UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Estudio *in-silico* sobre la interacción de la quercetina y sus derivados metabólicos con la maltasa glucoamilasa intestinal de humano (MGAM)

POR:

Q.F.B. LAURA EDITH RAMÍREZ MÁRQUEZ

TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO **DICIEMBRE 2021**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

Chihuahua, Chih., a 25 de octubre del 2021.
Oficio: 83/CA/SIP/21

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
P R E S E N T E

Los integrantes del comité, informamos a Usted que efectuamos la revisión de la tesis intitulada: **"Estudio in-silico sobre la interacción de la quercetina y sus derivados metabólicos con la maltasa glucoamilasa (MGAM) intestinal de humano",** presentada por la **Q.F.B. Laura Edith Ramírez Márquez**, alumna del programa de Maestría en Ciencias Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Después de la revisión, indicamos a la tesista las correcciones que eran necesarias efectuar y habiéndolas realizado, manifestamos que la tesis, de la cual adjuntamos un ejemplar, ha cumplido con los objetivos señalados por el Comité de Tesis, por lo que puede ser considerada como adecuada para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

A t e n t a m e n t e
"Por la ciencia para bien del hombre"

Dra. Luz María Rodríguez Valdez
Asesora de tesis

Dra. Linda Lucero Landeros Martínez
Asesora de tesis

Dra. María del Rosario Peralta Pérez
Asesora de tesis

Dr. Nestor Gutiérrez Méndez
Director de tesis

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARIA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

*El que suscribe certifica que las firmas que aparecen en esta acta, son auténticas, y las mismas que utilizan los C. Profesores mencionados.

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Circuito Universitario
Campus Universitario #2 C.P. 31125
Tel. +52 (614) 236 6000
Chihuahua, Chihuahua, México
http://www.fcq.uach.mx

24 de junio de 2021

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua

Estimado Dr. Ildebrando por medio de este conducto le informo que la **QFB Laura Edith Ramírez Márquez** estudiante de la maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos, ha concluido satisfactoriamente el escrito de tesis del trabajo "**Estudio in-silico sobre la interacción de la quercetina y sus derivados metabólicos con la maltasa glucoamilasa (MGAM) intestinal de humano**". Por lo que en mi carácter de Director de Tesis le liberó su escrito de tesis, para que sea turnado a los correspondientes asesores para comentarios, correcciones o retroalimentación.

En este trabajo de tesis participan los siguientes investigadores como sus asesores:
Dra. Luz María Rodríguez Valdez (FCQ-UACH)
Dra. Linda Lucero Landeros Martínez (FCQ-UACH)
Dra. María del Rosario Peralta Pérez (FCQ-UACH)

Sin otro particular quedo de usted

Atentamente,

D.C. NESTOR GUTIERREZ MENDEZ

Director de tesis

Este proyecto se realizó en el Laboratorio de Alimentos I de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. El autor del trabajo recibió beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), con el número de registro 916779.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme concluir esta etapa a pesar de los obstáculos presentados durante el proceso.

A mi director de tesis, el Dr. Néstor Gutiérrez Méndez, por darme la oportunidad de trabajar el proyecto, fue un nuevo reto sin duda. Por su paciencia y motivación para trabajar, y aunque no logré desarrollar todo lo previsto debido a circunstancias de pandemia y de salud, me apoyó para concluir este proyecto.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua por la oportunidad de formarme académicamente en el posgrado.

A mis asesoras, Dra. Luz María Rodríguez Valdez, Dra. Linda Lucero Landeros Martínez por sus conocimientos en el área de Química computacional, por su paciencia en enseñarme. A la Dra. Ma. del Rosario Peralta Pérez, por sus enseñanzas en el área experimental, por sus consejos y apoyo.

Al Dr. José Manuel Nápoles Duarte, por guiarme durante la clase computacional y al mismo tiempo, crear una interfaz en Colaboratory de Google, y gracias a eso fue posible realizar mis cálculos de docking molecular por este mismo medio.

A la M.C. Mayra Cristina Martínez por instruirme en las bases de los cálculos químico-cuánticos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca para el desarrollo de este proyecto.

Al Programa de Fortalecimiento Académico para Mujeres Indígenas becarias CONACYT, por los apoyos complementarios solicitados.

A mis compañeras del laboratorio, Carolina y Yanira, que me recibieron amablemente cuando llegué por primera vez al laboratorio, y sentirme bienvenida. Por su apoyo en todo momento, tanto académico como personal. Más que compañeras, son unas grandes amigas y bellas personas. Y también a Kevin y Víctor, hemos compartido conocimientos y anécdotas en el lab. Sin duda, me tocó estar en el mejor laboratorio.

A la Mtra. Leslie Elías, que ha sido una gran amiga mucho antes de venir a Chihuahua. Y estoy agradecida con Dios por tener la dicha de coincidir con ella.

A mi amiga Danya, a pesar de que estamos lejos siempre estamos apoyándonos una a la otra. Ha sido testigo de todas las aventuras y obstáculos que he pasado para lograr lo que me propongo.

A mis papás, años sin verlos, pero sé que tengo su apoyo incondicionalmente.

A mi amiga Arenis, se ha vuelto una gran amiga y mi compañera de cafés. Agradezco que ella y su bella familia me hayan sentido ser bienvenida, y, sobre todo, que hayan estado conmigo en los momentos difíciles.

También, a mis compañeras de maestría, que compartimos conocimientos en el proceso.

Estoy profundamente agradecida con todas las personas con las que he coincidido a lo largo de este camino.

ÍNDICE

RESUMEN……I
ABSTRACT……II
INDICE DE TABLAS……VI
INDICE DE FIGURAS……VII
INDICE DE ANEXOS……IX
LISTA DE ABREVIATURAS……X
1. INTRODUCCIÓN……1
2. ANTECEDENTES……2
2.1. Diabetes Mellitus……2
2.1.1. Generalidades……2
2.1.2. Tratamiento farmacológico……3
2.2. α-glucosidadas……4
2.2.1. Maltasa glucoamilasa intestinal (MGAM)……4
2.2.2. Estructura……5
2.2.3. Sitio activo……7
2.3. Inhibición de las α-glucosidasas……8
2.4. Inhibidores naturales de las α-glucosidasas……9
2.4.1. Polifenoles……9
2.4.2. Quercetina……12
2.4.3. Inhibición de α-glucosidasas por polifenoles……13
2.5. Metabolismo de los polifenoles en el sistema digestivo……15
2.6. Estudio in-silico de inhibidores de α-glucosidasas……18
2.6.1. Química computacional (generalidades)……18
2.6.2. Optimización geométrica de los sistemas moleculares……20
2.6.3. Acoplamiento (docking) molecular inhibidor-enzima……20
2.6.4. Estudio *in silico* de inhibidores de α-glucosidasas……22
3. JUSTIFICACIÓN……25
4. HIPÓTESIS……25
5. OBJETIVOS……25
5.1. Objetivo general……25
5.2. Objetivos particulares……25

6. MATERIAES Y MÉTODOS……..……..26
6.1. Metabolitos de quercetina usados en el estudio *in silico*…….....26
6.2. Optimización de la estructura electrónica de los metabolitos de quercetina…..…26
6.3. Propiedades moleculares de las estructuras optimizadas……..…….27
6.4. Acoplamiento molecular……..…..27
6.4.1. *Docking ciego*……..……28
6.4.2. *Docking rígido*……..……...29
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN……..……..……...30
7.1. Optimización geométrica de la acarbosa y metabolitos de la quercetina…..…..30
7.2. Propiedades electrónicas calculadas con DFT M06-2x/6-31G (d,p)……..…...35
7.2.1. Orbitales moleculares……..……..…….35
7.2.2. Propiedades moleculares de los sistemas químicos…….…..…..41
7.2.2.1. *Reactividad química global*……..……....41
7.2.2.2. *Reactividad química local*……..…44
7.2.3. Acoplamiento molecular de la MGAM-ligandos……..……48
7.2.3.1. Docking ciego……..……48
7.2.3.2. Docking rígido……..51
8. CONCLUSIONES……59
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……60
10. ANEXOS……..……69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros geométricos para el ácido 4-hidroxibenzico calculados en fase gas y los datos de difracción de rayos X del mismo compuesto……..……..….31

Tabla 2. Mapeo de orbitales moleculares HOMO y LUMO de la acarbosa y metabolitos de la quercetina calculados con DFT: M06-2X/6-31G (d,p)..……..36-38

Tabla 3. Valores de orbitales HOMO, LUMO y GAP de las estructuras analizadas. Todos los valores se encuentran en eV…….40

Tabla 4. Propiedades de reactividad química global DFT M06-2X/6-31G (d,p) calculadas con aproximación por energías. Todos los valores de reactividad se encuentran en eV……..……...42

Tabla 5. Descripción de reactividad local por la distribución de cargas Hirshfeld, Mulliken y NPA a través de las funciones de Fukui; sitios de ataque nucleofílico (f_k^+), ataque electrofílico (f_k^-)……..……...45

Tabla 6. Resultados del docking ciego entre la MGAM, la acarbosa y los metabolitos de la quercetina……..…….49

Tabla 7. Interacciones de la acarbosa y metabolitos de la quercetina frente al sitio activo de la MGAM obtenidas mediante un acoplamiento rígido……..…..52-53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dominios estructurales de la NtMGAM. Dominios individuales representados en colores……..……..…..6

Figura 2. Representación esquemática de enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre la acarbosa y residuos del sitio activo de NtMGAM……7

Figura 3. Estructura química de los fármacos inhibidores de las α-glucosidasas……...10

Figura 4. Diagrama esquemático de la hidrólisis enzimática de los oligosacáridos y la inhibición competitiva de la acarbosa en el borde de cepillo intestinal…….……10

Figura 5. Estructura general y las principales subclases de flavonoides……..11

Figura 6. Quercetina y glucósidos de quercetina…… ……12

Figura 7. Metabolismo esquemático de quercetina-4-O-glucósido en ratas después de su ingestión…….……..17

Figura 8. Vías de transformación de la quercetina por bacterias intestinales……..18

Figura 9. Representación esquemática de principales enfoques para acoplamiento molecular: a) cuerpo rígido; b) ajuste inducido……21

Figura 10. Ácido 4-hidroxibenzoico, estructura utilizada para validar los métodos teóricos. Analizada en el software Gaussian 09 con el método DFT, los funcionales híbridos B3LYP, PBE1PBE, M06 y M06-2X y el conjunto de base 6-31G(d,p)…… 30

Figura 11. Estructuras optimizadas con la metodología DFT: M06-2X/6-31G(d,p) y el método de solvatación IEFPCM usando como solvente agua……...33-34

Figura 12. Representación esquemática de reactividad local con diferentes distribuciones de cargas Hirshfeld (círculo azul), Mulliken (triángulo amarillo) y NPA (cuadro morado) a través de las funciones de Fukui; sitios de ataque nucleofílico (f_k^+), ataque electrofílico (f_k^-)……46-48

Figura 13. Posición de los ligandos optimizados con DFT: M06/6-31G (d,p) en la estructura de la enzima MGAM. a) MGAM de frente; b) MGAM detrás. Los recuadros señalan el sitio activo descrito por (Sim et al., 2008)……..……..50

Figura 14. Docking ciego entre la MGAM y los ligandos maltosa (café), el PNPG (rosa), y la acarbosa optimizada (azul). a) MGAM de frente; b) MGAM detrás. Los recuadros señalan el sitio activo descrito por (Sim et al., 2008)……50

Figura 15. Interacciones π y puentes de hidrógeno de la acarbosa en el sitio activo de la MGAM……..…54

Figura 16. Interacciones π y puentes de hidrógeno de los derivados ácidos en el sitio activo de la MGAM……..……..……55-56

Figura 17. Interacciones π y puentes de hidrógeno de la quercetina y los glucósidos de quercetina en el sitio activo de la MGAM……..……57

Figura 18. Interacciones moleculares entre los ligandos PNPG (a) y D-maltosa (b) frente al sitio activo de la MGAM, obtenidas mediante el acoplamiento molecular rígido……..……..58

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo I. Correlaciones obtenidas del método DFT y HF para el ácido 4-hidroxibenzoico……..……...…….69

Anexo II. Energía neutra, catiónica y aniónica de las estructuras moleculares calculadas con DFT M06-2X/6-31G (d,p)…….…..71

Anexo III. Análisis de la reactividad local de la acarbosa y los metabolitos de la quercetina a través de las Funciones de Fukui, empleando los esquemas de partición de cargas: Hirshfeld, Mulliken y NPA……..……...…72-91

Anexo IV. Conformaciones obtenidas del acoplamiento molecular rígido entre los ligandos y el sitio activo de la MGAM……...…92-94

LISTA DE ABREVIATURAS

% Porcentaje

°C Centígrados

Å Armstrong

d,p Doble polarizado

DFT Teoría Funcional de la Densidad

DM1 Diabetes Mellitus tipo 1

DM2 Diabetes Mellitus tipo 2

E0 Energía neutra

EA Energía aniónica

EC Energía catiónica

eV Electrovoltios

f_k^+ Ataque nucleofílico

f_k^- Ataque electrofílico

HF Hartree Fock

HOMO Orbital ocupado de más alta energía

Ki Constante de inhibición

LUMO Orbital desocupado de más baja energía

mg Miligramos

MGAM Maltasa glucoamilasa Intestinal

Min Minutos

mL Mililitros

mM Milimolar

PDB Protein Data Bank

pH Potencial de hidrógeno

P-NPG 4-nitrofenil-β-D-glucopiranósido

uL Microlitros

6-31G (d,p) Conjunto de base (6 gausianas del core, 3 gausianas para orbitales de valencia internas, 1 gausiana de valencia externa). Doble polarizado

RESUMEN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) es un trastorno metabólico caracterizado por la deficiencia y resistencia de insulina. El control de la hiperglucemia postprandial es uno de los principales objetivos del tratamiento de la DM2. Existen estudios que sugieren que la ingesta de polifenoles tiene el potencial de reducir los niveles de glucosa en sangre. Se ha reportado que la quercetina y algunos de sus metabolitos como la rutina y el quercitrin inhiben la actividad de la α-glucosidasa intestinal *in vitro*, por tanto, poseen un potencial antidiabético actuando de manera similar que el fármaco acarbosa. Con base en tales resultados, se genera la hipótesis de que el flavonol quercetina y sus metabolitos pueden presentar una inhibición competitiva sobre la enzima α-glucosidasa (maltasa glucoamilasa, MGAM). Estos podrían funcionar como una nueva alternativa de tratamiento para la DM2. Siendo entonces de gran importancia, el estudio teórico de las interacciones moleculares entre ambos compuestos y cuyos resultados permitirán un análisis detallado del posible mecanismo de acción de estos compuestos como tratamiento alternativo. Este trabajo reporta un estudio del modelado molecular y la caracterización computacional del fármaco acarbosa, el flavonol quercetina y sus metabolitos. Mediante la dureza química (η), que es una propiedad global del sistema, se definió que la quercetina tiene mayor facilidad de modificar su configuración electrónica en presencia del sitio activo de la MGAM. Una vez analizados los ligandos a un nivel químico-cuántico, se llevó a cabo el acoplamiento molecular de la acarbosa, la quercetina y sus metabolitos con la MGAM. Obteniendo resultados como: puentes de hidrógeno, interacciones π-π y energías de enlace, donde la rutina mostró un bajo valor de energía de enlace en el acoplamiento con la MGAM. En conclusión, los metabolitos más cercanos a la estructura original de la quercetina son los que tuvieron la mayor afinidad e interacción con el sitio activo de la MGAM humana. Lo que indica que los metabolitos más degradados o alejados de la estructura original de la quercetina tienen baja posibilidad de funcionar como inhibidores de la MGAM.

Palabras clave: inhibición, quercetina, metabolitos, maltasa glucoamilasa, diabetes mellitus.

ABSTRACT

Type 2 Diabetes Mellitus (DM2) is a metabolic disorder characterized by insulin deficiency and resistance. Control of postprandial hyperglycemia is one of the main objectives of DM2 treatment. Studies suggest that polyphenol intake has the potential to reduce blood glucose levels. Quercetin and its metabolites such as rutin and quercitrin have been reported to inhibit intestinal α-glucosidase activity *in vitro*, thus possessing an antidiabetic potential acting similarly as the drug acarbose. Based on such results, it is hypothesized that flavonol quercetin and its metabolites may present a competitive inhibition on intestinal α-glucosidase maltase-glucoamylase (MGAM). These could function as a new treatment alternative for DM2. Therefore, a theoretical study of the molecular interactions between these compounds is important, and the results will allow a detailed analysis of the possible mechanism of action of these compounds as an alternative treatment. The results will allow a detailed analysis of the possible mechanism of action of these compounds as an alternative treatment. This work reports the study of the molecular modeling and computational characterization of the drug acarbose, the flavonol quercetin, and its metabolites. Through chemical hardness (η), which is a global property of the system, it was defined that quercetin has a greater facility to modify its electronic configuration in the presence of the MGAM active site. Once the ligands were analyzed at a chemical-quantum level, the molecular coupling of acarbose, quercetin, and its metabolites with MGAM was carried out. Obtaining results such as hydrogen bonds, π-π interactions, and binding energies, where rutin showed a low value of binding energy in the coupling with MGAM. In conclusion, the metabolites closest to the original structure of quercetin are the ones that had the highest affinity and interaction with the active site of human MGAM. This indicates that the metabolites more degraded or far from the original structure of quercetin have a low possibility to function as MGAM inhibitors.

Keywords: inhibition, quercetin, metabolites, maltase-glucoamylase, diabetes mellitus.

