de los compuestos:**

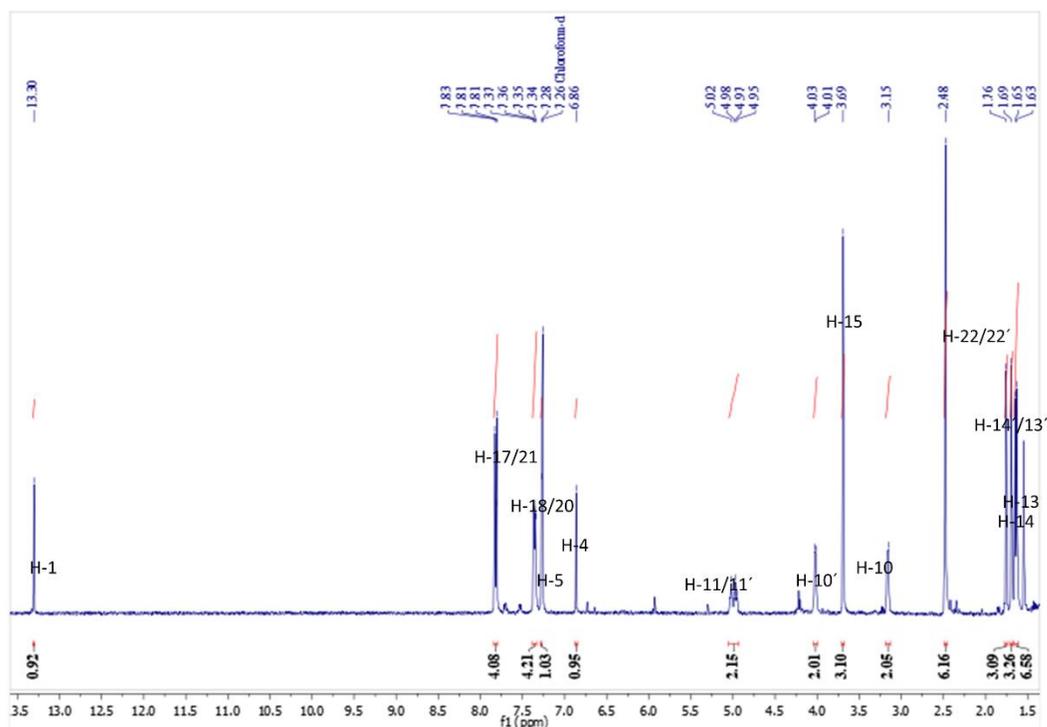
3,6-di-o-tosil- $\alpha$ -mangostina (**Gm-12**)

1,3,6-tri-o-tosil- $\alpha$ -mangostina (**Gm-13**)

3,6-di-o-(4'-metoxibenzoil)- $\alpha$ -mangostina (**Gm-14**)

**Tabla 5-15.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-12**.

	<b>Nombre</b>	3,6-di-o-tosil- $\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-12</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{38}H_{38}O_{10}S_2$
	<b>Peso molecular</b>	718.19 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	145-147 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 717,18478 / M = 718,18478
<p><b>RMN <math>^1H</math> (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 13.30 (s, 1H, OH), 7.82 (d, J = 8.2 Hz, 4H, H-17 y 18, H-17' y 18'), 7.36 (dd, J = 8.2, 3.2 Hz, 4H, H-21 y 20, H-21' y 20'), 7.20 (s, 1H, H-5'), 6.86 (s, 1H, H-4), 4.99 (d, J = 21.9 Hz, 2H, H-11, H-11'), 4.02 (d, J = 6.3 Hz, 2H, H-10), 3.69 (s, 3H, H-15), 3.15 (s, 2H, H-10'), 2.48 (s, 6H, H-22 y 22'), 1.76 (s, 3H, H-13'), 1.69 (s, 3H, H-14'), 1.64 (d, J = 7.7 Hz, 6H, H-13 y 14).</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 182.7 (C-9), 161.1 (C-1), 153.6 (C-4'), 153.5 (C-5'), 153.3 (C-3), 147.8 (C-7), 145.9 (C-16'), 145.8 (C-16), 139.5 (C-8), 132.5 (C-2), 132.4 (C-22 y 22'), 130.0 (C-17' y 17'), 128.4 (C-8'), 128.3 (C-9'), 122.1 (C-11'), 120.8 (C-11), 117.2 (C-8'), 117.0 (C-9'), 110.4 (C-5), 99.4 (C-4), 61.6 (C-15), 26.3 (C-13'), 25.8 (C-10'), 25.6 (C-14'), 22.1 (C-10), 21.8 (C-22'), 21.7 (C-22), 18.1 (C-14), 17.7 (C-13).</p>		
<b>No reportado</b>		



**Figura 5-34.** Espectro de RMN  $^1H$  (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) de **Gm-12**.

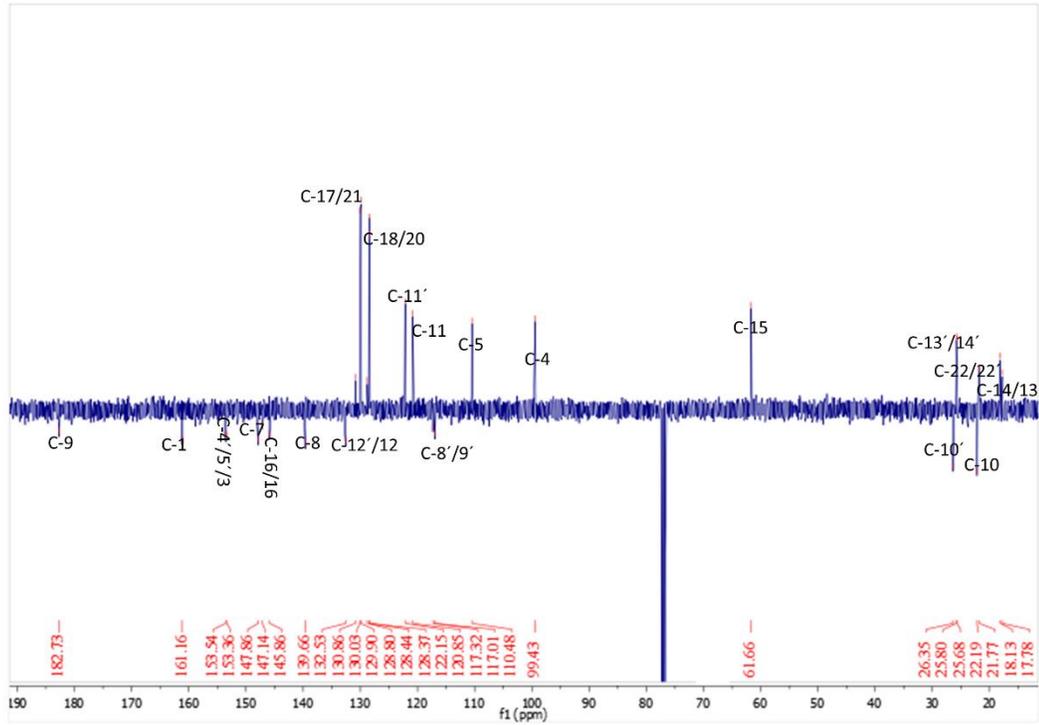


Figura 5-35. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-12**.

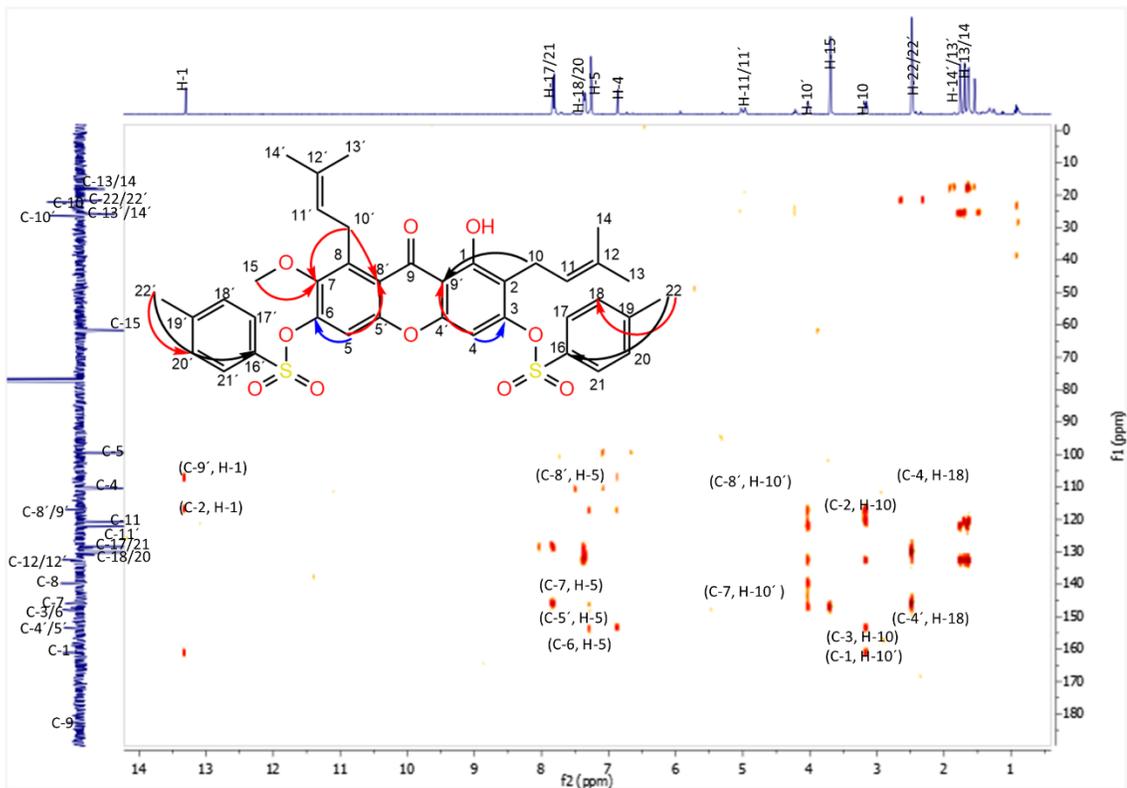
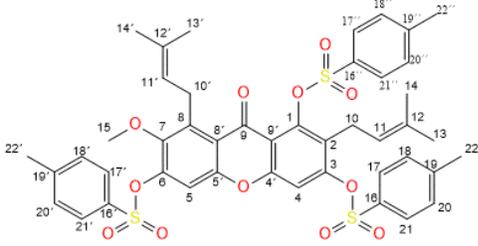


Figura 5-36. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-12**.