1. INTRODUCCIÓN

La inhibición de la maltasa glucoamilasa intestinal (MGAM) disminuye la absorción de carbohidratos a nivel intestinal. Por lo tanto, los inhibidores de la MGAM, tales como el miglitol o la acarbosa, son ampliamente utilizados por los pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Hoy en día, hay un mayor número de estudios relacionados con las plantas antidiabéticas como fuente alternativa de inhibidores de la MGAM. Se han identificado diferentes compuestos de plantas antidiabéticas como inhibidores efectivos de la MGAM. Por ejemplo, Benalla y colaboradores describen en su revisión 47 especies de plantas pertenecientes a 29 familias con una actividad inhibitoria probada sobre las α-glucosidasas (Benalla et al., 2010). Algunos de estos compuestos son alcaloides, fitosterol, mioinositol, glucósidos de acetofenona, derivados de glucopiranósido y una amplia variedad de polifenoles. En referencia a los polifenoles, los estudios *in vitro* han demostrado que los extractos de plantas ricos en polifenoles pueden inhibir la MGAM. Los polifenoles más comunes reportados como inhibidores de las α-glucosidasas son los ácidos fenólicos, catequinas y los flavonoides (glicosilados o no) (Honda & Hara, 1993; Kwon et al., 2008; Loizzo et al., 2016; Yilmazer-Musa et al., 2012). Sin embargo, estos estudios asumen que después de la ingestión de infusiones herbáceas, los polifenoles de estas plantas logran llegar intactos hasta las MGAM situadas en el intestino delgado, y logran inhibirlas. No obstante, existe una gran evidencia de que la mayoría de los polifenoles se degradan en el estómago y en el intestino delgado. Por lo tanto, es probable que las α-glucosidasas intestinales como la MGAM sean inhibidas por metabolitos o fragmentos de polifenoles en lugar de por los polifenoles originalmente presentes en la planta. Por lo tanto, la presente tesis tiene por objetivo evaluar *in silico* el efecto inhibitorio de un flavonoide completo (quercetina) y sus metabolitos derivados de este flavonoide en la MGAM. Esta información permitirá entender mejor el impacto de los polifenoles sobre las alfa-glucosidasas intestinales.

2. ANTECEDENTES

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Generalidades

La Diabetes Mellitus es una afección crónica que ocurre cuando el cuerpo no puede producir la hormona insulina, produce una cantidad insuficiente o la insulina es ineficaz. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia o aumento de glucosa en la sangre (OMS, 2018; IDF, 2019). En el 2019, se reportó que 351.7 millones de personas en edad activa (20-64 años) tienen diabetes diagnosticada o sin diagnosticar. Se prevé que aumente a 417.3 millones para el 2030, y 486.1 millones para el 2045. Por otro lado, México ocupa el sexto lugar a nivel mundial con 12.8 millones de personas que padecen diabetes, después de China, India, Estados Unidos, Pakistán y Brasil. Se estima que para el 2030 la cifra aumente a 17.2 millones de casos, y para el año 2045, México cuente con 22.3 millones de personas con diabetes (IDF, 2019).

Existen dos principales tipos de diabetes, la diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) y la diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). La DM1 también llamada insulinodependiente, se caracteriza por la destrucción de las células beta del páncreas que genera un déficit absoluto de insulina. La DM2 es la más común, representa el 90% de los casos en el mundo. Este tipo de diabetes es causado por un proceso de resistencia a la insulina y genera un déficit progresivo de su secreción. Las causas de la DM2 no se entienden completamente, pero se cree que existe un fuerte vínculo entre la diabetes y el sobrepeso, obesidad, edad, origen étnico, hipertensión, factores genéticos y la historia familiar (Barquilla, 2017; IDF, 2019; OMS, 2018; Pérez, 2016).

Durante los últimos años y gracias al avance tecnológico, se sabe que la diabetes no controlada conduce gradualmente al daño de muchos órganos y sistemas del cuerpo, especialmente lesión de los nervios y los vasos sanguíneos. Existen muchas complicaciones graves de la DM2 que son causa de alta morbimortalidad, sobre todo debidas a enfermedades del sistema cardiovascular (OMS, 2018; Valdés Ramos & Camps Arjona, 2013).

El diagnóstico clínico de la DM2 consta de exámenes de sangre, las cuales consisten en la medición de la hemoglobina glucosada (HbA1c), glicemia basal (GB) en ayunas, y prueba de tolerancia oral de glucosa. Estas pruebas son relativamente económicas (Barquilla, 2017; OMS, 2018).

2.1.2. Tratamiento farmacológico

La Diabetes es una enfermedad crónica, progresiva, y su tratamiento implica intervenciones multifactoriales. Por ejemplo, un plan alimenticio, mejora de la actividad física y la prescripción de medicamentos enfocados en un adecuado control de factores de riesgo como la hiperglucemia, dislipidemia, hipertensión arterial y el tabaquismo (IMSS, 2018; Tundis, Loizzo & Menichini, 2010). El tratamiento de la diabetes está dirigido a controlar los niveles de glucemia, mejorar la calidad de vida, y prevenir complicaciones agudas y crónicas. El tratamiento es individualizado, teniendo en cuenta los aspectos fisiopatológicos como la edad, evolución de la diabetes, complicaciones, comorbilidades y preferencias del paciente. Sin embargo, se sugiere en muchos casos la terapia combinada, la cual puede ser esencial para un mejor control glucémico (Alonso et al., 2015; García, Meaney, Vargas, Pulido & Aldrete, 2011).

Para el control de la hiperglucemia, los medicamentos orales más usados son las sulfonilureas y las meglitinidas. Estos fármacos aumentan la secreción de insulina desde el páncreas. Las biguanidas (como la metformina) y tiazolidinedionas disminuyen la producción hepática de glucosa. Mientras que los análogos del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y los inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DDP4) incrementan la secreción de insulina y suprimen la secreción de glucagón. Finalmente, los inhibidores de α-amilasa y α-glucosidasa retrasan la absorción de glucosa procedente de los alimentos (Alonso et al., 2015; Casal Domínguez & Pinal-Fernandez, 2014; IDF, 2019; Reyes, Pérez, Alonso, Ramírez & Jiménez, 2016).

2.2. α-glucosidasas

2.2.1. Maltasa glucoamilasa intestinal.

La descomposición de glucosa de los almidones y azúcares en la dieta del ser humano se realiza por dos α-amilasas y cuatro α-glucosidasas. Los almidones son una de las principales fuentes de energía para los humanos y otros mamíferos. La digestión de los almidones inicia con la hidrólisis producida por la α-amilasa salival y pancreática. Este paso produce maltosa, maltotriosa y otros poliglucanos α-1,6 y α-1,4. La maltosa es hidrolizada en el intestino delgado por las enzimas maltasa-glucoamilasa (MGAM; EC 3.2.1.20 y 3.2.1.3) y sacarasa-isomaltasa (SI; EC 3.2.148 y 3.2.10). Ambas enzimas están compuestas de dominios catalíticos duplicados, un dominio luminal C-terminal (CtMGAM y CtSI), y un dominio proximal de membrana N-terminal (NtMGA y NtSI). *In vivo*, la MGAM tiene mayor actividad que la SI, aunque la SI es más abundante (Diaz-Sotomayor et al., 2013; Lin, Hamaker & Nichols, 2012; Nichols et al., 2009; Ren et al., 2011; Sim et al., 2008, 2010).

La maltasa glucoamilasa humana (MGAM) es una de las dos enzimas responsables de catalizar el último paso de la liberación de glucosa en la digestión del almidón. La MGAM está anclada a las células epiteliales del borde en cepillo del intestino delgado. Esta enzima contiene dos subunidades catalíticas homólogas de la familia de 31 glicosil hidrolasa: una subunidad N-terminal (NtMGAM) encontrada cerca de la membrana y una subunidad luminal C-terminal (CtMGAM) (Sim et al., 2008). La MGAM hidroliza sustratos de oligosacáridos ligados a cadenas lineales de glucosa (α-1,4). Por lo tanto, esta α-glucosidasa junto con la SI son las responsables de la liberación de glucosa en el intestino delgado, en donde será absorbida y transportada hasta llegar a la sangre. La inhibición de la MGAM es por tanto una ruta terapéutica en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad (Jones et al., 2011; Pyner, Nyambe & Williamson, 2017; Ren et al., 2011; Sim et al., 2010).

2.2.2. Estructura de la MGAM

La MGAM se ha aislado del borde de las vellosidades intestinales y/o renales de humanos, conejos, caballos, cerdos, ratas, ratones y pollos (Van Beers, Büller, Grand, Einerhand &, 1995). Una investigación reciente con anticuerpos monoclonales reveló que el peso molecular de la MGAM humana es de aproximadamente 335,000 Da, esta enzima no sólo es mucho más grande a comparación de las otras especies, sino que existe únicamente como una forma molecular única (Hauri, Sterchi, Bienz, Fransen & Marxer, 1985; Lee & Hamaker, 2018).

Los estudios de estructura atómica por cristalografía realizados por Sim y colaboradores en el 2008, revelaron que la subunidad NtMGAM está compuesta de 868 residuos y se divide en cinco dominios estructurales principales: dominio trébol tipo P (residuos 1-51); dominio β-sándwich N-terminal (residuos 52-269); dominio de barril catalítico $(\beta/\alpha)_8$ (residuos 270–651) con dos bucles insertados (1, 367-416; 2, 477-492) que sobresale entre β_3 y α_3 y entre β_4 y α_4, respectivamente; dominio proximal C-terminal (residuos 652-730); y un dominio distal C-terminal (residuos 731-868), ambos con topologías β-sandwich (Ver Figura 1) (Sim et al., 2008).

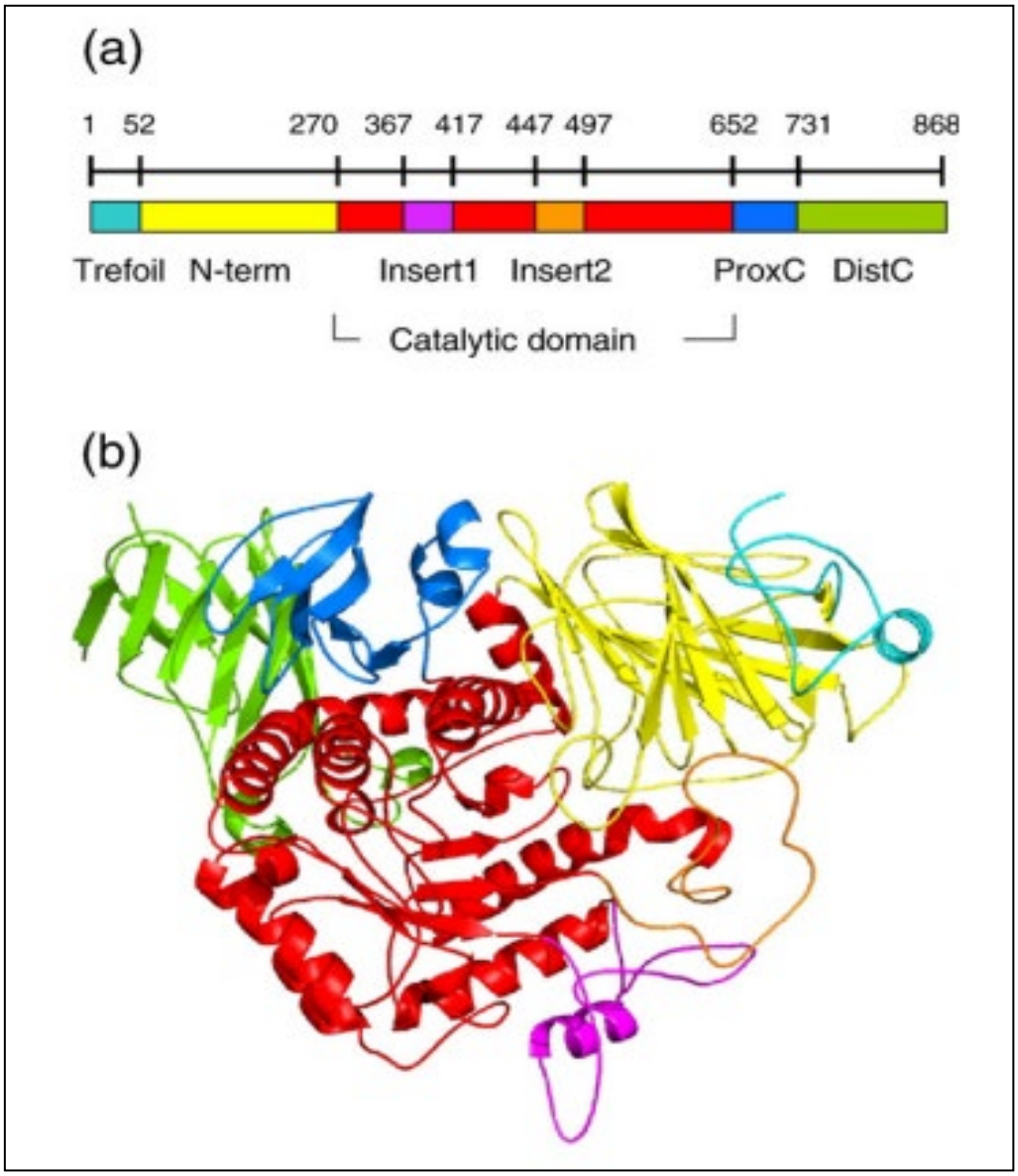


Figura 1. Dominios estructurales de la NtMGAM. Dominios individuales representados en colores: dominio trébol tipo P (azul celeste), dominio N-terminal (amarillo), dominio catalítico $(\beta/\alpha)_8$ (rojo), dominio catalítico inserto 1 (púrpura), dominio catalítico inserto 2 (naranja), dominio C-terminal proximal (azul), dominio C-terminal distal (verde) (Sim et al., 2008).

2.2.3. Sitio activo de la MGAM

De acuerdo con los resultados del estudio de cristalografía de la MGAM en complejo con la acarbosa (un pseudo-tetrasacárido), Sim y colaboradores en el 2008, sugieren que el sitio activo está conformado por cadenas β del dominio catalítico $(\beta/\alpha)_8$ y bucles del dominio N-terminal, inserto 1 y 2. La mayoría de los residuos que interactúan con el subsitio -1 son originados a partir del dominio de barril $(\beta/\alpha)_8$, los cuales implican enlaces de hidrógeno a través de los amino ácidos Asp327, Asp542, His600 y Arg526. Además, los residuos adicionales que recubren el sitio de unión de la acarbosa son Asp443, Try299, Ile328, Ile364, Trp441 y Met444. Mientras que el subsitio +1 se sostiene a través de enlaces de hidrógeno con Asp542 y Arg526 procedentes del dominio de barril $(\beta/\alpha)_8$, y por el residuo Asp203 originado en el bucle del dominio N-terminal (residuos 200-217); así como por los residuos hidrofóbicos del inserto 1 (Trp406) y del inserto 2 (Phe405) en el subsitio +1 (Ver Figura 2) (Sim et al., 2008, 2010).

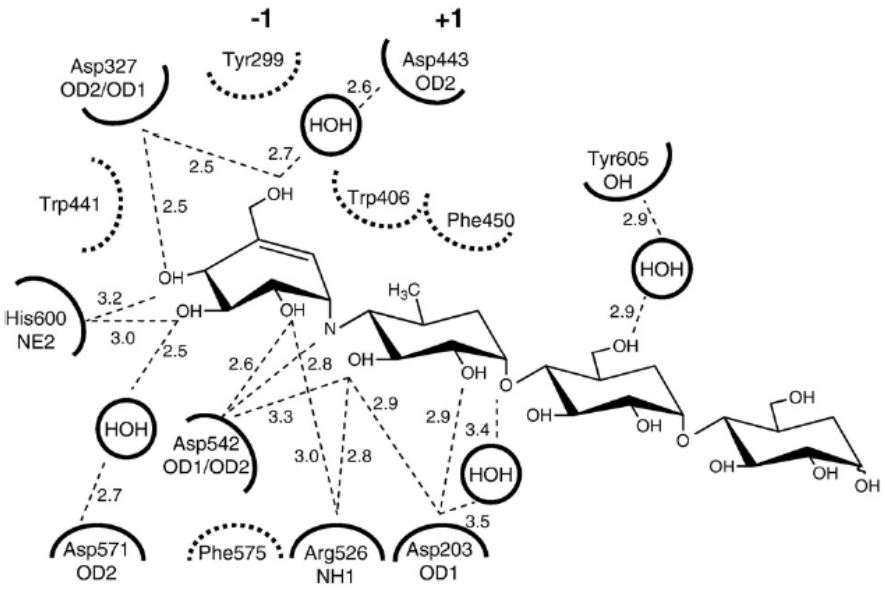


Figura 2. Representación esquemática de enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas entre la acarbosa y residuos del sitio activo de MGAM (Sim et al., 2008).

2.3. Inhibición de las α-glucosidasas

La inhibición de las α-glucosidasas intestinales, pueden contribuir a reducir significativamente el aumento postprandial de glucosa en sangre. Por lo que su inhibición puede ser una estrategia importante en el tratamiento terapéutico de la diabetes mellitus tipo 2, DM2 (Tundis et al., 2010). El uso de los inhibidores de α-glucosidasa comenzó en la década de 1970, y en 1990 fueron aprobados como medicamentos terapéuticos para la DM2 y pronto se convirtieron en los medicamentos de primera línea para esta enfermedad. Hoy en día, los inhibidores de α-glucosidasa más recetados (Figura 3) son los polisacáridos acarbosa (Bayer), miglitol (Bayer), y voglibosa (Takeda). Estos compuestos retrasan el índice de digestión de los carbohidratos, disminuyendo así la hiperglucemia postprandial. El mecanismo de acción es mediante una inhibición competitiva de las α-glucosidasas intestinales ubicadas en el borde de las vellosidades de la mucosa intestinal (Figura 4). En otras palabras, la acarbosa, el miglitol y la voglibosa impiden que las α-glucosidasas escindan sus sustratos polisacáridos en monosacáridos para su posterior absorción (Divins, 2009; Hakamata et al., 2009; Ortiz-Andrade, 2012; Proença et al., 2017).

La acarbosa es un producto natural producido por la fermentación de *Actinoplanes sp.* La acarbosa es un pseudotetrasacárido con un ciclitol insaturado [2,3,4-trihidroxi-5-(hidroximetil)- 5,6-ciclohexeno en una D-glucosa] unido a un nitrógeno de una 4-amino-4,6-dideoxi-D-glucopiranosa, misma que se une a una maltosa por un enlace α-(1,4) (Tundis et al., 2010). Es importante mencionar que la acarbosa es el inhibidor de α-glucosidasas más estudiado. Por lo tanto, es el compuesto que más se ha utilizado como monoterapia o en terapia combinada. La acarbosa suele ser administrada con las comidas para disminuir los picos de hiperglicemia. Generalmente los pacientes inician con dosis bajas de 5mg/día. El uso de la acarbosa ha presentado buenos resultados en pre-diabéticos y en la reducción de la frecuencia de eventos cardiovasculares. Sin embargo, este fármaco produce efectos secundarios derivados de la fermentación de carbohidratos no digeridos por las α-glucosidasas. Esta fermentación producida por las bacterias intestinales produce flatulencias, diarreas, dolor abdominal, náuseas, acidosis láctica. Además, cuando la acarbosa se combina

con secretagogos puede producir hipoglucemia, y si la acarbosa se administra en altas dosis produce hepatotoxicidad. Por lo tanto, los pacientes se ven obligados a abandonar el tratamiento (Del Olmo, Carrillo & Aguilera, 2008; Rodríguez et al., 2017; Yero et al., 2011).

2.4. Inhibidores naturales de las α-glucosidasas

2.4.1. Polifenoles

En la naturaleza existe una gran variedad de compuestos que se caracterizan por tener al menos un anillo aromático unido con uno o más grupos hidroxilos (compuestos fenólicos). Más de 8000 estructuras fenólicas han sido reportadas. Los polifenoles se originan en las plantas las cuales los sintetizan en gran cantidad como producto de su metabolismo secundario. Estos compuestos son esenciales en la fisiología de las plantas y participan en sus mecanismos de defensa ante situaciones de estrés y agentes externos (Bravo, 2009; Crozier, Jaganath & Clifford, 2009; Quiñones, Miguel & Aleixandre, 2012; Yang, Liam & Yu, 2015). La cantidad de compuestos fenólicos en las plantas depende de muchos factores como clima, madurez, tipo de suelo, procesamiento, etc. (Valencia Avilés et al., 2017).

Los polifenoles se presentan en abundancia en diversas frutas, en el té verde, té negro, café, vino, chocolate, aceites, así como en gran variedad de plantas y flores comestibles (Kang et al., 2019; Parkar, Stevenson & Skinner, 2008; Tundis et al., 2010). A pesar de que no se consideran como nutrientes, son componentes importantes en la dieta humana. En los últimos años se ha teorizado que una dieta rica en polifenoles puede mejorar la salud, así como disminuir la incidencia de enfermedades. Estas debido a que algunos polifenoles han demostrado tener actividad antioxidante, antiinflamatoria, antitrombótica, antineoplásica, anticancerígena, antidiabética, entre otras (Brodowska, 2017; Courts & Williamson, 2015; Del Rio et al., 2013; Lim, 2019; Quiñones et al., 2012).

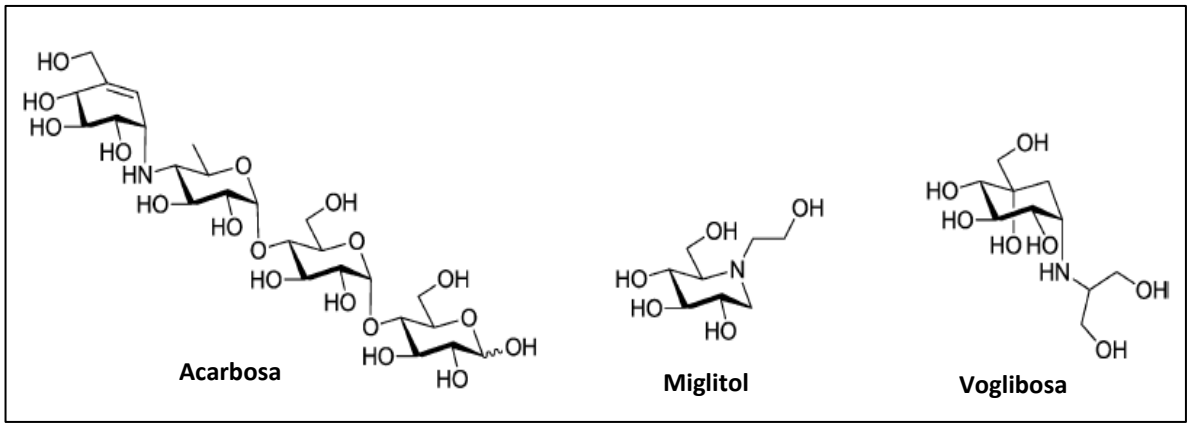


Figura 3. Estructura química de los fármacos inhibidores de las α-glucosidasas (Yang et al., 2015).

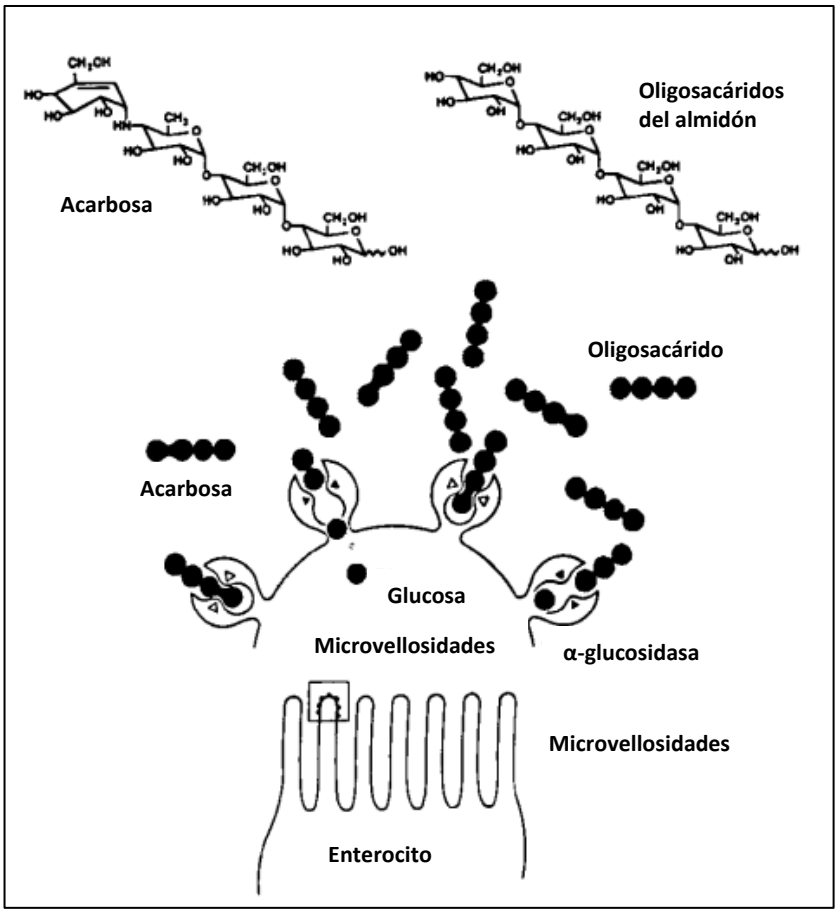


Figura 4. Diagrama esquemático de la hidrólisis enzimática de los oligosacáridos y la inhibición competitiva de la acarbosa en el borde de cepillo intestinal (Bischoff, 1994).

Los polifenoles se clasifican en flavonoides y no flavonoides. Los compuestos no flavonoides incluyen los ácidos fenólicos y los estilbenos, mientras que las principales subclases de flavonoides comprenden flavonoles, antocianinas, flavanonas, flavonas, flavanos, flavanoles, chalconas e isoflavonoides. La estructura básica de los flavonoides es un cuadro de 2-fenil-benzo-γ- pirona formado por dos anillos de fenilo (A y B), unidos con un anillo de pirona heterocíclico (C). Esta estructura puede tener numerosos sustituyentes, aunque la mayoría de los flavonoides se encuentran naturalmente como O-glucósidos con restos de azúcar (Figura 5) (Brodowska, 2017; Crozier et al., 2009; Del Rio et al., 2013; Yang et al., 2015).

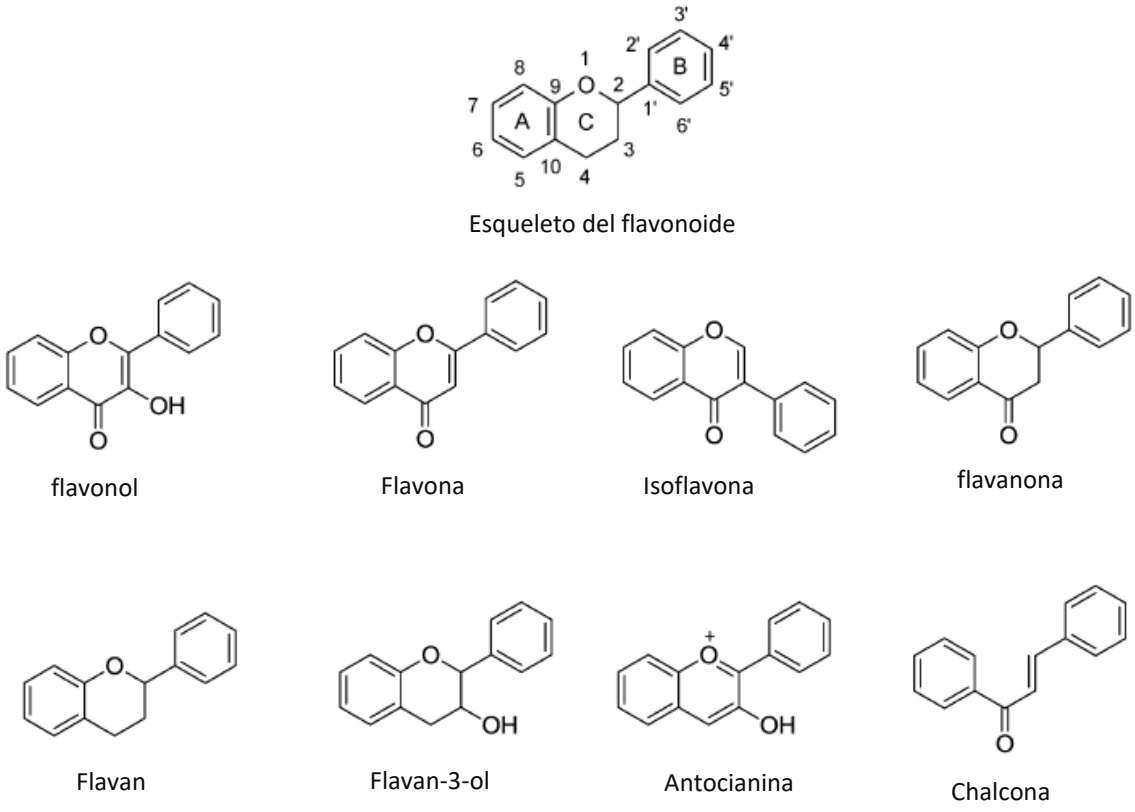
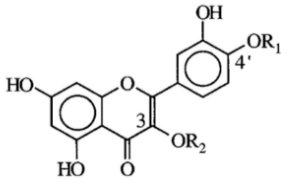


Figura 5. Estructura general y las principales subclases de flavonoides (Crozier et al., 2009; Yang et al., 2015).

En los flavonoides, el resto de azúcar unido a su estructura (glucosa, xilosa, arabinosa, galactosa, ramnosa, y ácidos glucorónicos) tienen lugar típicamente en el C-3 pero también puede estar en la posición C-5, C-7, C'3 y C'4 (Figura 5) (Crozier et al., 2009). Los flavonoides son metabolitos secundarios capaces de inducir síntesis de enzimas protectoras, y diferentes actividades de interés farmacológico. Muchas de estas propiedades están relacionadas con la presencia de sus grupos -OH, por lo que desempeñan un rol importante en la eficacia terapéutica (Kumar & Pandey, 2013; Ortega et al., 2018).

2.4.2. Quercetina

Uno de los flavonoides más comunes y uno de los más estudiados es la quercetina. Este flavonol está presente en plantas, frutas, y verduras, tales como la cebolla, manzana, uvas, té verde, ajo, entre otros alimentos. La quercetina se puede encontrar como quercetina 4-monoglucósido y quercetina 3,4'-diglucósido (Figura 6) (Lim et al., 2019; Walle, T., Otake, Walle, U., & Wilson, 2000). Entre las actividades biológicas atribuidas a la quercetina destacan sus propiedades antioxidantes, vasodilatadoras, analgésicas, antibacterianas. Además, diversos estudios han indicado que la quercetina reduce los riesgos de complicaciones asociadas a la diabetes mellitus tipo 2 al regular los niveles de glucosa y protegiendo las células β del páncreas (Larson, Symons & Jalili, 2012; Shi et al., 2019).



	R_1	R_2
Quercetin	H	H
Quercetin 4'-monoglucoside (QMG)	D-glucose	H
Quercetin 3,4'-diglucoside (QDG)	D-glucose	D-glucose

Figura 6. Quercetina y glucósidos de quercetina (Walle et al., 2000).

2.4.3. Inhibición de α-glucosidasas por polifenoles

En los últimos años, muchos estudios se han centrado en descubrir, de fuentes naturales, inhibidores de la α-glucosidasa alternativos a la acarbosa. Los medicamentos herbolarios se recetan en todo el mundo debido a su menor efecto secundario y su bajo costo. Se ha comprobado científicamente su efectividad como agentes hipoglucemiantes. Benalla et al. (2010), Tundis et al. (2010) , así como Yin, (2014) han revisado extensamente numerosos estudios que involucran a una amplia variedad de plantas como inhibidores de α-glucosidasa. En ambas revisiones resalta que la mayoría de los extractos de plantas pueden inhibir *in vitro* la actividad de estas enzimas; no obstante, estos extractos producen una inhibición menor a la acarbosa o el miglitol. A diferencia de la acarbosa, el miglitol, y la voglibosa, los compuestos de las plantas que inhiben a las α-glucosidasas no son azúcares. Algunos de los inhibidores de α-glucosidasas identificados en las plantas son: alcaloides, fitosterol, mioinositol, glucósidos de acetofenona, derivados de glucopiranósidos, y una amplia variedad de polifenoles.

En los últimos años, se ha investigado la posible inhibición de la α-glucosidasa por polifenoles, como una alternativa a los tratamientos farmacéuticos para el control y reducción de riesgo de la diabetes tipo 2 (Pyner et al., 2017). Los polifenoles son los componentes de los extractos de plantas frutos y flores más frecuentemente asociados con la inhibición de α-glucosidasas. Por ejemplo, el ácido caféico, el ácido gálico, el ácido protocatecuico, las catequinas, las flavinas, la rubigina y el ácido tánico se han relacionado con el efecto inhibitorio que produce el té negro sobre las α-glucosidasas. Similarmente, la rutina, la quercetina, luteolina, apigenina, kaempferol y el disacárido rutinosa (α-L-ramnopiranosil-(1→6)-β-D-glucopiranosa) de flores comestibles se han correlacionado positivamente con la inhibición de α-glucosidasas (Ademiluyi et al., 2015; Honda & Hara, 1993; Jo et al., 2009). La rutina, la quercetina y el ácido gálico han mostrado mejor actividad de inhibición en comparación con la acarbosa, según su IC_{50} (concentración que inhibe el 50% de la actividad). Los ensayos enzimáticos reportan que los compuestos fenólicos a distintas concentraciones presentan una inhibición competitiva hacia las α-glucosidasas, cuando se usa el 4-nitrofenil-β-D-

glucopiranósido (p-NPG) como sustrato (Limanto, Simamora, Santoso & Timotius, 2019). Por otro lado, se estima que la combinación de flavonoides con acarbosa produce un efecto sinérgico. Es decir, se inhiben las α-glucosidasas con una menor concentraciones de acarbosa y polifenoles (Zhang et al., 2017) .

Desde otra perspectiva, Pyner et al. (2017), realizaron un estudio para evaluar la inhibición de α-glucosidasa humana y de rata, utilizando polifenoles como galato de epigalocatequina (EGCG), en el cual pudieron demostrar que los polifenoles tienden a actuar de la misma manera que la acarbosa, destacando que la fuente de α-glucosidasas impacta en la inhibición resultante (Pyner et al., 2017). Del mismo modo, Mendoza (2019), realizó un estudio *in vitro* sobre el efecto de sacáridos y polifenoles de estigmas de dos especies de maíz sobre su capacidad de inhibir las α-glucosidasas intestinales de rata y cerdo. Dichos autores reportaron que, al utilizar las mismas concentraciones (1-150 mM), los porcentajes de inhibición (IC_{50}) mostraban variaciones dependiendo de la naturaleza de la enzima.

Del mismo modo, se ha estudiado el efecto inhibitorio de diversos compuestos naturales sobre las α-glucosidasas. Alvarado-Díaz et al. (2019), evaluaron el efecto de sacáridos y compuestos fenólicos extraídos de estigmas de maíz sobre la actividad de α-glucosidasas intestinales. En este estudio se describe que, los flavonoides presentaron mayor afinidad al sitio activo de la enzima (NtMGAM) (Alvarado-Díaz et al., 2019). Por otra parte, el ácido gálico, la quercetina y la rutina, así como otros grupos de flavonoides se han estudiado sobre α-glucosidasas de *Saccharomyces cerevisiae.* A partir de estos y otros estudios, se ha llegado a establecer que el número y la posición de los grupos -OH son factores que determinan la eficacia de la inhibición de α-glucosidasa. Además, se sugiere que los compuestos fenólicos tienen el potencial de ser utilizados como alternativa para el control de la hiperglucemia postprandial (Limanto et al., 2019; Proença, Freitas, Ribeiro, Oliveira, Sousa, Tomé, Ramos, Silva, Pedro, et al., 2017).

2.5. Metabolismo de los polifenoles en el sistema digestivo

El tracto gastrointestinal humano alberga trillones de microorganismos conocidos colectivamente como microbiota intestinal. Esta comunidad microbiana realiza muchas funciones vitales en el cuerpo humano, incluyendo la digestión y absorción de nutrientes (Wu et al., 2019). Más aún, la microbiota intestinal genera una amplia gama de enzimas capaces de hidrolizar glucósidos, glucorónidos, sulfatos, amidas, ésteres, y lactonas. Otras reacciones catalizadas por las enzimas de la microbiota intestinal son la escisión de anillos aromáticos, reducción, descarboxilación y dihidroxilación de una amplia variedad de moléculas (Duda-Chodak et al., 2015).

La mayoría de los polifenoles están presentes en los alimentos como ésteres, glucósidos o polímeros, lo que dificulta su absorción. Prácticamente todos los flavonoides, a excepción de los flavanoles, tienen formas glucosiladas (Quiñones et al., 2012). La absorción de los polifenoles se lleva a cabo principalmente en el intestino delgado. Los flavonoides que no se pueden absorber directamente en el intestino delgado son degradados por la microbiota intestinal produciendo ácidos fenólicos e hidroxicinamatos. Estos compuestos pueden ser absorbidos y luego pasar por procesos de detoxificación metabólica que aumentan su hidrosolubilidad y facilita su excreción vía urinaria. De hecho, estos últimos resultan ser más abundantes que los metabolitos que ingresaron al sistema circulatorio a través del intestino delgado (Crozier et al., 2009; Day et al., 2000; Del Rio et al., 2013; Jaganath et al., 2006).