**Tabla 5-16.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-13**.

	<b>Nombre</b>	1,3,6-tri-o-tosil- $\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-13</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido blanco
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{45}H_{44}O_{12}S_3$
	<b>Peso molecular</b>	872.2 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	137-138 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 871,18478 / M = 872,18478
<p><b>RMN <math>^1H</math> (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 7.88 (d, J = 8,0Hz, 2H, H-17 y 18), 7.82 (d, J = 8.0 Hz, 2H, H-17' y H-18'), 7.78 (s, 2H, H-17'' y H-18''), 7.38-7,32 (m, 7H, H-4, H-20'' y H-21''), 5.19 (s, 1H, H-11), 4.80 (s, 1H, H-11'), 3.90 (d, J = 6.4 Hz, 2H, H-10'), 3.68 (s, 3H, H-15), 2.99 (d, J = 6.8 Hz, 2H, H-11), 2.49 – 2.42 (m, 9H, H-22, 22', 22''), 1.73 (s, 3H, H-14), 1.64 (s, 3H, H-13), 1.55 (s, 6H, H-13', H-14').</p>		
<p><b>APT (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 175.7 (C-9), 154.0 (C-3), 152.4 (C-4'), 151.8 (C-5'), 147.3 (C-7), 146.8 (C-6), 146.2 (C-1), 145.8 (C-22''), 145.5 (C-22), 145.3 (C-22'), 139.4 (C-8), 132.5 (C-12'), 132.3 (C-12), 131.6 (C-17/17'/17''), 130.1 (C-18/18'/18''), 128.4 (C-21/21'/21''), 128.3 (C-20/20'/20''), 122.1 (C-11'), 120.8 (C-11), 120.0 (C-8'), 116.6 (C-9'), 110.4 (C-5), 99.4 (C-4), 61.6 (C-15), 26.3 (C-10'), 25.8 (C-13'), 25.6 (C-14'), 22.1 (C-22'/22''), 21.8 (C-10'), 21.7 (C-22'), 18.1 (C-14), 17.7 (C-13).</p>		
<b>No reportado</b>		

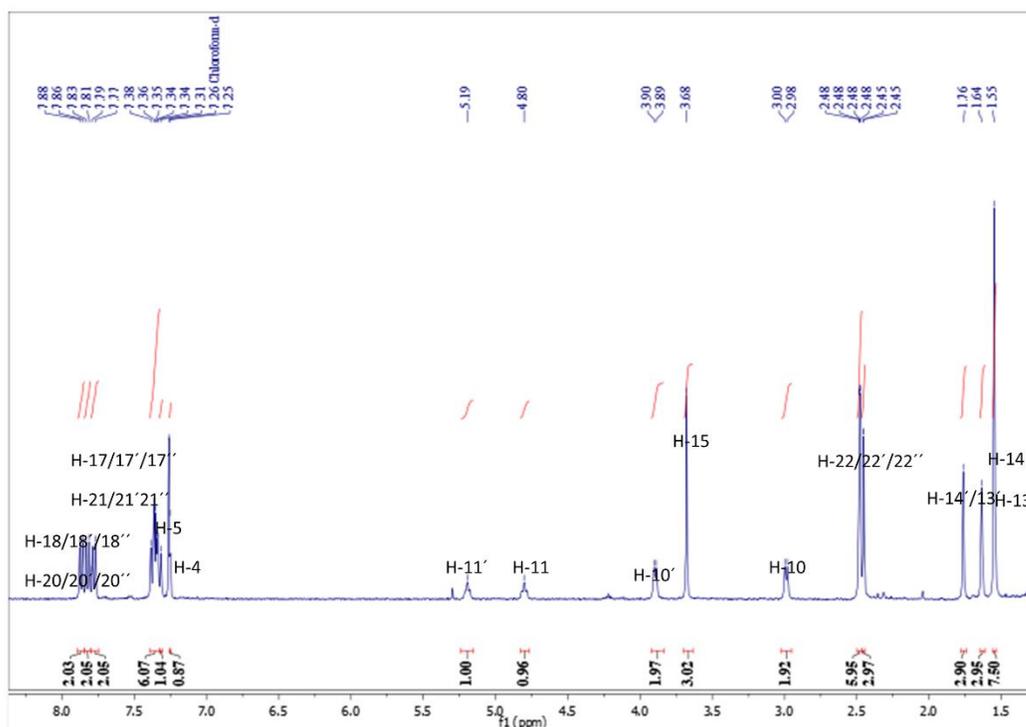
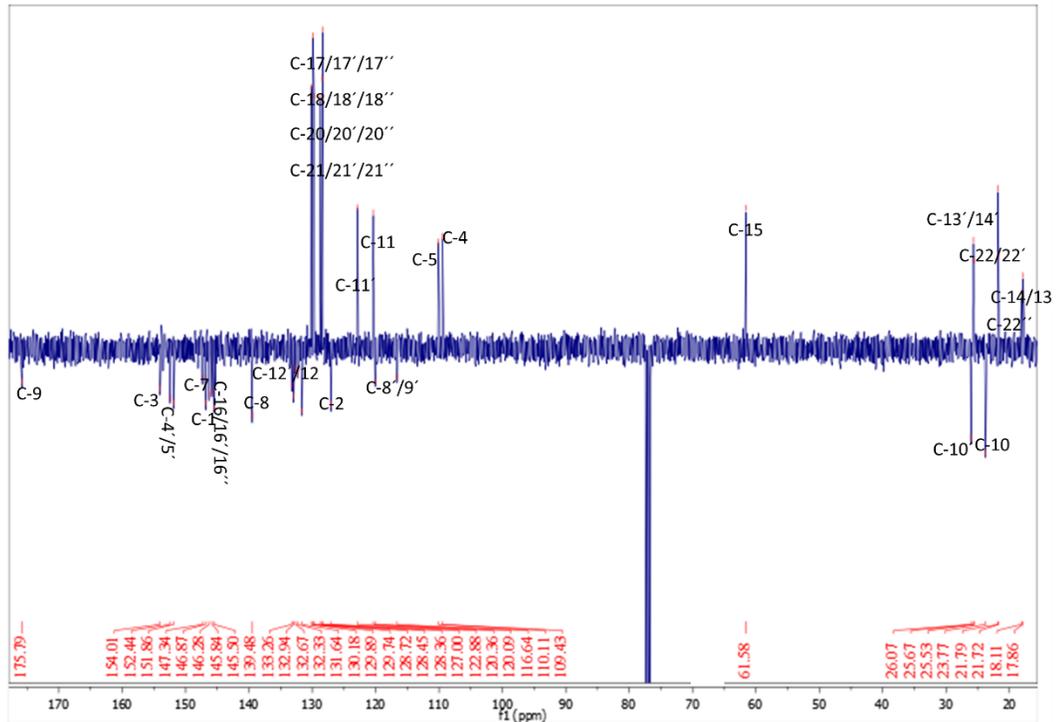
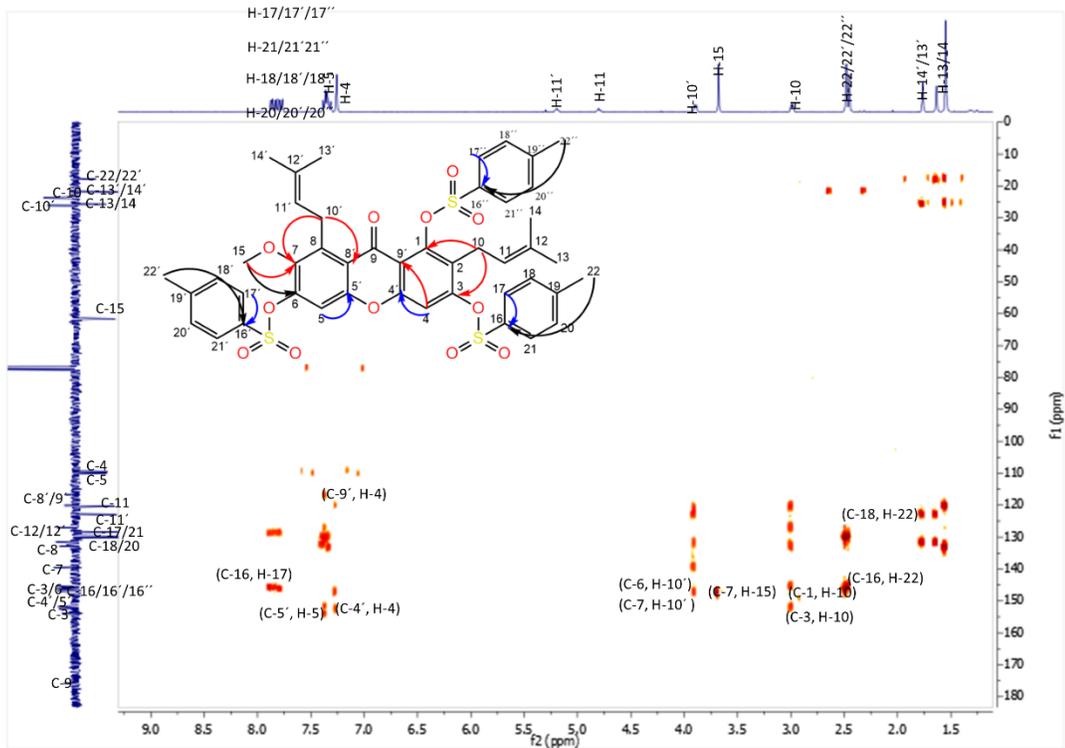
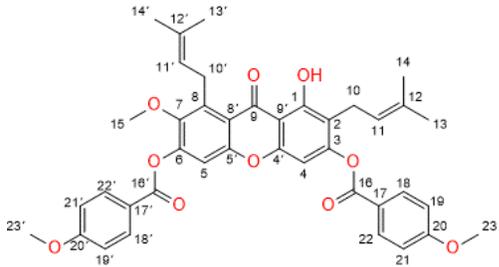
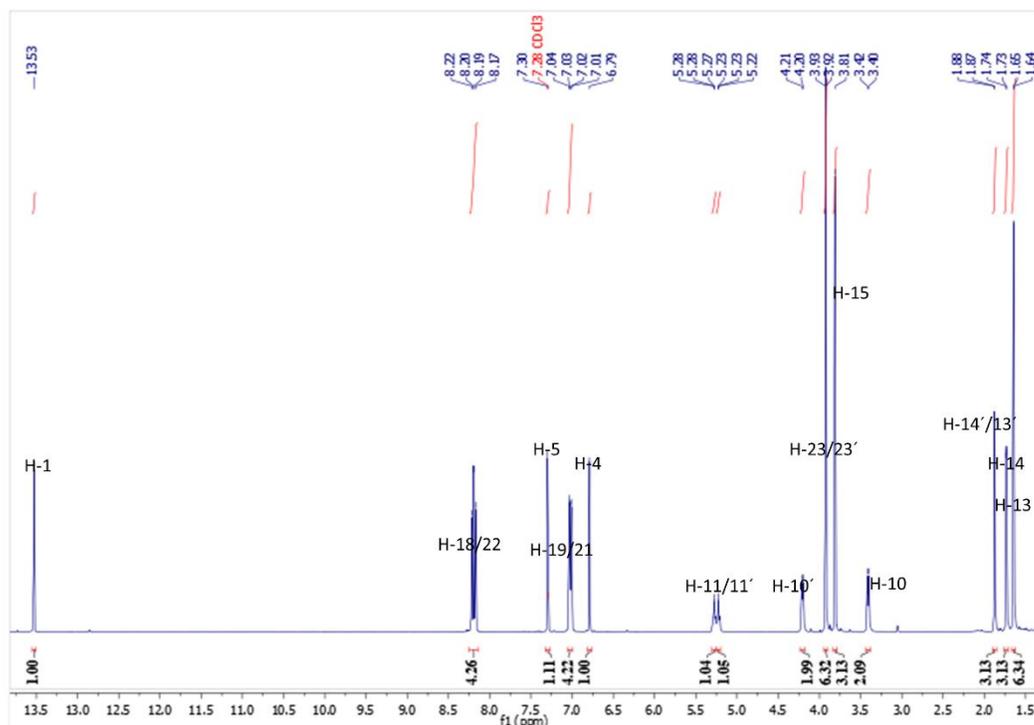


Figura 5-37. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) de **Gm-13**.Figura 5-38. Espectro de APT ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) de **Gm-13**.Figura 5-39. Espectro HMBC ( $\text{CDCl}_3$ ) de **Gm-13**.

**Tabla 5-17.** Datos espectroscópicos y constantes físicas del compuesto **Gm-14**.

	<b>Nombre</b>	3,6-di-o-(4'-metoxibenzoil)- $\alpha$ -mangostina ( <b>Gm-14</b> )
	<b>Estado físico</b>	Sólido amarillo
	<b>Fórmula molecular</b>	$C_{40}H_{38}O_{10}$
	<b>Peso molecular</b>	678,73 g/mol
	<b>Punto de fusión</b>	142-145 °C
	<b>Datos EMAR</b>	M-1 = 677.24705 / M = 678.24705
	<b>RMN <math>^1H</math> (<math>CDCl_3</math>, 400 MHz): <math>\delta</math> (ppm)</b> 13.53 (s, 1H, OH), 8.22 (d, J = 9.7, 2.9 Hz, 4H, H-21, 22, 21' y 22'), 7.02 (d, J = 9.7, 2.9 Hz, 4H, H-21, 22, 21' y 22'), 6.79 (s, 1H, H-4), 5.28-5.22 (m, 2h, H-11, H-11'), 4.20 (d, J = 6.5 Hz, 2H, H10'), 3.93 (s, 6H, H-23, H-23'), 3.81 (s, 3H, H-15), 3.42 (d, J = 7.0 Hz, 2H, H-10), 1.88 (s, 3H, H-13), 1.74 (s, 3H, H-14), 1.65 (s, 6H, H-13', H-14').	
<b>APT (100 MHz, <math>CDCl_3</math>): <math>\delta</math> (ppm)</b> 183.0 (C-9), 164.3 (C-16), 164.1 (C-16'), 163.9 (C-20), 163.6 (C-20), 161.0 (C-1), 155.4 (C-3), 154.1 (C-4'), 153.8 (C-5'), 149.8 (C-20, C-20'), 147.0 (C-7), 139.0 (C-8), 132.2 (C-12), 122.8 (C-11), 121.5 (C-11), 121.2 (C-21), 120.8 (C-21'), 116.7 (C-8'), 116.5 (C-9'), 114.1 (C-19/19'), 113.9 (C-18/18'), 110.9 (C-5), 107.1 (C-2), 100.6 (C-4), 61.8 (C-15), 55.6 (C-23), 55.5 (C-23'), 26.5 (C-10), 25.8 (C-13'), 25.7 (C-13), 22.4 (C-10'), 18.2 (C-13), 17.8 (C-14).		
<b>No reportado</b>		



**Figura 5-40.** Espectro de RMN  $^1H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz) de **Gm-14**.

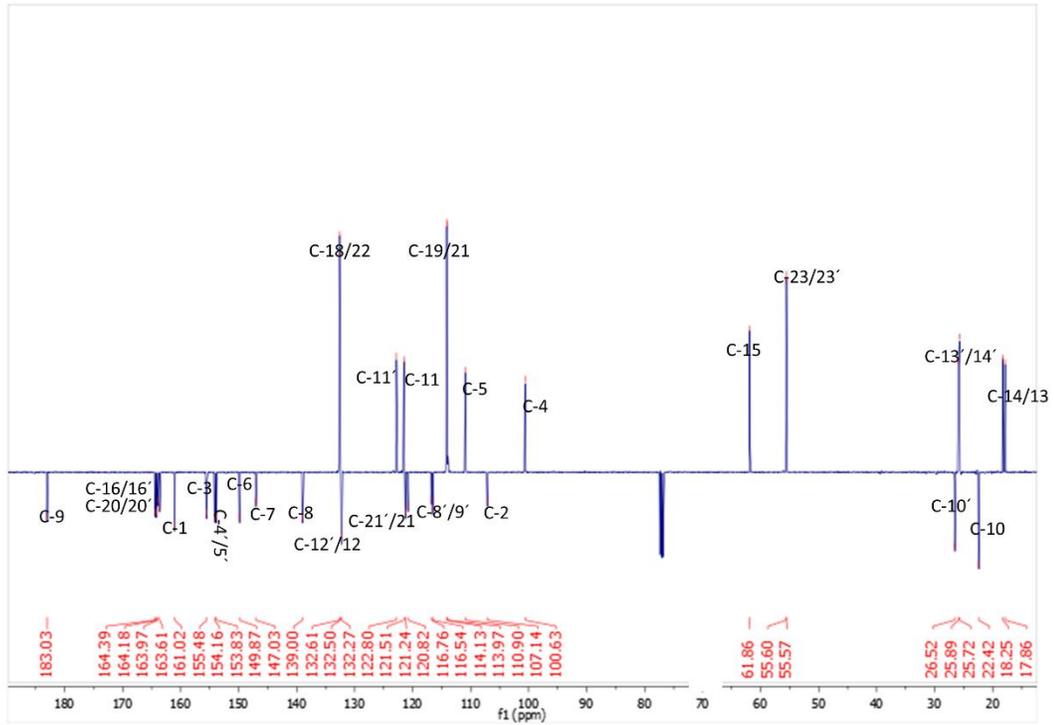


Figura 5-41. Espectro de APT (CDCl<sub>3</sub>, 100 MHz) de Gm-14.