La concentración de metabolitos de polifenoles en el plasma difiere dependiendo de su estructura y del tipo de alimento que los contenía. Sin embargo, se ha detallado que la estructura química de los polifenoles, más que su concentración, determina el grado de absorción. Además, los polifenoles más comunes en la dieta no son necesariamente los que producen una mayor concentración de metabolitos activos en los tejidos, debido a que al no ser absorbidos son altamente metabolizados y/o rápidamente excretados (Manach et al., 2004; Quiñones et al., 2012). Por consiguiente, se estima que sólo del 5 al 10% de la ingesta total de polifenoles es absorbido en el intestino delgado, y, en consecuencia, la comunidad microbiana

intestinal degrada la mayoría de los polifenoles (Wu et al., 2019).

La quercetina es uno de los flavonoides más estudiados debido a su alta presencia en muchos alimentos. Se han llevado a cabo estudios en ratas y humanos para describir cómo se metaboliza este polifenol. Diversos estudios han demostrado que la quercetina puede absorberse a nivel intestinal pero sus glucósidos no, es decir, los glucósidos de quercetina son hidrolizados por la enzima lactasa-floricina hidrolasa (LPH) antes de ser absorbidos. Mientras que la aglicona de la quercetina se absorbe intacta (Larson et al., 2012). Por lo tanto, después de la ingestión, la quercetina (y la mayoría de los glucósidos flavonoides) es transportada al interior de los enterocitos por un transportador de glucosa dependiente de sodio. La desglicosilación de la quercetina ocurre en el lumen del intestino delgado mediante la β-glucosidasa citosólica (CBG) o lactasa-floricina hidrolasa (LPH). Se ha reportado que la desglicosilación parcial de la quercetina, kaempferol isoramnetina, apigenina, luteolina y crisoeriol tiene lugar en el estómago. Además, se ha descrito que la quercetin-3-O-rutinósido es desglicosada en el colon por la α-ramnosidasa bacteriana y la β-glucosidasa (Gee et al., 1998; Spencer & Crozier, 2012). De acuerdo con Walle et al. (2000), la desglicosilación los mono y diglucósidos de quercetina es necesaria para que estos flavonoides puedan ser absorbidos en el intestino delgado. De lo contrario, los glucósidos flavonoides no hidrolizados pasan al tracto digestivo inferior, donde están sujetos a la acción de enterobacterias residentes. Estos estudios exponen que la quercetina se degrada después de la ingestión en el estómago, el duodeno, el yeyuno, el íleon, el ciego y el colon (Figura 7) (Spencer & Crozier, 2012).

Según diferentes autores, la transformación de quercetina por bacterias intestinales puede conducir a diferentes metabolitos como: rutina, quercetina 3-O-glucósido, quercetina 3,4´-O-diglucósido, quercetina 4´-O-glucósido, quercitrina, quercetina, ácido 3- (3,4-dihidroxifenil) -propiónico, ácido 3,4 dihidroxifenilacético, ácido 3- (4-hidroxifenil)-propiónico, ácido 3-(3-hidroxifenil)-propiónico, 3-metoxi-4-hidroxifenilacético ácido, ácido 2-hidroxifenilacético, ácido fenilacético, ácido 3-

hidroxifenilacético, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido protocatechuico, ácido 4-hidroxibenzoico y ácido hipúrico (Duda-Chodak et al., 2015).

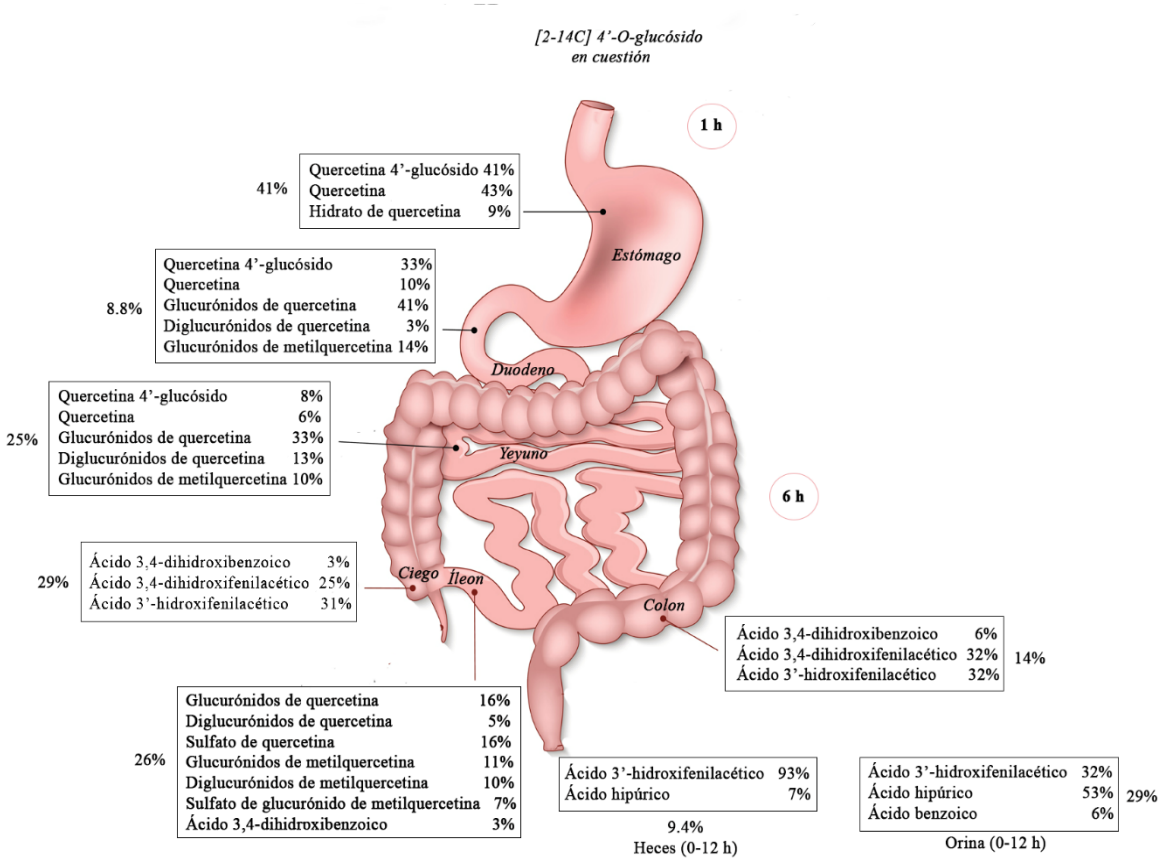


Figura 7. Metabolismo esquemático de quercetina-4-O-glucósido en ratas después de su ingestión.

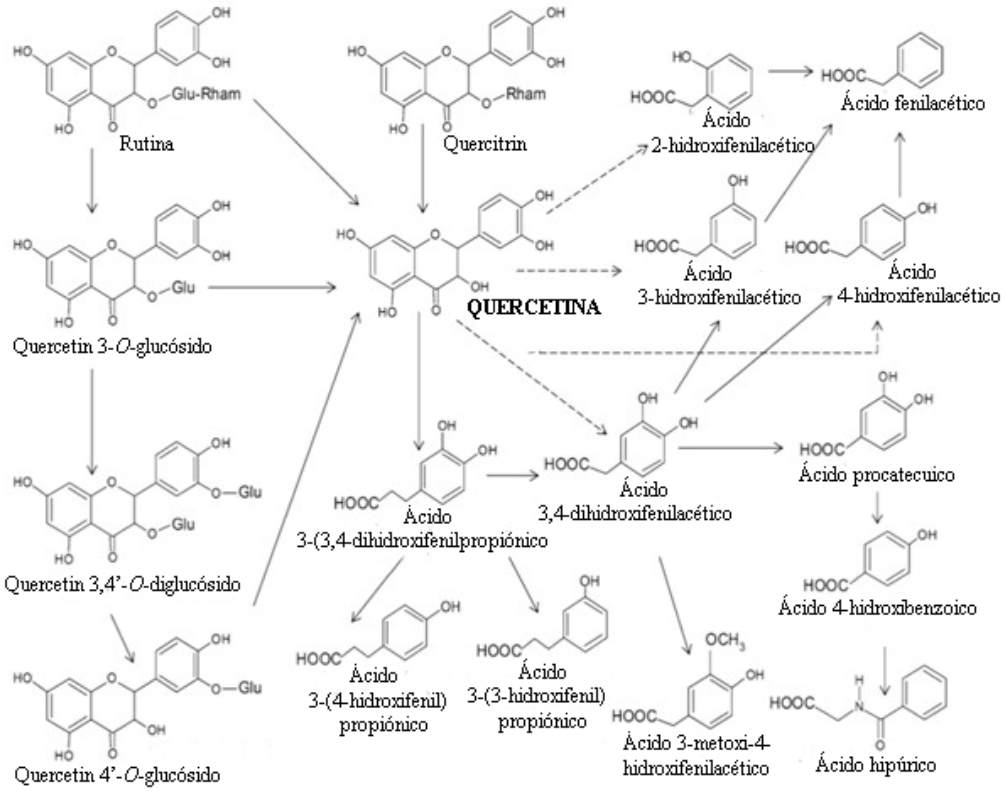


Figura 8. Vías de transformación de la quercetina por bacterias intestinales (Duda-Chodak et al. 2015).

2.6. Estudio *in silico* de inhibidores de α-glucosidasas.

2.6.1. Química computacional (generalidades)

La química computacional, también denominada química teórica, es una rama de la química. La química computacional (QC) estudia los sistemas químicos a través de cálculos matemáticos suficientemente desarrollados e incorporados en programas de computación para la predicción de distintas reacciones, mecanismos y propiedades fisicoquímicas de los sistemas moleculares de interés (Cuevas, 2005; Lewars, 2016; Vélez, 2010). La QC intenta predecir los valores de propiedades fisicoquímicas observadas experimentalmente. También, suele ser utilizada como herramienta en la investigación de laboratorio cuando las condiciones son imposibles, costosas, o las propiedades de interés son difíciles de medir (Leiva & Estrín, 2011).

La Química Computacional abarca métodos de mecánica molecular y mecánica cuántica. La mecánica molecular se basa en la aplicación de las leyes de a física clásica sin tomar en cuenta a los electrones. La mecánica cuántica está basada en la ecuación de Schrödinger para describir una molécula en términos de interacciones entre núcleos y electrones (Valles et al., 2014). Los métodos basados en mecánica cuántica son: *ab-initio*, a través de Hartree Fock (HF), los métodos basados en la Teoría Funcional de la Densidad (DFT), así como los semiempíricos (SE) (Young, 2001).

El método DFT es un procedimiento variacional alternativo a los métodos basados en la función de onda, como el HF. En el DFT, el funcional de la energía de una molécula es determinada a partir de la densidad electrónica y es necesario utilizar funcionales para obtener las energías y densidades en estado fundamental, ya que, al desconocer su valor exacto, se utilizan aproximaciones, como las de aproximación de densidad local (LDA), aproximación de gradiente generalizado (GGA) y los funcionales híbridos. Los funcionales híbridos son los más utilizados debido a que incorporan parte de la energía de intercambio exacta de Hartree Fock en el funcional de intercambio, además de estar combinados con la parte de correlación existente en dicho funcional. Entre estos funcionales destacan el B3LYP, PBE1PBE, M06, M06-2X, APDF, MPW1PW91, entre otros. Los nombres de estos funcionales vienen dados por las iniciales de los autores que los desarrollaron (Koch & Holthausen, 2001; Young, 2001).

El método DTF ha sido computacionalmente más eficiente, puesto que emplea aproximaciones que permiten realizar fácilmente cálculos para sistemas químicos complejos (Cantudo, 2012). Por otro lado, los funcionales o conjuntos de base, son entidades matemáticas que describen la zona donde se moverá el electrón de una molécula, es decir, la zona del orbital donde se encuentre. La elección del conjunto de base es indispensable, puesto que influye en la precisión del cálculo a realizar. Las funciones base existentes son la de tipo Slater (STO), el cual se usa sólo para moléculas pequeñas con un número menor de átomos. Además se encuentran las funciones tipo Gaussianas (GTO) que son menos costosas y por ello, las más

utilizadas en cálculos moleculares, algunas de ellas son el 3-21G, 6-31G y 6-311 (Fabián, 2020; Francl et al., 1982).

2.6.2. Optimización geométrica de los sistemas moleculares

La optimización de geometría es un proceso cuyo objetivo es localizar un mínimo en la superficie de energía potencial, y con ello obtener estructuras estables. La optimización geométrica puede variar dependiendo de la metodología usada, funcionales y bases (Schlegel, 2003).

Posteriormente a la optimización geométrica, se debe realizar el cálculo de frecuencias en los puntos estacionarios en la superficie de energía potencial. Es decir, el cálculo de frecuencias se usa para identificar si el cálculo de optimización corresponde a un punto estacionario en la superficie de energía potencial. Este cálculo permite establecer si la frecuencia imaginaria es cero y la estructura molecular corresponde a un mínimo de energía (Cuevas, 2005; Lewars, 2016). Además, el cálculo de frecuencias permite predecir espectros de infrarrojo (IR) y Raman Los resultados obtenidos son comparados con estudios experimentales para la validación de los métodos empleados en la caracterización de estructuras similares.

2.6.3. Acoplamiento molecular de un inhibidor con una enzima (docking molecular)

La simulación computacional proporciona herramientas predictivas, lo cual permite generar nuevos conocimientos de sistemas químicos. La aplicación de modelos generados *in silico* contribuye a entender los mecanismos de reacción de principios activos de los medicamentos u otras moléculas de interés. También, estos estudios ayudan a mejorar o diseñar nuevos inhibidores. El acoplamiento molecular, también conocido como *docking molecular*, consiste en buscar la conformación óptima de un ligando dentro de una diana o receptor molecular (Saldívar, Medina & Prieto, 2017).

Para llevar a cabo el cálculo de acoplamiento molecular, se necesitan las estructuras de la proteína y los ligandos. La conformación óptima es estimada por la energía. De

esta manera una energía baja y negativa indica un sistema estable con mayor posibilidad de interacción (Yuriev, Holien & Ramsland, 2015). Una extensión de estos métodos ha sido la modelización de procesos moleculares como la unión de proteínas y ligandos. Primeramente, el enfoque de cuerpo rígido que se relaciona con el modelo clásico de Emil Fischer, en el que el ligando y receptor son considerados dos cuerpos independientes que se reconocen entre sí en función de la forma y volumen. En segundo lugar, el enfoque es un acoplamiento flexible que considera un efecto recíproco del reconocimiento proteína-ligando en cada parte de la conformación (Ver Figura 9).

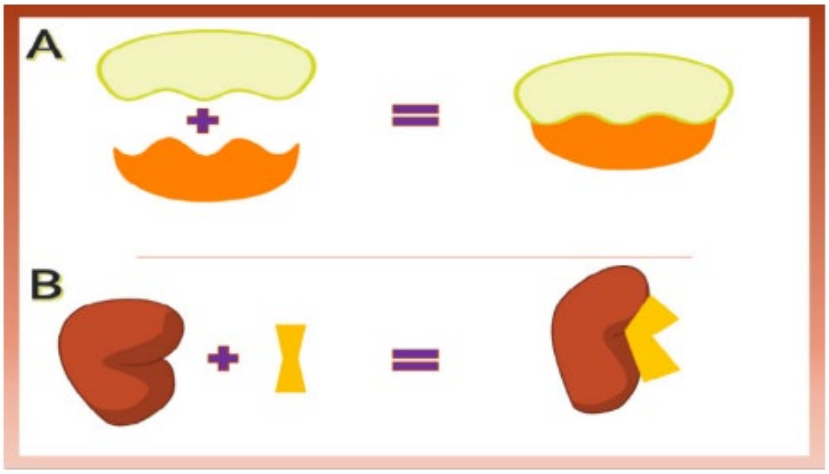


Figura 9. Representación esquemática de principales enfoques para acoplamiento molecular: A) cuerpo rígido; B) ajuste inducido (Prieto et al., 2018).

Existen varios programas para realizar el acoplamiento molecular. Cada uno de éstos utiliza diferentes campos de fuerza y algoritmos para la generación de conformaciones, el refinamiento y cálculo de las interacciones. Por ejemplo, los programas Autodock 4.2, Vina, Oedocking, Fleksy, Rdock y Glide, entre otros. Se sabe que el programa Vina ha presentado buen desempeño en el estudio de varias familias de proteínas con relativa facilidad de uso. El análisis de resultados se basa en los valores correspondientes a la conformación más estable (valor de menor energía de enlace) (Prieto, Arciniega & Medina, 2018).

2.6.4. Docking molecular de inhibidores de α-glucosidasas

El modelado molecular es una técnica utilizada para estudiar las interacciones entre un ligando y receptor. Esta interacción se estudia mediante programas computacionales que representan las estructuras y el comportamiento de las moléculas. De esta manera se puede predecir el mecanismo de inhibición de enzimas por una variedad de compuestos químicos (Saldívar et al., 2017). Con la finalidad de comprender los mecanismos de unión entre un receptor y sus posibles inhibidores, se han llevado a cabo estudios *in sillico*, como es el caso de la α-glucosidasa maltasa glucoamilasa intestinal (MGAM) frente a la acarbosa (inhibidor de referencia) y frente a compuestos que podrían tener la misma acción. En el año 2008, Saqib y Siddiqi estudiaron las interacciones de unión de la estructura cristalina de MGAM humana y el ligando acarbosa mediante un análisis de acoplamiento molecular. En este análisis se encontró que los residuos de aminoácidos del dominio N-terminal de la MGAM desempeña un rol importante en la unión del anillo de valienamina de la acarbosa. Esta unión se mantiene a través de puentes de hidrógeno. Estos autores también destacaron que el aminoácido Asp203 ayuda con la unión del sustrato. Mientras que la glicona (componente glicídico) no posee interacción con el sitio activo de la MGAM. Resultado que coincide con los datos de cristalografía de rayos X de Sim et al., 2008; quienes reportaron que la estructura cristalina de la N-terminal de la MGAM y su base de inhibición.

Similarmente, Landeros y colaboradores en el 2018, realizaron un análisis del sitio activo de la MGAM humana y su acoplamiento molecular con la acarbosa. En este estudio se emplearon distintas metodologías computacionales basadas en la teoría de funcionales de la densidad (DFT). Se encontró que la metodología DFT:M06/6-31G(d) presentó una mejor aproximación de las propiedades moleculares del ligando con resultados experimentales. En el estudio del acoplamiento molecular entre la acarbosa y el sitio activo de la MGAM se reportó un 30% de coincidencia en cuanto a los residuos de aminoácidos encontrados (Landeros et al., 2018). En el 2019, Alvarado Díaz y colaboradores llevaron a cabo un estudio del efecto inhibitorio de sacáridos y compuestos fenólicos contenidos en estigmas de maíz sobre la actividad de la MGAM.

En el estudio de Alvarado-Díaz et al., se reportó que los compuestos fenólicos inducían un efecto inhibitorio mixto (Alvarado-Díaz et al., 2019). Lo anterior debido a que los parámetros cinéticos como la *Km* y la velocidad máxima (V_{max}) presentaban variaciones que no correspondían a un tipo de inhibición competitiva como la reportada para las α-glucosidasas (Kim et al., 1999). Por lo cual, se complementó con un estudio computacional para analizar estas interacciones. El docking molecular indicó que los compuestos fenólicos maysina, metoximaysina y apimaysina presentaban mayor afinidad al sitio activo de la MGAM (-8.3 a -9.0 kcal/mol). Del mismo modo, se destacó que la zona no glicona de estos flavonoides era irrelevante en la interacción. También, en este estudio se analizó la fracción aglicona de la maysina, pero se obtuvo menor energía de unión (-7.5 kcal/mol). Además, se llevó a cabo una exploración del sitio activo con el 4-nitrofenil-α-D-glucopiranósido (PNPG), sustrato utilizado en ensayos de inhibición de la MGAM. Sin embargo, la energía de unión fue menor que la de la acarbosa (-7.5 kcal/mol), y, por tanto, explica su tipo de inhibición *in vivo.*

Landeros y colaboradores en el 2021, realizaron un análisis teórico más detallado donde compararon interacciones moleculares de los flavonoides maysina, luteolina y el fármaco acarbosa con los aminoácidos del sitio activo de la MGAM. Landeros et al., usaron en este estudio el método DFT, con el funcional M06 y el conjunto de base 6-31G(d). Esta metodología sirvió para determinar los parámetros de reactividad química y explicar la interacción molecular de los flavonoides a través de su proceso oxidativo en el sitio activo de la MGAM (Landeros et al., 2021). Además, dichos autores llevaron a cabo el acoplamiento molecular con Autodock Vina (Morris et al., 1998), en donde la maysina presentó mayor afinidad de unión de -9.1 kcal/mol con la MGAM, además la maysina formó puentes de hidrógeno con el aminoácido Asp327 y el Thr205. En contraparte, la luteolina tuvo una energía de interacción menor de -7.7 kcal/mol y formó puentes de hidrógeno con el Asp443. En cuanto la acarbosa, ésta presentó la más baja energía de interacción con -7.1 kcal/mol y formó cuatro puentes de hidrógeno con los aminoácidos Asp203, Asp443 e His600. A pesar de que la acarbosa es el inhibidor de referencia, presentó menor energía de unión que los flavonoides, esto debido a que la acarbosa posee gran cantidad de grupos -OH ayudando en la interacción con la

MGAM. Además, los tres compuestos mostraron daños oxidativos en un 45.4% para la acarbosa y 100% para la maysina y luteolina. Estos datos son importantes debido a que indican que este tipo de compuestos inducen actividad inhibitoria frente a la MGAM. Finalmente, las metodologías empleadas en la simulación computacional (*in silico*) fueron útiles para la predicción de procesos biológicos. Normalmente dichos métodos son comparados con ensayos experimentales, obteniendo buenos resultados.

3. JUSTIFICACIÓN

En este trabajo se busca determinar la actividad inhibitoria del flavonol quercetina y sus metabolitos derivados, frente a la enzima maltasa glucoamilasa intestinal (MGAM) a través de estudios de predicción de reactividad química y modelamiento molecular. No se conocen estudios químico-cuánticos relacionados con la quercetina y sus metabolitos generados después de la ingesta. Por lo tanto, la simulación computacional de la interacción de estos compuestos con la enzima MGAM proporcionará información relacionada con los mecanismos de acción, selectividad, afinidad, y la viabilidad de sus posibles efectos terapéuticos.

4. HIPÓTESIS

Los derivados moleculares que se generan durante la degradación intestinal de la quercetina interactúan con mayor fuerza con el sitio activo de la maltasa glucoamilasa (MGAM) intestinal de humano que la molécula de quercetina intacta o sus versiones glicosiladas intactas.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

- Evaluar *in silico* la interacción de la quercetina y sus derivados moleculares con el sitio activo de la maltasa glucoamilasa intestinal humana (MGAM).

5.2. Objetivos particulares

- Validar la química modelo para la optimización de la estructura geométrica de la quercetina y los metabolitos mediante la Teoría Funcional de Densidad (DFT), utilizando el software Gaussian 09.
- Calcular las propiedades moleculares de las estructuras optimizadas mediante Gaussian 09.

- Evaluar mediante el análisis de acoplamiento molecular (*in silico*), la interacción individual de los 18 derivados de la quercetina con el sitio activo de la estructura cristalina maltasa glucoamilasa intestinal humana (MGAM).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Metabolitos de quercetina usados en el estudio *in silico*

Los metabolitos de la quercetina que se utilizaron en este estudio son aquellos reportados como los más característicos producidos por bacterias intestinales, los cuales son: ácido 2-hidroxifenilacético, ácido 3-(3,4-dihidroxifenil)-propiónico, ácido 3-(3-hidroxifenil)-propiónico, ácido 3-(4-hidroxifenil)-propiónico, ácido 3,4 dihidroxifenilacético, ácido 3-hidroxifenilacético, ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético, ácido 4- hidroxifenilacético, ácido 4-hidroxibenzoico, ácido fenilacético, ácido hipúrico, ácido protocatecuico, quercetin 3,4´-*O*-diglucósido, quercetin 3-*O*-glucósido, quercetin 4´-*O*-glucósido, quercetina, quercitrin y rutina (Duda-Chodak et al., 2015).

6.2. Optimización de la estructura electrónica de los metabolitos de quercetina

La optimización de la geometría molecular intenta encontrar la configuración espacial de los núcleos correspondiente a la mínima energía de la molécula, hasta lograr que la estructura se encuentre en equilibrio (punto estacionario). Por ello, primeramente, las estructuras tridimensionales de los metabolitos de la quercetina fueron construidas con la interfaz gráfica Gaussian View 6.0. Posteriormente, se llevó a cabo la validación de los métodos computacionales, la cual consistió en seleccionar uno de los compuestos con estudios de difracción de rayos X disponibles, en este caso fue el ácido 4-hidroxibenzoico, que fue analizado en fase gas usando el método de la Teoría Funcional de Densidad (DFT) a través de los funcionales híbridos B3LYP (Becke, 1993), PBE1PBE (Ernzerhof & Scuseria, 1999), M06, M06-2X (Zhao & Truhlar, 2008) y el conjunto de base utilizado 6-31G(d,p) (Hariharan & Pople, 1973). Se calculó la optimización y frecuencia con cada método, confirmando que la geometría se encuentre en un punto estacionario en la superficie de energía potencial (frecuencia igual a cero). Los valores teóricos obtenidos de los ángulos y distancias de enlaces se

compararon con datos experimentales de Cristalografía de rayos X reportados por Nagy y colaboradores en 1993 (Nagy et al., 1993). Posteriormente, se seleccionó la metodología que mejor describiera la estructura geométrica, y esta se utilizó para optimizar el resto de las moléculas, usando el modelo de solvatación continua IEFPCM (Integral Equation Formalism Variant, por sus siglas en inglés) (Cancès et al., 1997), empleando agua como solvente, puesto que la mayoría de las reacciones químicas que ocurren en el organismo se realizan en ambientes acuosos dentro de las células. La molécula del fármaco acarbosa, utilizada como control, se optimizó de la misma forma que los 18 compuestos mencionados anteriormente.

6.3. Propiedades moleculares de las estructuras optimizadas

Una vez realizadas las optimizaciones con el método seleccionado, se calculó la reactividad química y las propiedades moleculares de cada uno de los compuestos. Para este fin se realizó un cálculo de la Energía Neutra (E0), Energía Catiónica (EC), Energía Aniónica (EA), mapeo de la distribución de los orbitales moleculares frontera: HOMO (Orbital ocupado de más alta energía) y LUMO (Orbital desocupado de más baja energía), determinación del potencial de ionización *(I)*, afinidad electrónica *(A)*, electronegatividad *(χ)*, potencial químico *(μ)*, dureza *(η)* y blandura química *(S)*. Estas propiedades corresponden a los descriptores de la reactividad química global de las moléculas estudiadas (Chermette, 1999). Además, se calculó la reactividad local a través de los índices de Fukui (Chattaraj et al., 2003; Padmanabhan et al., 2006), permitiendo comprender el comportamiento químico átomo por átomo de los sistemas moleculares analizados.

6.4. Acoplamiento molecular

La estructura cristalina de la maltasa-glucoamilasa intestinal humana (MGAM) se tomó del Banco de datos de proteínas (http://www.rcsb.org) PDB:2qmj. Como ligandos se utilizaron las 19 moléculas optimizadas con DFT:M06-2X/6-31G(d,p), incluyendo al fármaco acarbosa. El acoplamiento molecular se llevó a cabo con el programa Autodock Vina (G. M. Morris et al., 1998), permitiendo la búsqueda de las interacciones entre los metabolitos que actuaron como ligandos y la MGAM como receptor. Los sitios

de unión de la acarbosa optimizada fueron comparados con los datos experimentales reportados por Sim et al., en 2008, para visualizar los residuos de aminoácidos implicados. La preparación de la estructura proteica fue realizada con la ayuda del software AutoDockTools-1.5.7 (Morris et al., 2009, U.S.A.), en el cual los ligandos incluidos en la macromolécula 2qmj (glicerol, ion sulfato, N-Acetil-D-Glucosamina) y las moléculas de agua presentes fueron eliminados, y se adicionaron los hidrógenos polares que permiten obtener las interacciones intermoleculares. Además, el algoritmo genético Lamarckiano (LGA por sus siglas en inglés) fue utilizado para la búsqueda de la mejor conformación, con 9 corridas para cada acoplamiento. Las conformaciones seleccionadas fueron las de menor energía y el valor de la desviación cuadrática media (RMSD por sus siglas en inglés) debajo de 2.0 Å para ser considerados como resultados aceptables. Para esto, se realizaron 2 tipos de acoplamiento molecular, que incluyen un docking ciego y un docking rígido.

6.4.1. Docking ciego

El docking ciego consistió en generar un conjunto de posiciones iniciales alejadas del sitio de unión, en el cual, los ligandos se colocaron de manera aleatoria en la superficie de la proteína. Como ligandos se utilizaron las estructuras optimizadas con DFT: M06/6-31G(d,p) y la estructura cristalina de la acarbosa, los cuales fueron minimizados en el software AutoDock Vina, mediante las cargas parciales Gasteiger. Asimismo, la estructura cristalina de la MGAM (2qmj) obtenida del Banco de datos de proteínas (http://www.rcsb.org) se preparó eliminando las moléculas de agua y los ligandos incluidos en ella, y posteriormente, se adicionaron los hidrógenos polares para permitir las interacciones intermoleculares en el cálculo del acoplamiento molecular. En el mismo programa se delimitaron las condiciones de la caja (grid) a 99 x 90 x 96, centrada en las coordenadas x= -31.206, y= 8.638, z= -15.586, y la rejilla de espaciamiento de 1.0 Å, abarcando toda la estructura de la macromolécula sin quedar limitado el espacio de búsqueda. El acoplamiento molecular se llevó a cabo en la interfaz de Autodock Vina (Morris et al., 1998), permitiendo explorar las posiciones iniciales de los ligandos en la superficie de la macromolécula.

De la misma manera, se realizaron acoplamientos moleculares con las estructuras maltosa y 4-nitrofenil-α-D-glucopiranósido (PNPG), que son utilizadas como sustratos en los ensayos de inhibición de las α-glucosidasas como la de la MGAM.

Estas estructuras fueron obtenidas del Banco de datos de proteínas para componentes químicos (PDBChem, https://www.ebi.ac.uk/pdbe/). Se utilizaron las mismas condiciones y los acoplamientos moleculares fueron visualizados en el visualizador ADT Tools-1.5.7.

6.4.2. Docking rígido

El acoplamiento molecular rígido se centró en el sitio catalítico de la MGAM (receptor). En el software AutoDock Vina, se minimizaron las estructuras de los ligandos optimizadas con DFT M06/6-31G(d,p) mediante las cargas parciales Gasteiger. Las dimensiones de la caja fueron 18 x 18 x 26, con las coordenadas x= -19.2, y= -7.0, z= -8.7, y un espaciamiento de 1.0 Å, tomando como referencia el sitio activo de la enzima reportado por (Sim et al., 2008), y el tamaño de la estructura cristalina del ligando acarbosa (inhibidor). Se consideró la tolerancia de la desviación cuadrática media (RMSD) de 2.0 Å, la cual es comparada con las coordenadas de la conformación del ligando obtenidas con las coordenadas iniciales (Prieto et al., 2018). Las interacciones moleculares con los residuos de aminoácidos del sitio activo fueron visualizadas en AutoDockTools-1.5.7. Se seleccionaron las conformaciones de menor energía para cada metabolito, las cuales indicarán que compuestos podrían producir efectos fisiológicos al comportarse de manera similar que el fármaco de referencia. Bajo las mismas condiciones, se realizaron acoplamientos moleculares con la maltosa y el 4-nitrofenil-α-D-glucopiranósido (PNPG), sustratos utilizados en los ensayos de inhibición de la MGAM. Estas estructuras fueron obtenidas del Banco de datos de proteínas para componentes químicos (PDBeChem, https://www.ebi.ac.uk/pdbe/).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Optimización geométrica de la acarbosa y metabolitos de la quercetina

La optimización geométrica y el cálculo de frecuencias del ácido 4-hidroxibenzoico se realizó empleando diferentes funcionales, esto con la finalidad de seleccionar la mejor metodología que describiera a los derivados de la quercetina. En la Figura 10 se muestra la estructura optimizada del ácido 4-hidroxibenzoico con la metodología M06-2X/6-31G(d,p). La Tabla 1 muestra la correlación de los valores de distancias y ángulos de enlace obtenidos con cada uno de los métodos en combinación con el mismo conjunto de base, 6-31G(d,p). Los resultados se sometieron a un análisis de correlación para establecer qué método se aproximaba más a los valores experimentales de difracción de rayos X reportados en literatura (Nagy et al., 1993).

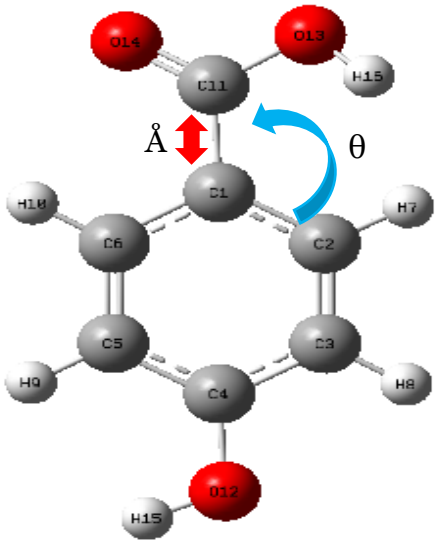


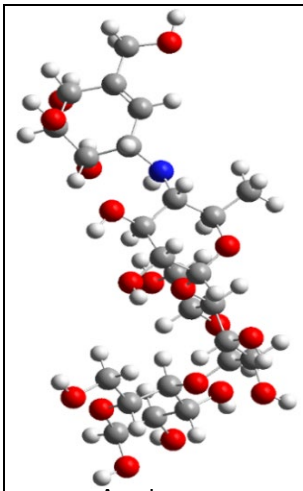
Figura 10. Estructura molecular optimizada del Ácido 4-hidroxibenzoico, empleada para validar los métodos teóricos. Analizada con el método DFT, los funcionales híbridos B3LYP, PBE1PBE, M06 y M06-2X y el conjunto de base 6-31G(d,p).

Tabla 1. Parámetros geométricos para el ácido 4-hidroxibenzico calculados en fase gas utilizando el método DFT con los funcionales híbridos B3LYP, PBE1PBE, M06 y M06-2X y el conjunto de base 6-31G (d,p). Correlación obtenida entre los cuatro métodos y los datos de difracción de rayos X del mismo compuesto.

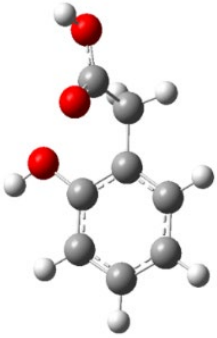
Parámetro	DFT: B3LYP/6-31G(d,p)	DFT: PBE1PBE/6-31G (d,p)	DFT: M06-2X/6-31G (d,p)	DFT: M06/6-31G (d,p)	Exp[1]
Enlace (Å)					
C1C2	1.406	1.401	1.401	1.400	1.390
C2C3	1.388	1.385	1.383	1.386	1.386
C3C4	1.404	1.401	1.397	1.398	1.390
C4C5	1.405	1.402	1.398	1.399	1.394
C5C6	1.388	1.385	1.383	1.386	1.387
C6C1	1.405	1.401	1.398	1.397	1.393
C4O12	1.353	1.344	1.347	1.351	1.357
O12H15	0.987	0.983	0.966	0.966	0.840
C1C11	1.485	1.481	1.480	1.488	1.475
C11O14	1.221	1.217	1.212	1.210	1.228
C11O13	1.352	1.341	1.347	1.346	1.322
O13H16	0.982	0.979	0.967	0.966	0.930
Correlación (r)	0.9806	0.9803	0.9826	0.9817	
Ángulos (θ)					
C1C2C3	120.9	120.9	120.8	120.6	120.8
C3C4C5	119.8	119.8	120.1	120.2	120.5
C6C1C2	118.6	118.7	118.7	119.2	119.4
O14C11C1	123.2	123.0	123.6	123.4	123.2
O13C11C1	118.7	118.7	117.5	117.5	114.7
H16O13C11	113.6	113.6	111.6	111.5	109.0
C11C1C2	123.2	123.2	123.5	123.1	119.4
Correlación (r)	0.7588	0.7821	0.7778	0.8487	0.8801

[1]. Datos experimentales obtenidos por difracción de rayos X Nagy, P. et al. (1993).