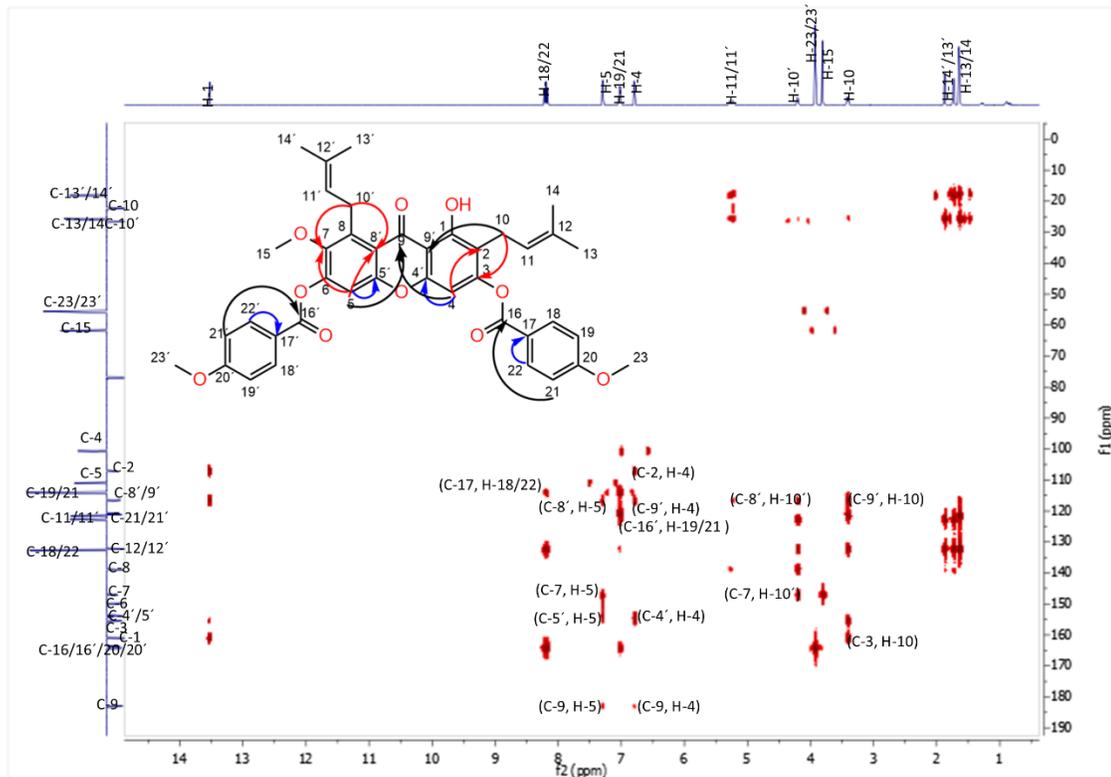
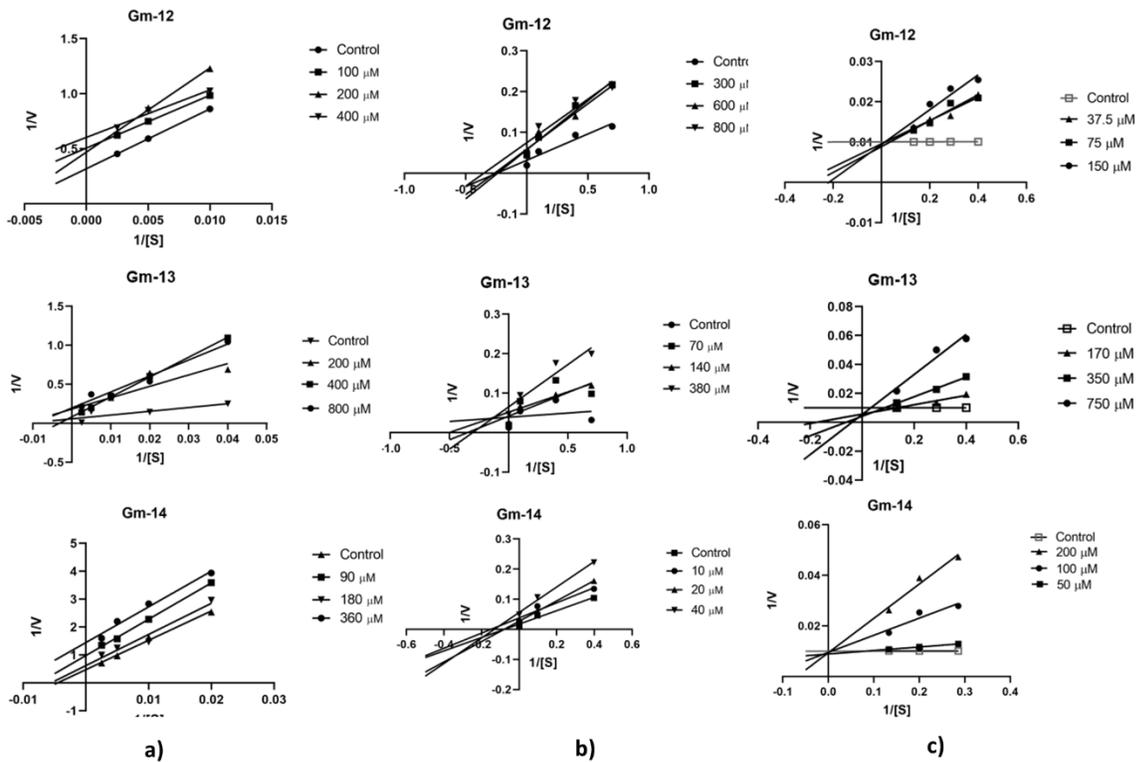


Figura 5-42. Espectro HMBC (CDCl<sub>3</sub>) de Gm-14.

## 5.5 Anexo del tipo de inhibición generado por los derivados optimizados

### 1. Figura Modos de inhibición de las moléculas optimizadas Gm-12, Gm-13 y Gm-14 frente a LP (a), AG (b) y AA (c).



**Figura 5-43.** Modos de inhibición de las moléculas optimizadas Gm-12, Gm-13 y Gm-14 frente a LP (a), AG (b) y AA (c).

## Bibliografía

- Abarca-Gómez, L., Z. A. Abdeen, Z. A. Hamid, N. M. Abu-Rmeileh, B. Acosta-Cazares, C. Acuin, and C. Agyemang. 2017. "Worldwide Trends in Body-Mass Index, Underweight, Overweight, and Obesity from 1975 to 2016: A Pooled Analysis of 2416 Population-Based Measurement Studies in 128.9 Million Children, Adolescents, and Adults." *The Lancet* 390(10113):2627–42.
- Adnyana, I., A. Abuzaid, E. Iskandar, and N. Kurniati. 2016. "Pancreatic Lipase and  $\alpha$ -Amylase Inhibitory Potential of Mangosteen ( *Garcinia Mangostana* Linn.) Pericarp Extract." *International Journal of Medical Research & Health Sciences* 5(1):23.
- Aguilar S., Carlos A., and Pablo. Aschner. 2019. "Guías ALAD Sobre El Diagnóstico, Control y Tratamiento de La Diabetes Mellitus Tipo 2 Con Medicina Basada En Evidencia Edición 2019." *Revista de La Asociación Latinoamericana de Diabetes*.
- Ah-Reum, Han, Jeong-Ah Kim, Daniel D. Lantvit, Leonarduz B. Kardonom, Soerdanoso Rsiwan, Heebyung Chai, Esperanza J. Carchate de blanco, Norman R. Farnsworth, Steven M. Swanson, and A. Douglas Kinghorn. 2009. "Cytotoxic Xanthone Constituents of the Stem Bark of *Garcinia Mangostana* (Mangosteen)." *Journal of Natural Products* 72(11):1–7.
- Al-Goblan, Abdullah S., Mohammed A. Al-Alfi, and Muhammad Z. Khan. 2014. "Mechanism Linking Diabetes Mellitus and Obesity." *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy* 7:587–91.
- Alqahtani, Ali S., Syed Hidayathulla, Md Tabish Rehman, Ali A. Elgamal, Shaza Al-Massarani, Valentina Razmovski-Naumovski, Mohammed S. Alqahtani, Rabab A. El Dib, and Mohamed F. Alajmi. 2020. "Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Enzyme Inhibition and Antioxidant Potential of 3-Oxolupenal and Katonic Acid Isolated from *Nuxia Oppositifolia*." *Biomolecules* 10(1).
- Aravindakshanpillai, P., Anu Aravind, Renu Pandey, Brijesh Kumar, Kumarapillai R. T. Asha, and Koranappallil B. Rameshkumar. 2016. "Phytochemical Screening of *Garcinia Travancorica* by HPLC-ESI-QTOF Mass Spectrometry and Cytotoxicity Studies of the Major Biflavonoid Fukugiside." *Natural Product Communications*

11(12):1839–42.

Artasensi, Angelica., Alessandro. Pedretti, Giulio. Vistoli, and Laura. Fumagalli. 2020.

“Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Multi-Target Drugs.” *Molecules* 25(8):1–20.

Ascaso, Juan F. 2014. “Diabetes Mellitus Tipo 2: Nuevos Tratamientos.” *Medicina Clinica* 143(3):117–23.

Aschner, P. 2010. “Diabetología.” *Endocrinología, Diabetes y Nutrición* 26(2):95–100.

Assemian, Inès Christelle., Alphonsine Chadon, Abdelhakim Bouyahya, Nadia Dakka, and Youssef Bakri. 2019. “Garcinia Mangostana Leaf Extracts from Ivory Coast Possess Remarkable Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxicological Properties.” *Biomedical and Pharmacology Journal* 12(2):571–78.

Atanasov, Atanas G., Sergey B. Zotchev, Verena M. Dirsch, Ilkay Erdogan Orhan, Maciej Banach, Judith M. Rollinger, Davide Barreca, Wolfram Weckwerth, Rudolf Bauer, Edward A. Bayer, Muhammed Majeed, Anupam Bishayee, Valery Bochkov, Günther K. Bonn, Nady Braidy, Franz Bucar, Alejandro Cifuentes, Grazia D’Onofrio, Michael Bodkin, Marc Diederich, Albena T. Dinkova-Kostova, Thomas Efferth, Khalid El Bairi, Nicolas Arkells, Tai Ping Fan, Bernd L. Fiebich, Michael Freissmuth, Milen I. Georgiev, Simon Gibbons, Keith M. Godfrey, Christian W. Gruber, Jag Heer, Lukas A. Huber, Elena Ibanez, Anake Kijjoa, Anna K. Kiss, Aiping Lu, Francisco A. Macias, Mark J. S. Miller, Andrei Mocan, Rolf Müller, Ferdinando Nicoletti, George Perry, Valeria Pittalà, Luca Rastrelli, Michael Ristow, Gian Luigi Russo, Ana Sanches Silva, Daniela Schuster, Helen Sheridan, Krystyna Skalicka-Woźniak, Leandros Skaltsounis, Eduardo Sobarzo-Sánchez, David S. Bredt, Hermann Stuppner, Antoni Sureda, Nikolay T. Tzvetkov, Rosa Anna Vacca, Bharat B. Aggarwal, Maurizio Battino, Francesca Giampieri, Michael Wink, Jean Luc Wolfender, Jianbo Xiao, Andy Wai Kan Yeung, Gérard Lizard, Michael A. Popp, Michael Heinrich, Ioana Berindan-Neagoe, Marc Stadler, Maria Daglia, Robert Verpoorte, and Claudiu T. Supuran. 2021. “Natural Products in Drug Discovery: Advances and Opportunities.” *Nature Reviews Drug Discovery* 20(3):200–216.

Balasubramanian, Krishnamoorthi., and Krishnamoorthi. Rajagopalan. 1988. “Novel Xanthenes from *Garcinia Mangostana*, Structures of BR-Xanthone-A and BR-Xanthone-B.” *Phytochemistry* 27(5):1552–54.