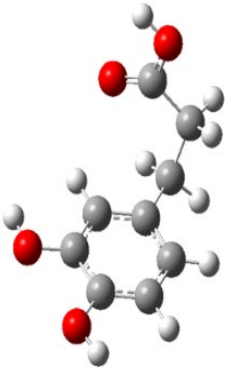
Las metodologías que presentaron la menor correlación (r) promedio entre distancias y ángulos de enlace, con lo reportado en difracción de rayos X, fueron las B3LYP/6-31G(d,p) con 0.8813 y la PBE1PBE/6-31G(d,p) con 0.8790. En contraste, las metodologías M06/6-31G (d,p) y M06-2X/6-31G(d,p) tuvieron la mejor correlación promedio con los datos experimentales (0.9156 y 0.9309 respectivamente). Con base en estos resultados, se decidió trabajar con la metodología de DFT: M06-2X/6-31G(d,p). Al determinar las correlaciones (anexo I) y comparar las cuatro metodologías DFT, se puede ver que los funcionales *Minnesota* que corresponden a M06 y M06-2X, demuestran ser más precisos que el B3LYP y el PBE1PBE. El funcional M06-2X tiene como ventaja que predice la valencia precisa, las energías de excitación electrónica, así como las interacciones de apilamiento entre anillos aromáticos (Zhao & Truhlar, 2008). Además, el funcional M06-2X calcula barreras de energía más confiables, por ende, se tomó este método para las optimizaciones de las demás estructuras. Una vez definida la química modelo, los derivados de la quercetina fueron calculados con la misma metodología, pero usando agua como solvente con la aplicación del modelo continuo de solvatación IEFPCM. Las moléculas optimizadas en fase solvente se muestran en la Figura 11.



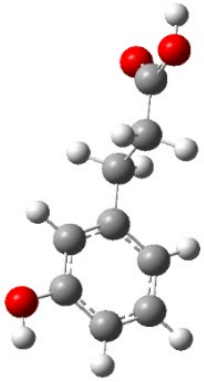
Acarbosa



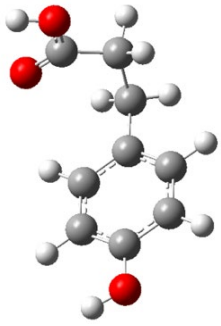
Ácido 2-hidroxifenilacético



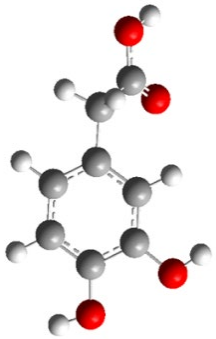
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico



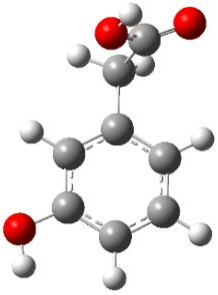
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico



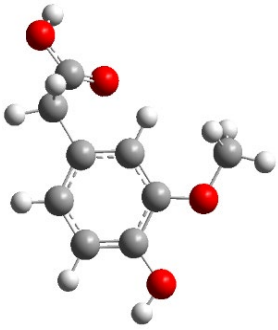
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico



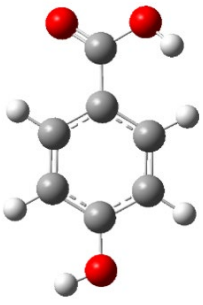
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético



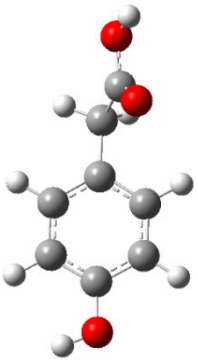
Ácido 3-hidroxifenilacético



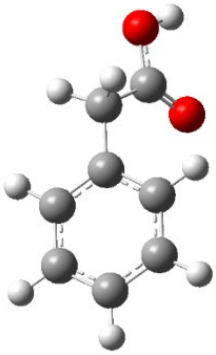
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético



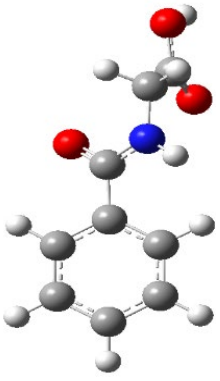
Ácido 4-hidroxibenzoico



Ácido 4-hidroxifenilacético



Ácido fenilacético



Ácido hipúrico

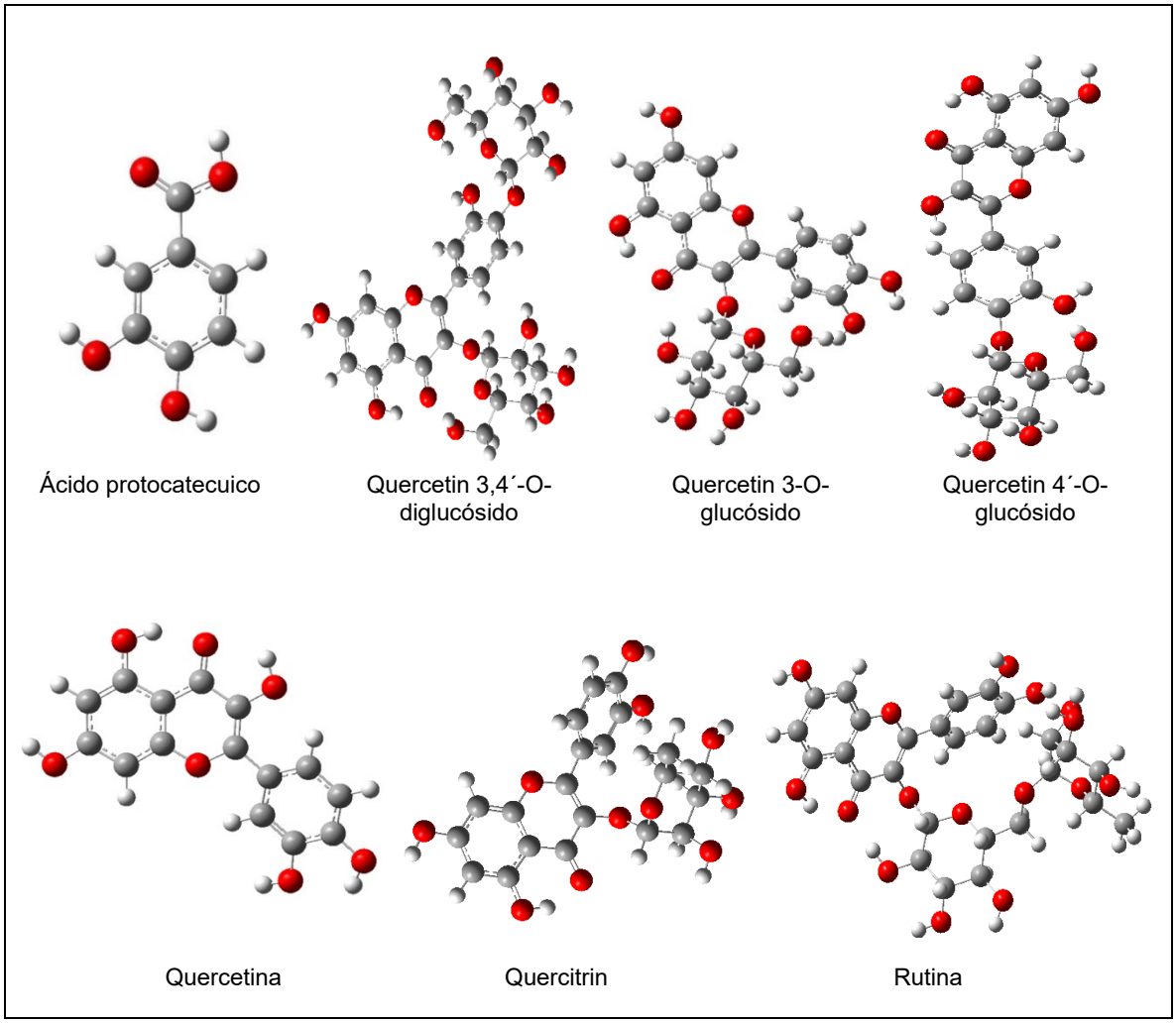


Figura 11. Estructuras optimizadas con la metodología DFT:M06-2X/6-31G(d,p) y el método de solvatación IEFPCM usando como solvente agua.

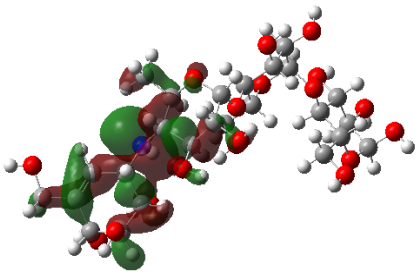
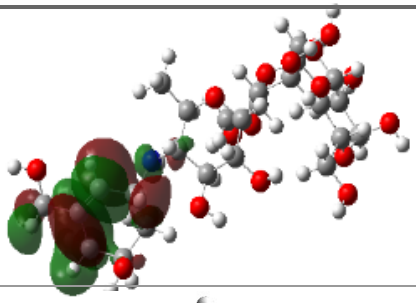
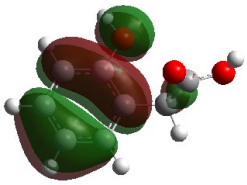
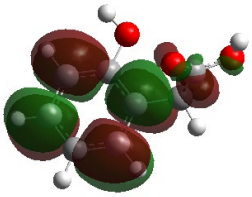
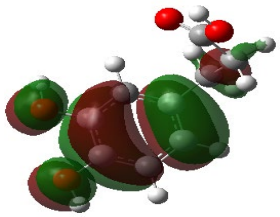
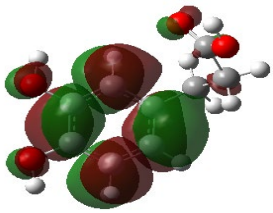
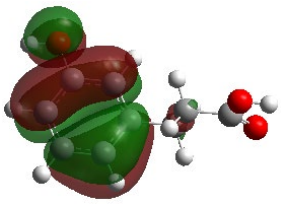
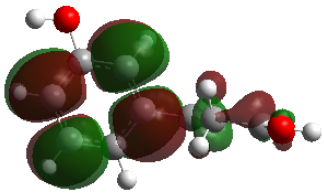
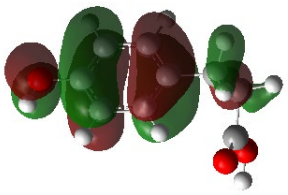
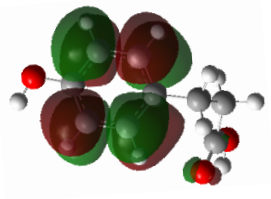
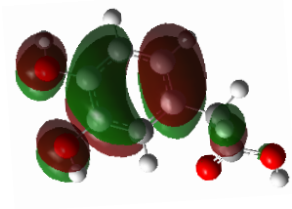
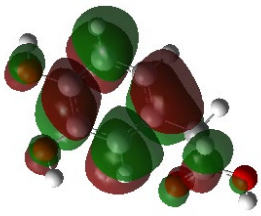
7.2. Propiedades electrónicas calculadas con DFT:M06-2X/6-31G(d,p).

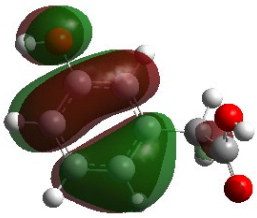
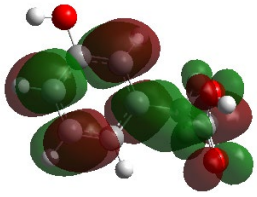
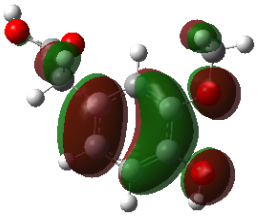
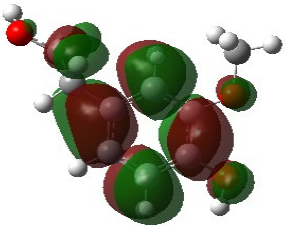
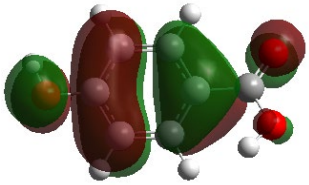
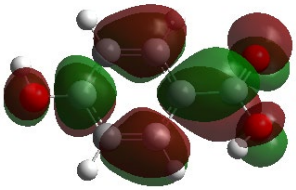
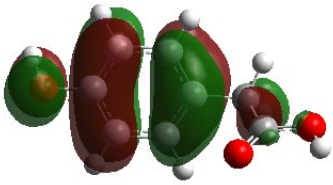
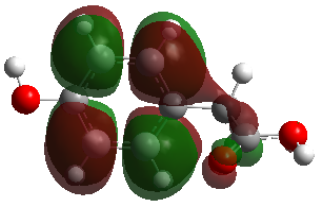
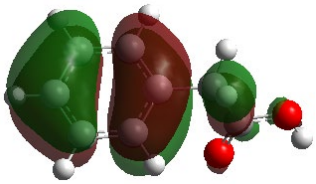
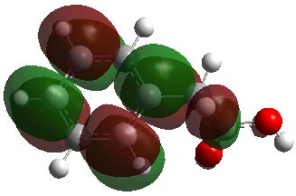
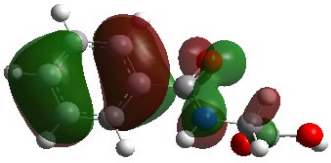
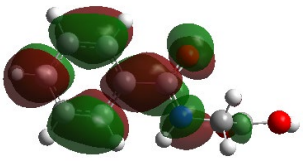
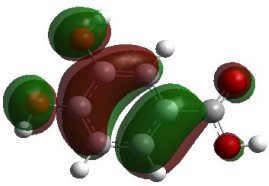
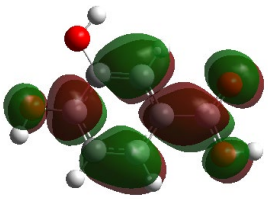
7.2.1. Orbitales moleculares

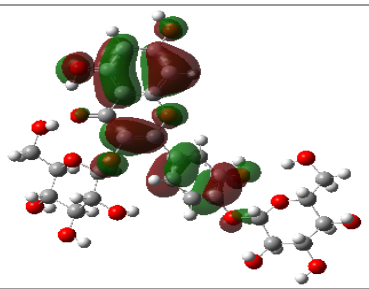
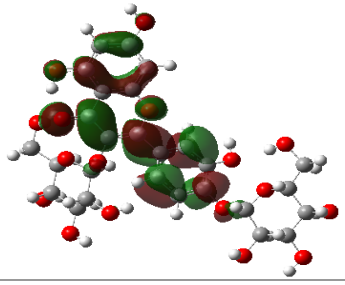
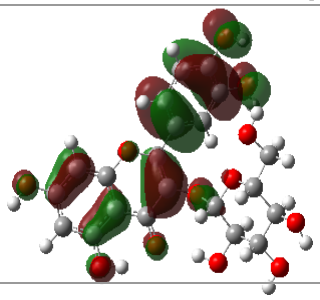
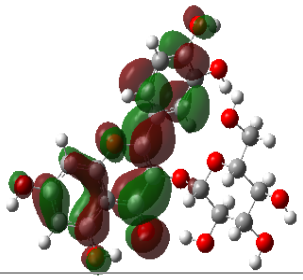
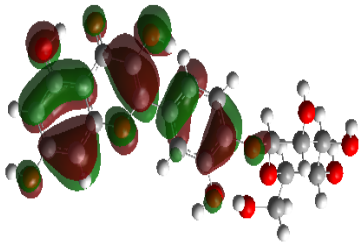
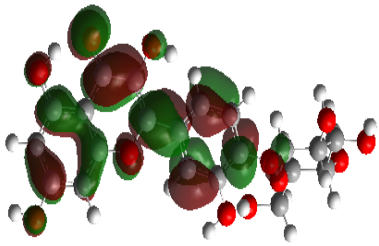
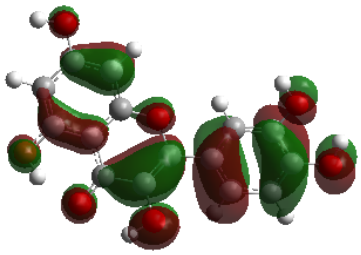
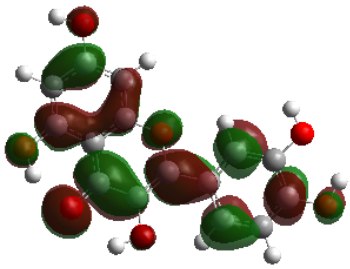
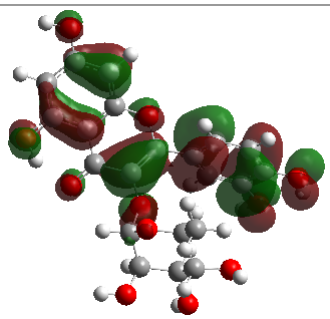
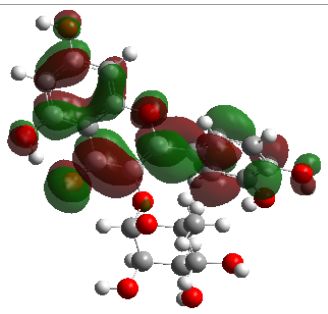
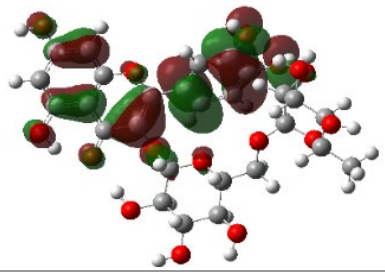
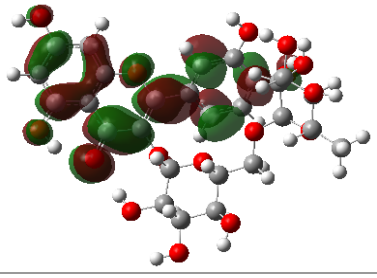
Se calculó la energía de los orbitales HOMO y LUMO para identificar la ubicación de la densidad electrónica correspondiente a las 19 estructuras optimizadas, incluyendo la acarbosa. Las interacciones con grupos electrofílicos son controladas por el orbital HOMO, mientras que el LUMO controla los ataques nucleofílicos.

En la Tabla 2 se muestra la localización de los orbitales frontera. En la estructura del fármaco acarbosa, la densidad electrónica del HOMO y LUMO se encontró distribuida en el grupo funcional valienamina. Este grupo funcional se considera responsable de la actividad terapéutica de la acarbosa. En tanto que, se ha descartado que el fragmento sacárido (isomaltotriosa) intervenga en la acción terapéutica de la acarbosa. Es bien sabido que el anillo A (valienamina) de la acarbosa es esencial en el mecanismo de inhibición de las α-glucosidasas, α-amilasas y de otras enzimas amilolíticas (Mahmud et al., 1999).

Tabla 2. Mapeo de orbitales moleculares HOMO y LUMO de la acarbosa y metabolitos de la quercetina calculados con DFT:M06-2X/6-31G(d,p).