- Ballester, María Salvat, and Giorgio Giorgi. 2017. "Diseño de Fármacos Multidiana."
- Bell, Joseph. 2006. "Treatment of Diabetes." *The American Journal of the Medical Sciences* 64:497–503.
- Birari, Rahul B., and Kamlesh K. Bhutani. 2007. "Pancreatic Lipase Inhibitors from Natural Sources: Unexplored Potential." *Drug Discovery Today* 12(19–20):879–89.
- Bisswanger, Hans. 2014. "Enzyme Assays." *Perspectives in Science* 1(1–6):41–55.
- Boonnak, Nawong, Suchada Chantrapomma, Supinya Tewtrakul, and Teeratad Sudsai. 2014. "Inhibition of Nitric Oxide Production in Lipopolysaccharide-Activated RAW264.7 Macrophages by Isolated Xanthenes from the Roots of *Cratoxylum Formosum* Ssp. *Pruniflorum*." *Archives of Pharmacal Research* 37(10):1329–35.
- Brás, Natércia F., Diogo Santos-Martins, Pedro A. Fernandes, and Maria J. Ramos. 2018. "Mechanistic Pathway on Human  $\alpha$ -Glucosidase Maltase-Glucoamylase Unveiled by QM/MM Calculations." *Journal of Physical Chemistry B* 122(14):3889–99.
- Briggyth, Katherine, Angélica María Rojas, and Marcela Castillo. 2019. "Inhibidores de La Lipasa Pancreática Como Alternativa de Tratamiento Frente a La Obesidad Inhibitors of Pancreatic Lipase as an Alternative of Treatment against Obesity ARTÍCULO ORIGINAL." 7:23–30.
- Brito, Lavínia de C., Ana Luiza Rangel Berenger, and Maria Raquel Figueiredo. 2017. "An Overview of Anticancer Activity of *Garcinia* and *Hypericum*." *Food and Chemical Toxicology* 109:847–62.
- Bustanji, Yasser, Ihab M. Al-Masri, Mohammad Mohammad, Mohammad Hudaib, Khaled Tawaha, Hamada Tarazi, and Hatim S. Alkhatib. 2011. "Pancreatic Lipase Inhibition Activity of Trilactone Terpenes of *Ginkgo Biloba*." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 26(4):453–59.
- Calderón S., José Víctor, Elvia Guadalupe Muñoz R., and Martha Angélica Quintanar E. 2013. "Estrés Oxidativo y Diabetes Mellitus." *Revista de Educación Bioquímica* 32(2):54–66.
- Chae, Hee Sung, Eun Young Kim, Ling Han, Na Rae Kim, Bunthoeun Lam, Jin Hyub Paik, Kee Dong Yoon, Young Hee Choi, and Young Won Chin. 2016. "Xanthenes with Pancreatic Lipase Inhibitory Activity from the Pericarps of *Garcinia Mangostana* L. (Guttiferae)." *European Journal of Lipid Science and Technology* 118(9):1416–21.
- Chantarasriwong, Oraphin, Bashayer D. Althufairi, Nicholas J. Checchia, and Emmanuel A. Theodorakis. 2018. "Caged *Garcinia* Xanthenes: Synthetic Studies and

- Pharmacophore Evaluation.” Pp. 93–131 in *Studies in Natural Products Chemistry*. Vol. 58. Elsevier B.V.
- Chaudhury, Arun, Chitharanjan Duvoor, Vijaya Dendi, Reddy Kraleti Sena, Aditya Chada Shashank, Rahul Ravilla, Asween Marco, Nawal Singh Shekhawat, Maria Theresa Montales, Kevin Kuriakose, Appalanaidu Sasapu, Alexandria Beebe, Naveen Patil, Chaitanya K. Musham Lohani, and Govinda Prasad Mirza. 2017. “Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management.” *Frontiers in Endocrinology* 8(6):208–10.
- Che Hassan, Nurul Khairina Najwa, Muhammad Taher, and Deny Susanti. 2018. “Phytochemical Constituents and Pharmacological Properties of *Garcinia Xanthochymus*- a Review.” *Biomedicine and Pharmacotherapy* 106(April):1378–89.
- Chen, Lih Geeng, Ling Ling Yang, and Ching Chiung Wang. 2008. “Anti-Inflammatory Activity of Mangostins from *Garcinia Mangostana*.” *Food and Chemical Toxicology* 46(2):688–93.
- Chintoju, Navajyothi, Prasanthi Konduru, Rajya Lakshmi Kathula, and Ravalli Remella. 2015. “Importance of Natural Products in the Modern History.” *Research & Reviews: Journal of Hospital and Clinical Pharmacy* 1(1):5–10.
- Corbatón Anchuelo, A., R. Cuervo Pinto, and M. Serrano Ríos. 2004. “Diabetes Mellitus. Concepto, Clasificación y Mecanismos Etiopatogénicos.” *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 9(16):963–70.
- Costa Gil, José Esteban, and Eduardo Spinedi. 2017. “La Tormentosa Relación Entre Las Grasas y El Desarrollo de La Diabetes Mellitus de Tipo 2: Actualizado. Parte 1.” *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo* 1–15.
- Cruz, Maria I. 2017. “Dual/Multitargeted Xanthone Derivatives for Alzheimer’s Disease: Where Do We Stand?” *Future Medicinal Chemistry* 9(14):1611–30.
- Deachathai, S., W. Mahabusarakam, S. Phongpaichit, and W. C. Taylor. 2005. “Phenolic Compounds from the Fruit of *Garcinia Dulcis*.” *Phytochemistry* 66(19):2368–75.
- Ernst, Heidi A., Leila Lo Leggio, Martin Willemoës, Gordon Leonard, Paul Blum, and Sine Larsen. 2006. “Structure of the *Sulfolobus Solfataricus*  $\alpha$ -Glucosidase: Implications for Domain Conservation and Substrate Recognition in GH31.” *Journal of Molecular Biology* 358(4):1106–24.

- Farrington, Rachael, Ian F. Musgrave, and Roger W. Byard. 2019. "Evidence for the Efficacy and Safety of Herbal Weight Loss Preparations." *Journal of Integrative Medicine* (December 2018).
- Fischer, André, Manuel Smiesko, Martin Sellner, and Markus A. Lill. 2020. "Decision Making in Structure-Based Drug Discovery: Visual Inspection of Docking Results." *Journal of Medicinal Chemistry*.
- Fundación para la Diabetes, and Novo Nordisk. 2020. "2004: Diabetes y Obesidad." *14 de Noviembre, Día Mundial de La Diabetes 2004* 21(1):1–9. Retrieved (<https://www.fundaciondiabetes.org/diamundial/353/2004-diabetes-y-obesidad>).
- Gai-Li, Li, Cai Chao-Yun, He Jia-Yun, Li Rao, Lin Ma, Yan Liu, and Bo Wang. 2016. "Synthesis of 3-Acyloxyxanthone Derivatives as  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors: A Further Insight into the 3-Substituents' Effect." *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 24(7):1431–38.
- García Martín, Pilar, and Margarita Vega Holm. 2018. "Pilar García Martín Fármacos Multidiana. Aplicaciones Terapéuticas."
- Gendaram, Odontuya, Lai Daowan, Purevdorj Erdenetsogt, and Proksch Peter. 2017. "Pancreatic Lipase Inhibitory and Antioxidative Constituents from the Aerial Parts of *Paeonia Lactiflora* Pall. (Ranunculaceae)." *Phytochemistry Letters* 21(2017):240–46.
- Genovese, Salvatore, Serena Fiorito, Vito Alessandro Taddeo, and Francesco Epifano. 2016. "Recent Developments in the Pharmacology of Prenylated Xanthenes." *Drug Discovery Today* 21(11):1814–19.
- Gokaraju, Ganga. 2009. "Wo 2009/093259 A2." (12).
- Goodsell, David S., Garrett M. Morris, and Arthur J. Olson. 1996. "Automated Docking." *Journal of Molecular Recognition* 9(November 1995):1–5.
- Gorgojo-Martínez, J. J. 2014. "Nuevos Fármacos Antidiabéticos: Avanzando Hacia El Control Integral de La Diabetes." *Hipertension y Riesgo Vascular* 31(2):45–57.
- Gu, Yeyi, William J. Hurst, David A. Stuart, and Joshua D. Lambert. 2011. "Inhibition of Key Digestive Enzymes by Cocoa Extracts and Procyanidins." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(10):5305–11.
- Ha, Ly Dieu, Poul Erik Hansen, Ole Vang, Fritz Duus, Hung Dinh Pham, and Lien Hoa Dieu Nguyen. 2009. "Cytotoxic Geranylated Xanthenes and O-Alkylated Derivatives of  $\alpha$ -Mangostin." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 57(8):830–34.
- Han, Ah Reum, Jeong Ah Kim, Daniel D. Lantvit, Leonardus B. S. Kardono, Soedarsono

- Riswan, Heebyung Chai, Esperanza J. Carcach, De Blanco, Norman R. Farnsworth, Steven M. Swanson, and A. Douglas Kinghorn. 2009. "Cytotoxic Xanthone Constituents of the Stem Bark of *Garcinia Mangostana* (Mangosteen)." *Journal of Natural Products* 72(11):2028–31.
- Hasenah, Ali., P. J. Houghton, and A. Soumyanath. 2006. "α-Amylase Inhibitory Activity of Some Malaysian Plants Used to Treat Diabetes; with Particular Reference to *Phyllanthus Amarus*." *Journal of Ethnopharmacology* 107(3):449–55.
- Hiếu, Nguyễn Trí, Hà Diệu Ly, Phạm Đình Hùng, and Nguyễn D. Liên Hoa. 2009. "Isolation and Structural Identification of Five Xanthone Derivatives from the Pericarps of *Garcinia Mangostana* L." *Tap Chi Duoc Hoc* 48(8):18–22.
- Ibrahim, Sabrin R. M., Hossam M. Abdallah, Ali M. El-Halawany, Mohammed F. Radwan, Ibrahim A. Shehata, Essam M. Al-Harshany, Mohamed F. Zayed, and Gamal A. Mohamed. 2018. "Garcixanthonones B and C, New Xanthonones from the Pericarps of *Garcinia Mangostana* and Their Cytotoxic Activity." *Phytochemistry Letters* 25(March):12–16.
- Ibrahim, Sabrin R. M., Gamal A. Mohamed, Maan T. Khayat, Sahar Ahmed, Hany Abo-Haded, and Khalid Z. Alshali. 2019. "Mangostanaxanthone VIII, a New Xanthone from *Garcinia Mangostana* Pericarps, α-Amylase Inhibitory Activity, and Molecular Docking Studies." *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 29(2):206–12.
- Islas Andrade, Sergio A., and María Cristina Revilla Monsalve. 2013. *Diabetes Mellitus: Actualizaciones*. S.E. edited by S. A. de C. V. Editorial Alfil. México D. F.
- Ito, Chihiro, Masataka Itoigawa, Tomoko Takakura, Nijisiri Ruangrunsi, Fumio Enjo, Harukuni Tokuda, Hoyoku Nishino, and Hiroshi Furukawa. 2003. "Chemical Constituents of *Garcinia Fusca*: Structure Elucidation of Eight New Xanthonones and Their Cancer Chemopreventive Activity." *Journal of Natural Products* 66(2):200–205.
- Iwai, Kunihisa, Mi Yeon Kim, Akio Onodera, and Hajime Matsue. 2006. "α-Glucosidase Inhibitory and Antihyperglycemic Effects of Polyphenols in the Fruit of *Viburnum Dilatatum* Thunb." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(13):4588–92.
- Ji, Xiuhong, Bharathi Avula, and Ikhlas A. Khan. 2007. "Quantitative and Qualitative Determination of Six Xanthonones in *Garcinia Mangostana* L. by LC-PDA and LC-ESI-MS." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 43(4):1270–76.

- Jiang, He Zhong, Xiao Fang Quan, Wei Xi Tian, Jiang Miao Hu, Peng Cheng Wang, Sheng Zhuo Huang, Zhong Quan Cheng, Wen Juan Liang, Jun Zhou, Xiao Feng Ma, and You Xing Zhao. 2010. "Fatty Acid Synthase Inhibitors of Phenolic Constituents Isolated from *Garcinia Mangostana*." *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 20(20):6045–47.
- Johnson, Philip J., Charles E. Wiedmeyer, Alison LaCarrubba, V. K. Ganjam, and Nat T. Messer IV. 2012. "Diabetes, Insulin Resistance, and Metabolic Syndrome in Horses." *Journal of Diabetes Science and Technology* 6(3):534–40.
- Keilany, Ziad. 2005. "Natural Products. Drug Discovery and Therapeutic Medicine." *Review of Social Economy* 36(2):228–29.
- Khaw, K. Y., S. B. Choi, S. C. Tan, H. A. Wahab, K. L. Chan, and V. Murugaiyah. 2014. "Prenylated Xanthenes from Mangosteen as Promising Cholinesterase Inhibitors and Their Molecular Docking Studies." *Phytomedicine* 21(11):1303–9.
- Kim, Jang Hoon, Hyo Young Kim, Seo Young Yang, Jin Baek Kim, Chang Hyun Jin, and Young Ho Kim. 2018. "Inhibitory Activity of (–)-Epicatechin-3,5-O-Digallate on  $\alpha$ -Glucosidase and in Silico Analysis." *International Journal of Biological Macromolecules* 107(PartA):1162–67.
- Kulkarni, P. P., A. J. Kadam, R. B. Mane, Uday V. Desai, and P. P. Wadgaonkar. 1999. "Demethylation of Methyl Aryl Ethers Using Pyridine Hydrochloride in Solvent-Free Conditions under Microwave Irradiation." *Journal of Chemical Research* 6(394–395):1–2.
- Lanchero Barrios, Irvyng Patrick. 2016. "Irvyng Patrick Lanchero Barrios." Universidad Nacional de Colombia (Tesis de maestría).
- Le, My Phuong T., Miguel A. Lanaspá, Christina M. Cicerchi, Jatinder Rana, Jeffrey D. Scholten, Brandi L. Hunter, Christopher J. Rivard, R. Keith Randolph, and Richard J. Johnson. 2016. "Bioactivity-Guided Identification of Botanical Inhibitors of Ketohexokinase." *PLoS ONE* 11(6):1–17.
- Lee, Young A., Eun Ju Cho, Takashi Tanaka, and Takako Yokozawa. 2007. "Inhibitory Activities of Proanthocyanidins from Persimmon against Oxidative Stress and Digestive Enzymes Related to Diabetes." *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 53(3):287–92.
- Li, Huilin, Fengrui Song, Junpeng Xing, Rong Tsao, Zhiqiang Liu, and Shuying Liu. 2009. "Screening and Structural Characterization of  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from

- Hawthorn Leaf Flavonoids Extract by Ultrafiltration LC-DAD-MS and SORI-CID FTICR MS." *Journal of the American Society for Mass Spectrometry* 20(8):1496–1503.
- Li, Jin, Ailing Fu, and Le Zhang. 2019. "An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking." *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences* 11(2):320–28.
- Li, Zuo Peng, Yeong Hun Song, Zia Uddin, Yan Wang, and Ki Hun Park. 2018. "Inhibition of Protein Tyrosine Phosphatase 1B (PTP1B) and  $\alpha$ -Glucosidase by Xanthones from *Cratogeomys Cochinchinense*, and Their Kinetic Characterization." *Bioorganic and Medicinal Chemistry* 26(3):737–46.
- Libert, Diane M., Amy S. Nowacki, and Marvin R. Natowicz. 2018. "Metabolomic Analysis of Obesity, Metabolic Syndrome, and Type 2 Diabetes: Amino Acid and Acylcarnitine Levels Change along a Spectrum of Metabolic Wellness." *PeerJ* 2018(8).
- Lim, T. K. 2012. "Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits." *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants: Volume 2, Fruits* 2:1–1088.
- Liu, Qianyu, Dan Li, Anqi Wang, Zhen Dong, Sheng Yin, Qingwen Zhang, Yang Ye, Liangchun Li, and Ligen Lin. 2016. "Nitric Oxide Inhibitory Xanthones from the Pericarps of *Garcinia Mangostana*." *Phytochemistry* 131:115–23.
- López Vallejo, Fabián, José Luis Medina Franco, and Rafael Castillo. 2018. "Diseño de Fármacos Asistido Por Computadora." *Educación Química* 17(4):452.
- Mahendran, G., M. Manoj, K. J. Rajendra Prasad, and V. Narmatha Bai. 2015. "Antioxidants, Anti-Proliferative, Anti-Inflammatory, Anti-Diabetic and Anti-Microbial Effects of Isolated Compounds from *Swertia Corymbosa* (Grieb.) Wight Ex C.B. Clark – An in Vitro Approach." *Food Science and Human Wellness* 4(4):169–79.
- Marrelli, Mariangela, Monica Rosa Loizzo, Marcello Nicoletti, Francesco Menichini, and Filomena Conforti. 2013. "Inhibition of Key Enzymes Linked to Obesity by Preparations From Mediterranean Dietary Plants: Effects on  $\alpha$ -Amylase and Pancreatic Lipase Activities." *Plant Foods for Human Nutrition* 68(4):340–46.
- Martínez Grau, M. ángeles, and Aurelio G. Csáky. 2012. *Técnicas Experimentales En Síntesis Orgánica*. Segunda ed. edited by S. A. EDITORIAL SÍNTESIS.
- Medellín Zabala, Diana Marcela. 2016. "Sistemática Del Género *Garcinia* (Clusiaceae):

- Revisión Taxonómica Para Colombia y Filogenia de Las Especies Neotropicales.” Universidad Nacional de Colombia (Tesis de Maestría).
- Medina-Franco, José L., Eli Fernán-Dezde Gortari, and J. Jesús Naveja. 2015. “Avances En El Diseño de Fármacos Asistido Por Computadora.” *Educacion Quimica* 26(3):180–86.
- Mignani, Serge, Scot Huber, Helena Tomás, João Rodrigues, and Jean Pierre Majoral. 2016. “Why and How Have Drug Discovery Strategies in Pharma Changed? What Are the New Mindsets?” *Drug Discovery Today* 21(2):239–49.
- Mohamed Ibrahim, Sabrin Ragab, Gamal Abdallah Mohamed, Maan Talaat Abdullah Khayat, Sahar Ahmed, and Hany Abo-Haded. 2019. “ $\alpha$ -Amylase Inhibition of Xanthones from *Garcinia Mangostana* Pericarps and Their Possible Use for the Treatment of Diabetes with Molecular Docking Studies.” *Journal of Food Biochemistry* 43(5):1–9.
- Morales Gómez, Angy Tatiana. 2017. “Determinación Del Potencial Inhibidor Del Extracto y Fracciones de *Passiflora Manicata* Sobre Enzimas Digestivas ( $\alpha$ -Amilasa,  $\alpha$ -Glucosidasa y Lipasa Pancreática).” Pontificia Universidad Javeriana (Tesis de Maestría).
- Morelli, Carlo F., Marco Biagiotti, Valeria M. Pappalardo, Marco Rabuffetti, and Giovanna Speranza. 2015. “Chemistry of  $\alpha$ -Mangostin. Studies on the Semisynthesis of Minor Xanthones from *Garcinia Mangostana*.” *Natural Product Research* 29(8):750–55.
- Nagem, Tanus Jorge, and Fernando Faustino De Oliveira. 1997. “Xanthones and Other Constituents of *Vismia Parviflora*.” *Journal of the Brazilian Chemical Society* 8(5):505–8.
- Neves, Bruno J., Rodolpho C. Braga, Cleber C. Melo-Filho, José Teófilo Moreira-Filho, Eugene N. Muratov, and Carolina Horta Andrade. 2018. “QSAR-Based Virtual Screening: Advances and Applications in Drug Discovery.” *Frontiers in Pharmacology* 9(NOV).
- Newman, David J., and Gordon M. Cragg. 2020. “Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019.” *Journal of Natural Products* 83(3):770–803.
- Nguyen, Chi N., Binh T. D. Trinh, Toan B. Tran, Le Thu T. Nguyen, Anna K. Jäger, and Lien Hoa D. Nguyen. 2017. “Anti-Diabetic Xanthones from the Bark of *Garcinia Xanthochymus*.” *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 27(15):3301–4.

- Nisha, J. 2017. "In-Silico Screening of Alpha Amylase Enzyme Inhibitors from Siddha Formulation Pungampoo Chooranam by Molecular Docking Analysis for the Management of Type II Diabetes Mellitus." *International Journal of Current Research in Medical Sciences* 3(10):24–34.
- Ochir, Sarangowa, Makoto Nishizawa, Byoung Jae Park, Kouta Ishii, Tsutomu Kanazawa, Minoru Funaki, and Takashi Yamagishi. 2010. "Inhibitory Effects of Rosa Gallica on the Digestive Enzymes." *Journal of Natural Medicines* 64(3):275–80.
- Oda, Akifumi, Keiichi Tsuchida, Tadakazu Takakura, Noriyuki Yamaotsu, and Shuichi Hirono. 2006. "Comparison of Consensus Scoring Strategies for Evaluating Computational Models of Protein - Ligand Complexes." 380–91.
- OMS/OPS. 2017. "La Obesidad Entre Los Niños y Los Adolescentes Se Ha Multiplicado Por 10 En Los Cuatro Últimos Decenios." *Protección & Seguridad En La Comunidad* 1–6. Retrieved (<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/increase-childhood-obesity/es/>).
- OMS. 2013. *Estrategia de Medicina Tradicional de La OMS 2014-2023*. 1 edición. edited by Organización mundial de la salud and W. Chokwiwat.
- OMS. 2018. "Obesidad y Sobrepeso." *Obesidad y Sobrepeso*. Retrieved (<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).
- OPS/OMS Colombia. 2018. "OPS- Enfermedades No Transmitibles.Pdf."
- Palacio-Rodríguez, Karen, Isaias Lans, Claudio N. Cavasotto, and Pilar Cossio. 2019. "Exponential Consensus Ranking Improves the Outcome in Docking and Receptor Ensemble Docking." *Scientific Reports* 9(1):1–14.
- Pappachan, Joseph M., Cornelius J. Fernandez, and Elias C. Chacko. 2019. "Diabetes and Antidiabetic Drugs." *Molecular Aspects of Medicine* 66(August):3–12.
- Pedraza-Chaverri, José, Noemí Cárdenas-Rodríguez, Marisol Orozco-Ibarra, and Jazmin M. Pérez-Rojas. 2008. "Medicinal Properties of Mangosteen (*Garcinia Mangostana*)." *Food and Chemical Toxicology* 46(10):3227–39.
- Peres, Valdir, Tanus Jorge Nagem, and Fernando Faustino De Oliveira. 2000. "Tetraoxygenated Naturally Occurring Xanthones." *Phytochemistry* 55(7):683–710.
- Pérez-Sánchez, H., G. Cano, J. García-Rodríguez, and J. M. Cecilia. 2015. "Descubrimiento de Fármacos Basado En Cribado Virtual Refinado Con Enfoques

- Neuronales Paralelos." *Revista Internacional de Metodos Numericos Para Calculo y Diseno En Ingenieria* 31(4):207–11.
- Pierre Egloff, Marie, Frank Marguet, Gerard Buono, Robert Venger, Christian\* Camillau, and Herman Von Tilbeurgho. 1995. "A Resolution Structure of the Pancreatic Lipase-Colipase Complex." *Biochemistry* 34:2751–62.
- Pleiss, Jürgen, Markus Fischer, Marcus Peiker, Claudia Thiele, and Rolf D. Schmid. 2000. "Lipase Engineering Database." *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 10(5):491–508.
- Ponce, Jorge Orlando, Nazarena Rodriguez Vigay, and rolando pablo Juarez. 2019. "Inhibición  $\alpha$ -Amilasa Por Medio de Extractos de Plantas Medicinales Como Tratamiento Complementario/Alternativo de La Diabetes y La Caries." *Revista de La Sociedad Odontológica de La Plata (SOLP)* 55(May 2018):41–44.
- Preto, Jordane, and Francesco Gentile. 2019. "Assessing and Improving the Performance of Consensus Docking Strategies Using the DockBox Package." *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 33(9):817–29.
- Qian, Minxie, Silvia Spinelli, Hugues Driguez, and Françoise Payan. 1997. "Structure of a Pancreatic  $\alpha$ -Amylase Bound to a Substrate Analogue at 2.03 Å Resolution." *Protein Science* 6(11):2285–96.
- Raksat, Achara, Piyaporn Phukhatmuen, Jianxiong Yang, Wisanu Maneerat, Rawiwan Charoensup, Raymond J. Andersen, Yan A. Wang, Stephen G. Pyne, and Surat Laphookhieo. 2020. "Phloroglucinol Benzophenones and Xanthonenes from the Leaves of *Garcinia Cowa* and Their Nitric Oxide Production and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activities." *Journal of Natural Products* 83(1):164–68.
- Raksat, Achara, Tawanun Sripisut, and Wisanu Maneerat. 2015. "Bioactive Xanthonenes from *Cratoxylum Cochinchinense*." *Natural Product Communications* 10(11):1969–72.
- Rao, P. Suryaprakasa, P. Prabhakara Reddy, and T. R. Seshadri. 1940. "Methylation of Hydroxy Flavonols Using Methyl Iodide and Potassium Carbonate." *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section A* 12(6):495–97.
- Ren, Yulin, Susan Matthew, Daniel D. Lantvit, Tran Ngoc Ninh, Heebyung Chai, James R. Fuchs, Djaja D. Soejarto, Esperanza J. Carcach, De Blanco, Steven M. Swanson, and A. Douglas Kinghorn. 2011. "Cytotoxic and NF-KB Inhibitory Constituents of the Stems of *Cratoxylum Cochinchinense* and Their Semisynthetic Analogues." *Journal*

*of Natural Products* 74(5):1117–25.

- Repasky, Matthew P., Mee Shelley, and Richard A. Friesner. 2007. "Flexible Ligand Docking with Glide." Pp. 1–36 in *Current Protocols in Bioinformatics*.
- Rodriguez, E., J. M. Perea, A. M. Ortega, and R. M. López-sobaler. 2009. "Obesidad, Resistencia a La Insulina y Aumento de Los Niveles de Adipoquinas: Importancia de La Dieta y El Ejercicio Físico." *Nutrición Hospitalaria* 24(4):415–21.
- Ryu, Hyung Won, Jung Keun Cho, Marcus J. Curtis-Long, Heung Joo Yuk, Young Soo Kim, Sunin Jung, Young Suk Kim, Byong Won Lee, and Ki Hun Park. 2011. "α-Glucosidase Inhibition and Antihyperglycemic Activity of Prenylated Xanthenes from *Garcinia Mangostana*." *Phytochemistry* 72(17):2148–54.
- Saboury, A. A. 2009. "Enzyme Inhibition and Activation: A General Theory." *Journal of the Iranian Chemical Society* 6(2):219–29.
- Salud, Ministerio de. 2005. *Guía de Atención de La Obesidad*. Bogotá D. C.
- Salvador Rodríguez, J., C. Abreu Padín, F. Rotellar Sastre, and G. Frühbeck Martínez. 2004. "Tratamiento de La Obesidad. Medidas de Estilo de Vida y Régimen Alimentario. Tratamiento Farmacológico. Tratamiento Quirúrgico." *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* 9(19):1176–85.
- Sankar, Veinramuthu, and S. .. Maida Engels. 2018. "Synthesis, Biological Evaluation, Molecular Docking and in Silico ADME Studies of Phenacyl Esters of N-Phthaloyl Amino Acids as Pancreatic Lipase Inhibitors." *Future Journal of Pharmaceutical Sciences* 4(2):276–83.
- Santos, Clementina M. M., Marisa Freitas, and Eduarda Fernandes. 2018. "A Comprehensive Review on Xanthone Derivatives as α-Glucosidase Inhibitors." *European Journal of Medicinal Chemistry* 157:1460–79.
- Sasaki, Guilherme L., Marcello Iacomini, and Philip A. J. Gorin. 2005. "Methylation-GC-MS Analysis of Arabinofuranose- And Galactofuranose- Containing Structures: Rapid Synthesis of Partially O-Methylated Alditol Acetate Standards." *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias* 77(2):223–34.
- Sekhon-Loodu, Satvir, and H. P. Vasanth. Rupasinghe. 2019. "Evaluation of Antioxidant, Antidiabetic and Antiobesity Potential of Selected Traditional Medicinal Plants." *Frontiers in Nutrition* 6.

- Shakoor, Hira, Fatima Abdelfattah, Khaula Albadi, Mentalla Adib, Jaleel Kizhakkayil, and Carine Platat. 2020. "Inhibition of Digestive Enzyme and Stimulation of Human Liver Cells (HepG2) Glucose Uptake by Date Seeds Extract." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2020.
- Shang, Erchang, Yaxia Yuan, Xinyi Chen, Ying Liu, Jianfeng Pei, and Luhua Lai. 2014. "De Novo Design of Multitarget Ligands with an Iterative Fragment-Growing Strategy." *Journal of Chemical Information and Modeling* 54(4):1235–41.
- Da Silva, Franck, Jeremy Desaphy, and Didier Rognan. 2018. "ICChem: A Versatile Toolkit for Detecting, Comparing, and Predicting Protein–Ligand Interactions." *ChemMedChem* 13(6):507–10.
- Sim, Lyann, Roberto Quezada-Calvillo, Erwin E. Sterchi, Buford L. Nichols, and David R. Rose. 2008. "Human Intestinal Maltase-Glucoamylase: Crystal Structure of the N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity." *Journal of Molecular Biology* 375(3):782–92.
- Sriyatep, Teerayut, Ittipon Siridechakorn, Wisanu Maneerat, Acharavadee Pansanit, Thunwadee Ritthiwigrom, Raymond J. Andersen, and Surat Laphookhieo. 2015. "Bioactive Prenylated Xanthenes from the Young Fruits and Flowers of *Garcinia Cowa*." *Journal of Natural Products* 78(2):265–71.
- Sriyatep, Teerayut, Cholpisut Tantapakul, Raymond J. Andersen, Brian O. Patrick, Stephen G. Pyne, Chatchai Muanprasat, Sawinee Seemakhan, Suparek Borwornpinyo, and Surat Laphookhieo. 2018. "Resolution and Identification of Scalemic Caged Xanthenes from the Leaf Extract of *Garcinia Propinqua* Having Potent Cytotoxicities against Colon Cancer Cells." *Fitoterapia* 124(October):34–41.
- Sudta, Pichit, Payung Jiarawapi, Apichart Suksamrarn, Poonpilas Hongmanee, and Sunit Suksamrarn. 2013. "Potent Activity against Multidrug-Resistant Mycobacterium Tuberculosis of  $\alpha$ -Mangostin Analogs." *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 61(2):194–203.
- Sukandar, Edwin Risky, Sutin Kaennakam, Kitiya Rassamee, Taslim Ersam, Pongpun Siripong, and Santi Tip-Pyang. 2019. "Tetrandraxanthenes A-I, Prenylated and Geranylated Xanthenes from the Stem Bark of *Garcinia Tetrandra*." *Journal of Natural Products* 82(5):1312–18.
- Sukandar, Edwin Risky, Sutin Kaennakam, Kitiya Rassamee, Pongpun Siripong, Sri Fatmawati, Taslim Ersam, and Santi Tip-pyang. 2018. "Xanthenes and Biphenyls

- from the Stems of *Garcinia Cylindrocarpa* and Their Cytotoxicity.” *Fitoterapia* 130(August):112–17.
- Sultanbawa, M. U. S. 1980. “Xanthonoids of Tropical Plants.” *Tetrahedron* 36(11):1465–1506.
- Sumaryada, T., and A. W. Roslia. 2016. “Molecular Docking Simulation of Mangostin Derivatives and Curcuminoid on Maltase- Glucoamylase Target for Searching Anti-Diabetes Drug Candidates.” *1st International Conference on Biomedical Engineering (IBIOMED)*, 1–4.
- Taha, Muhammad, Nor Hadiani Ismail, Kulsoom Javaid, Syahrul Imran, El Hassane Anouar, Abdul Wadood, Atia-Tul-Wahab, Muhammad Ali, Khalid Mohammed Khan, Syed Muhammad Saad, Fazal Rahim, and M. Iqbal Choudhary. 2015. “Evaluation of 2-Indolcarbohydrazones as Potent  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors, in Silico Studies and DFT Based Stereochemical Predictions.” *Bioorganic Chemistry* 63:24–35.
- Torres R, Eugenio, Manuel Almeida S, and Christian Vogel. 2015. “Síntesis y Evaluación de La Actividad Antitumoral in Vitro de Un Éster Prenilado Análogo a Productos Naturales.” *Química Viva* 14(1):111–19.
- Trott, Oleg, and Arthur J. Olson. 2012. “Software News and Update AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading.” *Journal of Computational Chemistry* 32:174–82.
- Tusevski, Oliver, Branka Vinterhalter, Dijana Krstić Milošević, Marina Soković, Ana Ćirić, Dragan Vinterhalter, Snežana Zdravković Korać, Jasmina Petreska Stanoeva, Marina Stefova, and Sonja Gadzovska Simic. 2017. “Production of Phenolic Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities in Hairy Root and Shoot Cultures of *Hypericum Perforatum* L.” *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 128(3):589–605.
- Ubukata, Makoto, Hitomi Takamori, Misaki Ohashi, Shinya Mitsuhashi, Kaoru Yamashita, Tomohisa Asada, Noriyuki Nakajima, Nobuyasu Matsuura, Mie Tsuruga, Keiko Taki, and Junji Magae. 2007. “Mycophenolic Acid as a Latent Agonist of PPAR $\gamma$ .” *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 17(17):4767–70.
- Uthuppan, Jasmine, and K. Soni. 2013. “Conformational Analysis: A Review.” *International Journal of Pharmaceutical Sciences & ...* 4(1):34–41.

- Veeramachaneni, Ganesh Kumar, K. Kranthi Raj, Leela Madhuri Chalasani, Sai Krishna Annamraju, JS Bondili, and Venkateswara Talluri. 2015. "Shape Based Virtual Screening and Molecular Docking towards Designing Novel Pancreatic Lipase Inhibitors." *Bioinformation* 11(12):535–42.
- Villarroya, Francesc. 2016. "Bioquímica De La Obesidad." *Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular* 190:28.
- Vongsak, Boonyadist, Sumet Kongkiatpaiboon, Sunan Jaisamut, Sasipawan Machana, and Chamnan Pattarapanich. 2015. "In Vitro Alpha Glucosidase Inhibition and Free-Radical Scavenging Activity of Propolis from Thai Stingless Bees in Mangosteen Orchard." *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 25(5):445–50.
- Walker, Edward B. 2007. "HPLC Analysis of Selected Xanthenes in Mangosteen Fruit." *Journal of Separation Science* 30(9):1229–34.
- Wang, Jing J., Qing H. Shi, Wei Zhang, and Barbara J. S. Sanderson. 2012. "Anti-Skin Cancer Properties of Phenolic-Rich Extract from the Pericarp of Mangosteen (*Garcinia Mangostana* Linn.)." *Food and Chemical Toxicology* 50(9):3004–13.
- Wang, Ming Hui, Kuo Jun ZHANG, Qin Lan GU, Xiao Ling BI, and Jin Xin WANG. 2017. "Pharmacology of Mangostins and Their Derivatives: A Comprehensive Review." *Chinese Journal of Natural Medicines* 15(2):81–93.
- Wang, Zerong. 2010. "Irvine-Purdie Methylation." *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents* 1526–29.
- Whitcomb, David C., and Mark E. Lowe. 2007. "Human Pancreatic Digestive Enzymes." *Digestive Diseases and Sciences* 52(1):1–17.
- Williams, John A. 2017. "Amylase." *Pancreapedia* 1.
- Williams, L. K., C. Li, S. G. Withers, and G. D. Brayer. 2012. "Order and Disorder: Differential Structural Impacts of Myricetin and Ethyl Caffeate on Human Amylase, an Antidiabetic Target." *J. Med. Chem.* 55(101):77–86.
- Xu, Youjun, Shiwei Wang, Qiwan Hu, Shuaishi Gao, Xiaomin Ma, Weilin Zhang, Yihang Shen, Fangjin Chen, Luhua Lai, and Jianfeng Pei. 2018. "CavityPlus: A Web Server for Protein Cavity Detection with Pharmacophore Modelling, Allosteric Site Identification and Covalent Ligand Binding Ability Prediction." *Nucleic Acids Research* 46(W1):W374–79.
- Yang, Hye Won, K. H. N. Fernando, Jae Young Oh, Xining Li, You Jin Jeon, and Bo Mi Ryu. 2019. "Anti-Obesity and Anti-Diabetic Effects of *Ishige Okamurae*." *Marine*

*Drugs* 17(4):1–11.

- Ye, Gao Jie, Tian Lan, Zhi Xin Huang, Xiao Ning Cheng, Chao Yun Cai, Sen Miao Ding, Min Li Xie, and Bo Wang. 2019. "Design and Synthesis of Novel Xanthone-Triazole Derivatives as Potential Antidiabetic Agents:  $\alpha$ -Glucosidase Inhibition and Glucose Uptake Promotion." *European Journal of Medicinal Chemistry* 177:362–73.
- Yeong, Keng Yoon, Kooi Yeong Khaw, Yukari Takahashi, Yukihiko Itoh, Vikneswaran Murugaiyah, and Takayoshi Suzuki. 2020. "Discovery of Gamma-Mangostin from *Garcinia Mangostana* as a Potent and Selective Natural SIRT2 Inhibitor." *Bioorganic Chemistry* 94(June):103403.
- Yuan, Haidan, Qianqian Ma, Li Ye, and Guangchun Piao. 2016. "The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products." *Molecules* 21(5).
- Zawawi, Nik Khairunissa Nik Abdullah, Muhammad Taha, Norizan Ahmat, Abdul Wadood, Nor Hadiani Ismail, Fazal Rahim, Syed Sikander Azam, and Noraishah Abdullah. 2016. "Benzimidazole Derivatives as New  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors and in Silico Studies." *Bioorganic Chemistry* 64:29–36.
- Zhang, Bao Jun, Wen Wei Fu, Rong Wu, Jin Ling Yang, Cai Yun Yao, Bing Xiong Yan, Hong Sheng Tan, Chang Wu Zheng, Zhi Jun Song, and Hong Xi Xu. 2019. "Cytotoxic Prenylated Xanthonones from the Leaves of *Garcinia Bracteata*." *Planta Medica* 85(6):444–52.
- Zhang, Weilin, Jianfeng Pei, and Luhua Lai. 2017. "Computational Multitarget Drug Design." *Journal of Chemical Information and Modeling* 57(3):403–12.
- Zhang, Yaozheng, Zhijun Song, Jing Hao, Shengxiang Qiu, and Zhifang Xu. 2010. "Two New Prenylated Xanthonones and a New Prenylated Tetrahydroxanthone from the Pericarp of *Garcinia Mangostana*." *Fitoterapia* 81(6):595–99.
- Zheng, Guo qiang, Patrick M. Kenney, and Luke K. T. Lam. 1992. "Myristicin: A Potential Cancer Chemopreventive Agent from Parsley Leaf Oil." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40(1):107–10.
- Zheng, Huan Huan, Cui Ting Luo, Heru Chen, Juan Na Lin, Chun Ling Ye, Shuang Shuang Mao, and Yu Lin Li. 2014. "Xanthonones from *Swertia Mussotii* as Multitarget-Directed Antidiabetic Agents." *ChemMedChem* 9(7):1374–77.