Compuesto	Localización del HOMO	Localización del LUMO
Acarbosa		
Ácido 2-hidroxifenilacético		
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico		
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico		
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico		
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético		

Ácido 3-hidroxifenilacético		
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético		
Ácido 4-hidroxibenzoico		
Ácido 4-hidroxifenilacético		
Ácido fenilacético		
Ácido hipúrico		
Ácido protocatecuico		

Quercetin 3,4´-O-diglucósido		
Quercetin 3-O-glucósido		
Quercetin 4´-O-glucósido		
Quercetina		
Quercitrin		
Rutina		

En el caso de las estructuras ácidas, el orbital HOMO está distribuido en la mayor parte de la molécula, principalmente en los átomos C, H y O de los anillos aromáticos (grupo fenilo). De la misma manera, el orbital LUMO presenta la densidad electrónica distribuida sobre todo el sistema. Por tanto, la zona donadora y aceptora de electrones se encuentran superpuestas. Mientras que, para el quercitrin, quercetin 3-O-glucósido, quercetin 4-O-glucósido y quercetin 3,4´-O-diglucósido, la densidad electrónica de HOMO y LUMO se aprecia en los anillos A y B, que corresponden a los grupos fenilo, y a su vez al grupo aglicon del flavonoide. En tanto que, para la quercetina, el HOMO y LUMO está distribuido en toda la molécula, y en este caso, la particularidad del HOMO y LUMO observada descarta la probabilidad de que la actividad biológica se encuentre en las regiones glicosiladas.

En cuanto a la diferencia de energías entre los orbitales HOMO y LUMO conocida como ΔEGap (Ver Tabla 3), ésta indica la energía mínima que se requiere para remover un electrón de la capa de valencia a la de conducción, de tal forma que, entre mayor sea el valor del gap, mayor será la energía necesaria para remover electrones de una especie química. Además, se ha reportado que esta diferencia entre los orbitales HOMO-LUMO, caracteriza la reactividad y la estabilidad electrónica de los sistemas (Aramburu et al., 2018; Chandrasekaran & Thilak Kumar, 2015).

Las estructuras analizadas presentan una carga nuclear altamente efectiva y una baja polarizabilidad según la teoría de ácidos y bases de (Pearson, 1963). Los gaps pequeños de las moléculas quercetina (5.81 eV), quercetin 3-O-glucósido (6.03 eV), rutina (6.03 eV), quercetin 4'-O-glucósido (6.19 eV), quercitrin (6.23 eV), ácido protocatecuico (7.28 eV) y ácido 4-hidroxibenzoico (7.75 eV), indican una energía favorable para la remoción de electrones, una vez que son comparados con el gap calculado para la acarbosa.

Con respecto a los valores de energía del HOMO, la quercetina es la que presenta la menor energía, con un valor de -6.86 eV, mientras que el ácido fenilacético (-8.15 eV), y el ácido hipúrico (-8.45 eV) son los que presentaron la mayor energía del HOMO,

esto podría ser un indicativo de la capacidad donadora de electrones correspondiente a cada molécula analizada.

Tabla 3. Valores de orbitales HOMO, LUMO y GAP de las estructuras analizadas. Todos los valores se encuentran en eV.

Compuesto	HOMO	LUMO	ΔEGap
Acarbosa	-7.51	1.40	8.91
Ácido 2-hidroxifenilacético	-7.53	0.80	8.33
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico	-7.03	1.06	8.10
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico	-7.50	0.80	8.31
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico	-7.34	0.84	8.18
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	-7.14	0.94	8.08
Ácido 3-hidroxifenilacético	-7.58	0.56	8.14
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético	-7.09	0.97	8.07
Ácido 4-hidroxibenzoico	-7.90	-0.14	7.75
Ácido 4-hidroxifenilacético	-7.45	0.78	8.23
Ácido fenilacético	-8.15	0.79	8.95
Ácido hipúrico	-8.45	-0.08	8.37
Ácido protocatecuico	-7.44	-0.16	7.28
Quercetin 3,4´-O-diglucósido	-7.51	-1.22	6.28
Quercetin 3-O-glucósido	-7.20	-1.16	6.03
Quercetin 4´-O-glucósido	-7.25	-1.05	6.19
Quercetina	-6.86	-1.05	5.81
Quercitrin	-7.20	-0.97	6.23
Rutina	-7.19	-1.15	6.03

7.2.2. Propiedades moleculares de los sistemas químicos

Los cálculos de energía neutra, aniónica y catiónica en electronvolts (eV) fueron calculados para la acarbosa y para cada uno de los metabolitos de la quercetina (anexo II).

7.2.2.1. *Reactividad química global*

Los parámetros de reactividad química fueron calculados para la acarbosa, quercetina y sus metabolitos. Dichos parámetros fueron el potencial de ionización (I), afinidad electrónica (A), electronegatividad (χ), potencial químico (μ), dureza química (η) y electrofilicidad (ω), en donde se encontraron valores que estiman la reactividad de los metabolitos y con ellos explicar su comportamiento. (Ver Tabla 4)

Tabla 4. Propiedades de reactividad química global DFT: M06-2X/6-31G(d,p) calculadas con la aproximación por energías. Todos los valores de reactividad se encuentran en eV.

Molécula	Propiedades moleculares					
	Potencial de ionización (*I*)	**Afinidad electrónica (*A*)**	**Electrone-gatividad (χ)**	**Potencial químico (μ)**	**Dureza química (η)**	**Electro-filicidad (ω)**
	DFT: M06-2X/6-31G(d,p)					
Acarbosa	6.37	-0.39	2.99	-2.99	3.38	1.32
Ácido 2-hidroxifenilacético	6.45	0.20	3.32	-3.32	3.13	1.76
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico	5.98	-0.07	2.96	-2.96	3.03	1.45
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico	6.41	0.19	3.30	-3.30	3.11	1.75
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico	6.27	0.17	3.22	-3.22	3.05	1.70
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	6.09	0.05	3.07	-3.07	3.02	1.56
Ácido 3-hidroxifenilacético	6.49	0.40	3.45	-3.45	3.04	1.95
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético	6.03	0.01	3.02	-3.02	3.01	1.52
Ácido 4-hidroxibenzoico	6.85	1.14	3.99	-3.99	2.86	2.79
Ácido 4-hidroxifenilacético	6.38	0.22	3.30	-3.30	3.08	1.77
Ácido fenilacético	7.03	0.21	3.62	-3.62	3.41	1.92
Ácido hipúrico	7.67	1.08	4.37	-4.37	3.29	2.84
Ácido protocatecuico	6.38	1.16	3.77	-3.77	2.61	2.72
Quercetin 3,4´-O-diglucósido	6.58	2.17	4.37	-4.37	2.21	4.33
Quercetin 3-O-glucósido	6.25	2.12	4.19	-4.19	2.07	4.24
Quercetin 4´-O-glucósido	6.36	2.00	4.18	-4.18	2.18	4.00
Quercetina	5.95	2.00	3.97	-3.97	1.97	4.01
Quercitrin	6.30	1.92	4.11	-4.11	2.19	3.86
Rutina	6.27	2.11	4.19	-4.19	2.08	4.22

De acuerdo con la Tabla 4, el potencial de ionización oscila entre 5.95 a 7.67 eV. El ácido hipúrico con 7.67 eV indica que requiere menos energía para separar un electrón de un átomo o molécula específica a una distancia que no exista interacción electrostática entre el ion y el electrón (Salas et al., 2015). Mientras que la afinidad electrónica (*A*) permite conocer la energía liberada de un átomo al captar un electrón, en donde el quercetin 3,4´-*O*-diglucósido con 2.17 eV tiene esta facilidad. Tanto los derivados de ácidos benzoicos y fenilacéticos, así como los glucósidos de la quercetina presentaron valores de potencial químico similares. Sin embargo, el ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico, ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético, ácido 3,4-dihidroxifenilacético son los que presentaron mayor potencial químico con -2.96 eV, -3.02 eV y -3.07 eV respectivamente, al igual que la acarbosa con -2.99 eV. Los cuales indican que tienen la capacidad para donar electrones (Pearson, 1963). En tanto la electronegatividad, indica que la densidad electrónica del sistema varía y los electrones fluyen de regiones de alto potencial a uno de menor potencial (Pritchard & Skinner, 1955; Ramakrishnan, 2019). Las moléculas de ácido hipúrico y quercetin 3,4'-O-glucósido son los más electronegativos con 4.37 eV, y, por lo tanto, tienden a atraer más fácilmente los electrones.

Por otro lado, la dureza química (η) está asociada con la estabilidad de los compuestos y su resistencia a reaccionar con otros sistemas (Koch & Holthausen, 2001). Los valores de η en los compuestos estudiados, oscilaron de 1.97 eV a 3.41 eV. Cabe destacar que la molécula menos dura fue la quercetina, por ende, es la más susceptible a reaccionar con otros sistemas químicos. Al contrario del ácido fenilacético, que presentó un valor de dureza alto. En general, los parámetros de electronegatividad de la mayoría de los compuestos analizados indican que se tratan de ácidos duros y que fácilmente reaccionan y forman enlaces más fuertes con bases duras. Finalmente, la electrofilicidad determina la estabilización de la energía cuando un sistema adquiere carga electrónica externa (Parr et al., 1999). De tal manera que, si el valor de electrofilicidad es mayor, el sistema tiende ser más propenso a atraer electrones de una molécula donante (Parthasarathi et al., 2004). Las moléculas con mayor electrofilicidad son la quercetina y sus glucósidos. Mientras tanto, la acarbosa presentó baja electrofilicidad, ya que podría ser un compuesto más nucleófilo que electrófilo

debido a su grupo funcional valienamina.

7.2.2.2. *Reactividad química local*

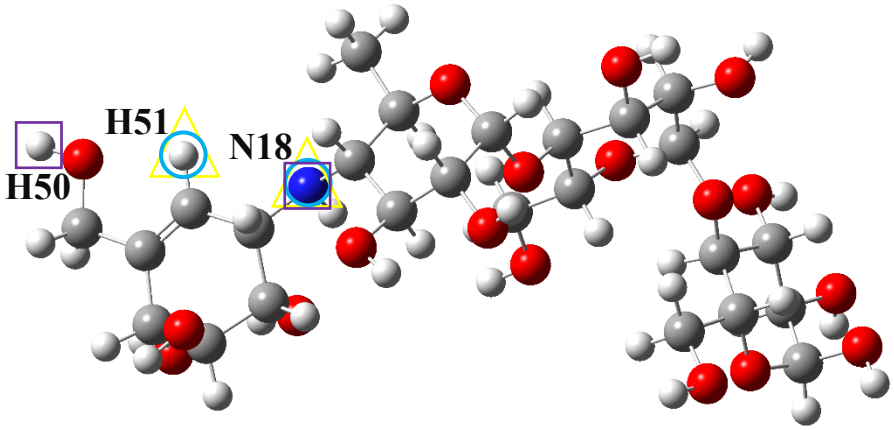
La función de Fukui es un descriptor de la reactividad local, el cual indica la tendencia de la densidad electrónica a deformarse en una posición dada al aceptar o donar electrones (Parr, 1980). Por lo tanto, la predicción de la reactividad es fundamental parar conocer los sitios más reactivos de un sistema molecular. Por ello, se determinó la reactividad local a través de los índices de Fukui, con los tres esquemas de distribución de cargas: Hirshfeld (Hirshfeld, 1977), Mulliken y Análisis Natural de Población (NPA) (Reed et al., 1985). Con el análisis de reactividad local se identificaron los átomos implicados en las reacciones de ataques nucleofílicos y electrofílicos. Con los tres esquemas se identificaron todos los átomos que conforman cada molécula, y se seleccionaron los que presentaban valores más altos con respecto a las energías analizadas previamente (anexo III). En la Tabla 5 se muestran los átomos más importantes en las reacciones químicas para cada molécula estudiada. En la Figura 12 se esquematizan estas estructuras.

La Tabla 5 muestra que los átomos implicados en reacciones de ataque nucleofílico y electrofílico corresponden en su mayoría a los carbonos del grupo fenilo, así como los -OH de los anillos A y B de los metabolitos del flavonol quercetina. Se ha postulado que los grupos -OH del anillo B de los flavonoides son favorables en las reacciones de inhibición (Li et al., 2009; Tadera et al., 2006). Tanto la quercetina como sus glucósidos presentan mayor tendencia a ataques electrofílicos, los cuales coinciden con datos reportados para el estudio de las propiedades de la quercetina (Mendoza-Wilson & Glossman-Mitnik, 2005). Éstos indican que los átomos implicados en ataques electrofílicos son los del grupo funcional catecol del anillo B, y los carbonos e hidroxilos del anillo C. Es bien sabido que en los anillos aromáticos de este tipo de estructuras sufren sustitución electrofílica por la presencia de grupos hidroxilo. Mientras que, en la acarbosa, los átomos implicados se encuentran en el grupo funcional valienamina, la cual coincide con la reactividad global y densidad electrónica obtenida en el análisis de reactividad química global.

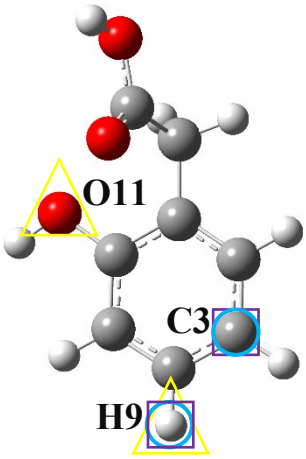
En general, la función de Fukui f_k^+ muestra los sitios en la molécula que son susceptibles a ataques nucleofílicos, y la función f_k^- muestra los sitios susceptibles a reacciones electrofílicas. Siendo el esquema de partición de cargas Hirshfeld más preciso con respecto a los datos reportados para el estudio de este tipo de estructuras.

Tabla 5. Descripción de reactividad local por la distribución de cargas Hirshfeld, Mulliken y NPA a través de las funciones de Fukui; sitios de ataque nucleofílico (f_k^+), ataque electrofílico (f_k^-).

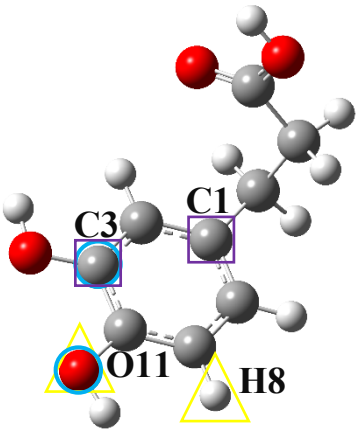
Molécula	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	f_k^+	f_k^-	f_k^+	f_k^-	f_k^+	f_k^-
Acarbosa	H51	N18	H51	N18	H50	N18
Ácido 2-hidroxifenilacético	H9	C3	H9	O11	H9	C3
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico	C3	O11	H8	O11	C3	C1
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico	H8	C2	H10	C2	H8	C2
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico	H7	O11	H7	O11	H7	C1
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	C4	O11	H7	O11	C4	C1
Ácido 3-hidroxifenilacético	H9	C2	H10	C2	C12	C2
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético	C4	O10	H8	O11	C4	C1
Ácido 4-hidroxibenzoico	H10	O13	C11	O12	C4	O12
Ácido 4-hidroxifenilacético	H7	O18	H7	O18	H7	C1
Ácido fenilacético	H8	C4	H11	C4	H8	C4
Ácido hipúrico	C12	C4	C12	C4	C12	C4
Ácido protocatecuico	C14	O10	C14	O10	C14	C3
Quercetin 3,4´-O-diglucósido	C32	C42	C32	C42	C32	C42
Quercetin 3-O-glucósido	C23	O9	C23	O9	C13	C12
Quercetin 4´-O-glucósido	C29	C31	C29	C31	C29	C31
Quercetina	C7	O20	C7	O19	C7	C10
Quercitrin	C13	O21	C13	O21	C13	C16
Rutina	C15	O20	C5	O20	C5	C15



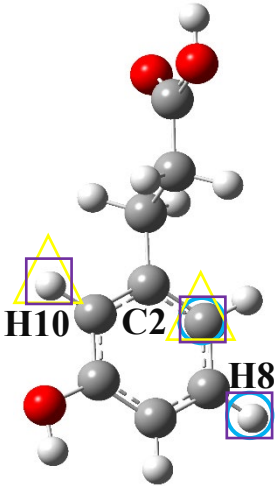
Acarbosa



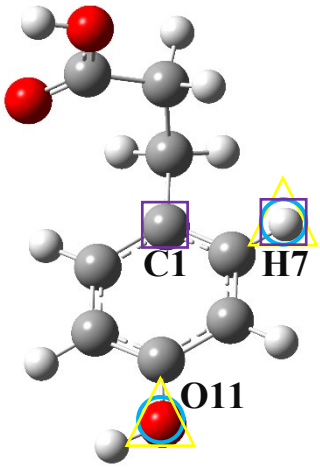
Ácido 2-hidroxifenilacético



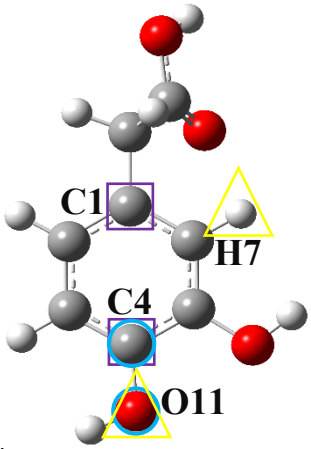
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico



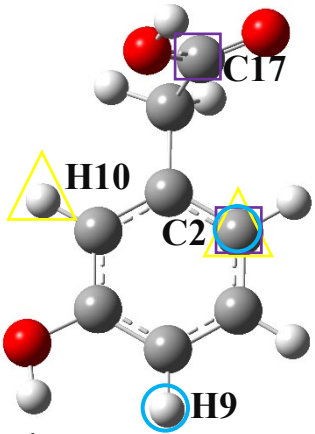
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico



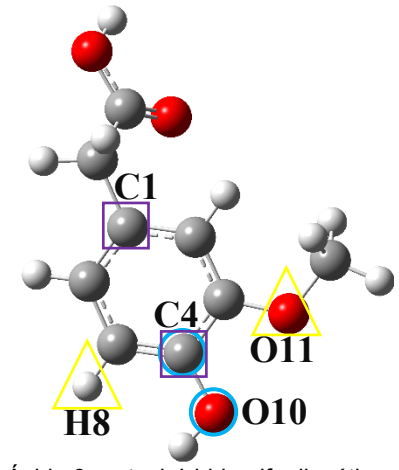
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico



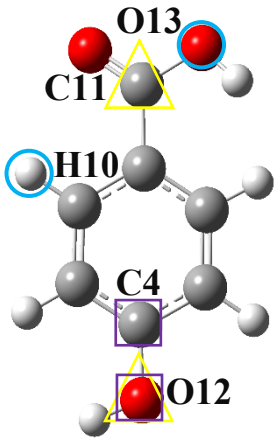
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético



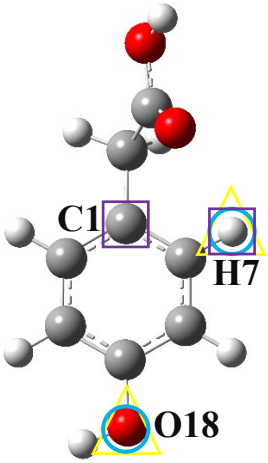
Ácido 3-hidroxifenilacético



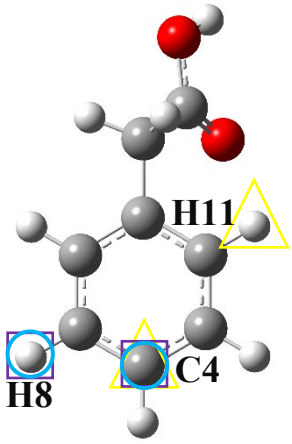
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético



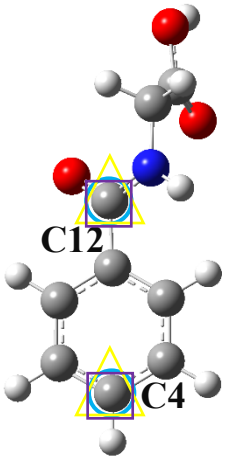
Ácido 4-hidroxibenzoico



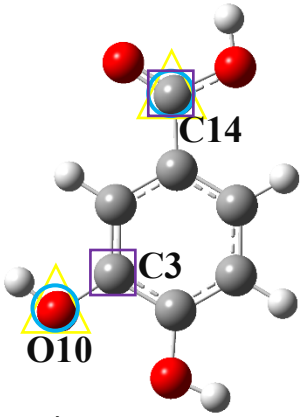
Ácido 4-hidroxifenilacético



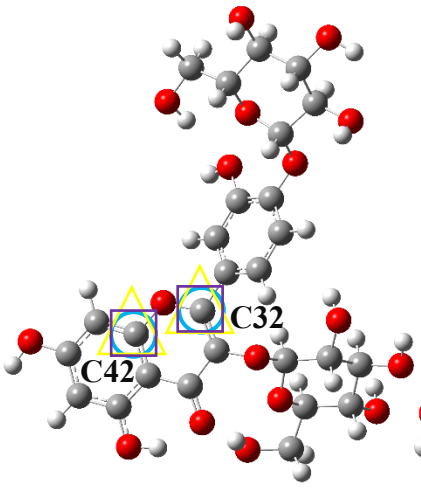
Ácido fenilacético



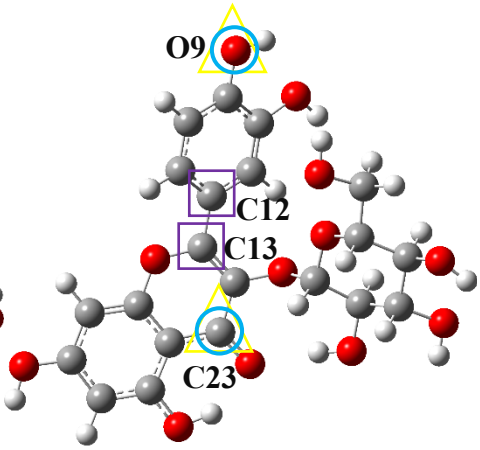
Ácido hipúrico



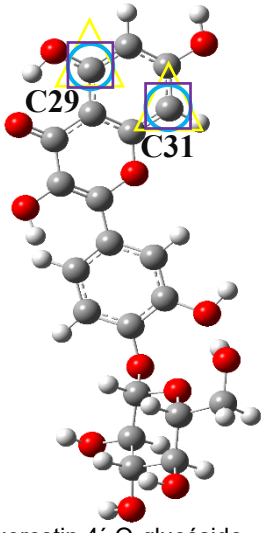
Ácido protocatecuico



Quercetin 3,4´-O-diglucósido



Quercetin 3-O-glucósido



Quercetin 4´-O-glucósido

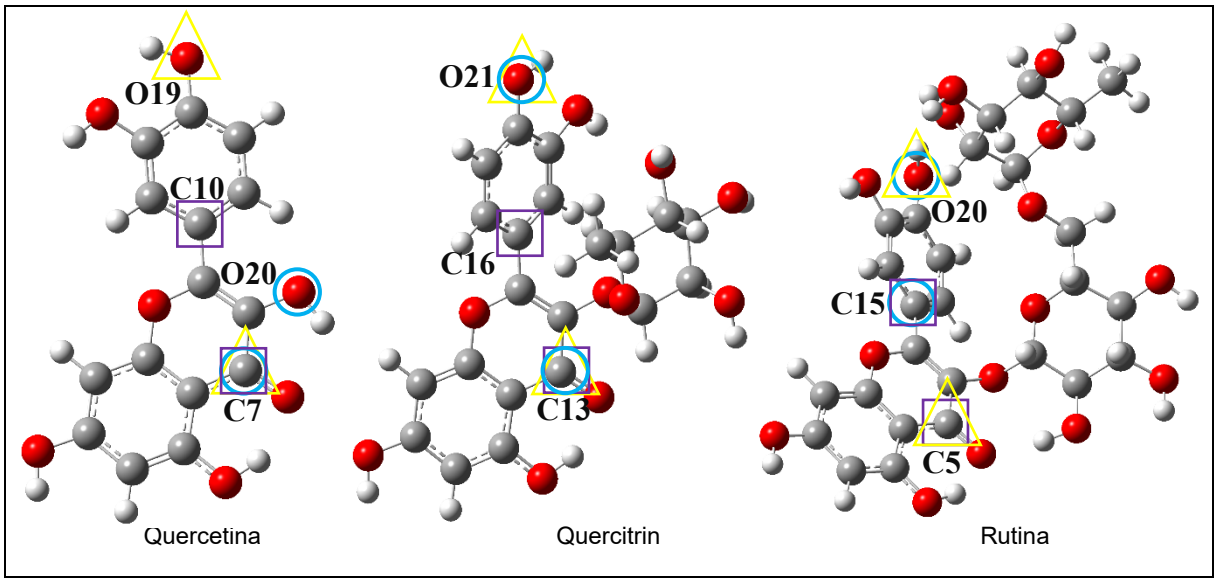


Figura 12. Representación esquemática de reactividad local con diferentes distribuciones de cargas Hirshfeld (círculo azul), Mulliken (triángulo amarillo) y NPA (cuadro morado) a través de las funciones de Fukui; sitios de ataque nucleofílico (f_k^+), ataque electrofílico (f_k^-).

7.2.3. Acoplamiento molecular de la MGAM-ligandos

7.2.3.1. Docking ciego

Los resultados del docking ciego de la MGAM y los ligandos optimizados con la metodología DFT: M06/6-31G(d,p) se presentan en la Tabla 6. En esta tabla se muestran los valores de la energía de unión (ΔG en kcal/mol) obtenidas de las 9 conformaciones para cada ligando. Por otra parte, en la Figura 13 se observa la posición de las mejores conformaciones. En dicha Figura se observa la posición de los 19 ligandos en la estructura de la enzima MGAM. Cabe mencionar que tanto la acarbosa como los metabolitos de la quercetina se posicionaron en las zonas laterales y traseras de la enzima, distintas al sitio activo de la enzima. Los residuos de aminoácidos del sitio activo son destacados en color azul. La tendencia de los ligandos a posicionarse en regiones diferentes al sitio activo se debe a que las dimensiones de la caja fueron grandes, y en consecuencia, los ligandos tienen una mayor libertad de orientación aleatoria. Pese a ello, esta enzima no presenta sitios alostéricos, es decir,

sólo presenta un sitio catalítico (ortostérico), sumando a que experimentalmente no se han reportado cinéticas atípicas entre la velocidad inicial y la concentración de sustrato (curvas sigmoidales) (Aranda & Salgado, 2008; Sim et al., 2008).

Tabla 6. Resultados del docking ciego entre la MGAM, la acarbosa y los metabolitos de la quercetina.

Compuesto	Energía de unión (Kcal/mol)
Quercetin 3,4´-O-diglucósido	-9.3
Rutina	-9.1
Quercitrin	-8.3
Quercetina	-8.3
Quercetin 3-O-glucósido	-8.2
Quercetin 4´-O-glucósido	-8.1
Acarbosa	-8.1
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico	-7.4
Ácido protocatecuico	-7.3
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico	-6.9
Ácido hipúrico	-6.8
Ácido 4-hidroxibenzoico	-6.7
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico	-6.6
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	-6.4
Ácido 3-hidroxifenilacético	-6.4
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético	-6.3
Ácido 4-hidroxifenilacético	-6.2
Ácido 2-hidroxifenilacético	-6.2
Ácido fenilacético	-5.9

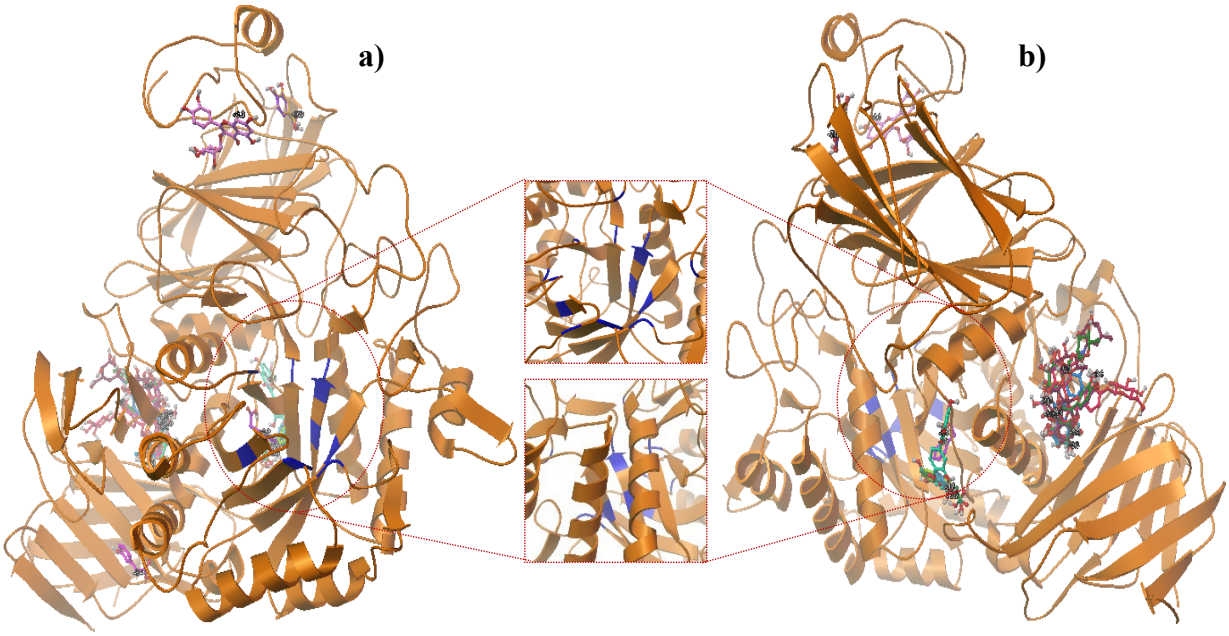


Figura 13. Posición de los ligandos optimizados con DFT: M06/6-31G(d,p) en la estructura de la enzima MGAM. a) MGAM de frente; b) MGAM detrás. Los recuadros señalan el sitio activo descrito por (Sim et al., 2008).

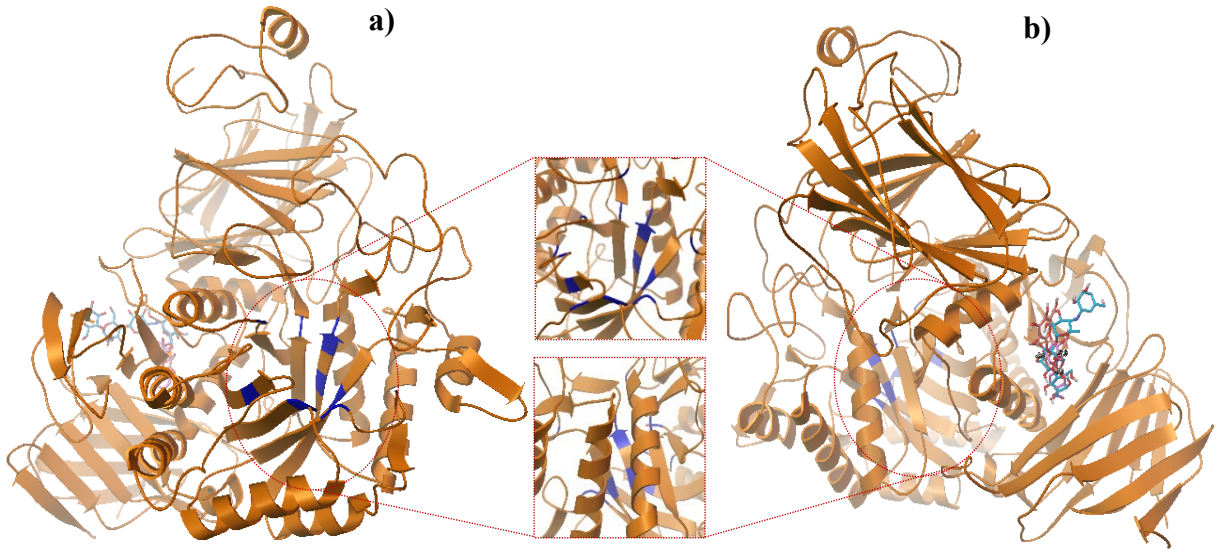


Figura 14. Docking ciego entre la MGAM y los ligandos maltosa (café), el PNPG (rosa), y la acarbosa optimizada (azul). a) MGAM de frente; b) MGAM detrás. Los recuadros señalan el sitio activo descrito por (Sim et al., 2008).

La posición similar de la acarbosa y algunos metabolitos, da idea de la primera aproximación de predicción, al existir probabilidad de interaccionar de manera similar que el fármaco de referencia. Estos metabolitos fueron el ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico, ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético, ácido 3,4-dihidroxifenilacéticoácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico, ácido 4-hidroxifenilacético, ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico, quercetina, quercetin 3-O-glucósido, quercetin 3,4´-O-diglucósido y rutina. De la misma manera, se realizaron acoplamientos moleculares con los sustratos 4-nitrofenil-α-D-glucopiranósido (PNPG) y maltosa frente a la estructura cristalina de la MGAM, presentando energías de unión de -7.1 kcal/mol para el PNPG y -7.3 kcal/mol respectivamente. Estas estructuras en la MGAM presentaron la misma tendencia que la acarbosa optimizada al posicionarse en una zona distinta al sitio activo (parte trasera) (Figura 14). Lo anterior pudo deberse al tamaño de la caja definida lo que permitió que tuvieran mayor grado de libertad. A pesar de que la posición de la acarbosa con respecto a la maltosa y el PNPG no fue cercana al sitio activo de la MGAM, no se descarta que la acarbosa compite con estas moléculas para impedir su absorción (Kim et al., 1999; Proença et al., 2017).

7.2.3.2. Docking rígido

Se realizó el acoplamiento molecular de la MGAM y los 19 ligandos, centrándose en el sitio de unión reportado por Sim et al., (2008) y descrita anteriormente El acoplamiento molecular fue comparado con los datos experimentales de cristalografía de rayos X (Sim et al.,2008). De acuerdo a los resultados obtenidos se seleccionaron las conformaciones con las energías más favorables (más negativas) ya que representan las mejores afinidades de unión de los metabolitos hacia el sitio activo de la MGAM. Además, se identificaron los aminoácidos del sitio activo implicados en la interacción, los puentes de hidrógeno, así como interacciones π- π o π-catión presentes en el acoplamiento. Las interacciones obtenidas se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Interacciones de la acarbosa y derivados de la quercetina frente al sitio activo de la MGAM obtenidas mediante un acoplamiento rígido.

Compuesto	Energía de unión (Kcal/mol)	Residuos de aminoácidos	Puentes de hidrógeno	π-π
Rutina	-9.1	ASP 327, ASP 542, HIS 600, ARG 526, TYR 299, PHE 575, ASP 203, TRP 406, TRP 539, THR 205, GLN 603	RUT1:H10 1 HIS 600:HE2 1	
Quercetin 3,4´-O-diglucósido	-8.9	ASP 327, ASP 542, HIS 600, ASP 443, TYR 299, ILE 364, PHE 575, ASP 203, TRP 406, TRP 539, THR 205, PHE 450, ARG 202, ASP 204	THR 205:HG1 1	PHE 450
Quercetin 4´-O-glucósido	-8.0	HIS 600, TYR 299, ILE 364, TRP 441, PHE 575, TRP 406, TRP 539, PHE 450		PHE 450
Quercetin 3-O-glucósido	-7.8	ASP 542, ARG 526, TYR 605, TYR 299, MET 444, GLN 603	ARG 526:HH111 HW21: H14 1	
Quercitrin	-7.7	ARG 526, TYR 605, TYR 299, MET 444, PHE 575, GLN 603	QC11:H061 ARG 526:HH11 1	PHE 575
Quercetina	-7.6	ARG 526, TYR 605, TYR 299, MET 444, PHE 575, GLN 603	ARG 526:HH11 1	
Acarbosa	-6.5	ASP 327, ASP 542, HIS 600, ARG 526, ASP 443, TYR 299, ILE 364, MET 444, PHE 575, ASP 203, TRP 406, THR 204, THR 205, TRP 539, ARG 202, LYS 480	ACR1:HN4 1 ACR1:HOD2 1 ACR1:4HOA 1 THR 205:HG1 1 ARG 526: HH11 1	
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico	-6.4	ASP 327, ASP 542, ARG 526, ASP 443, TYR 299, MET 444, TRP 406	O:H 1 ARG 526:HH11 1	
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico	-6.2	ARG 526, TYR 299, TRP 406	ARG 526:HH11 1	
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	-6.1	ASP 327, ASP 542, HIS 600, ARG 526, TYR 299, TRP 406	ARG 526:HH11 1	
Ácido hipúrico	-6.1	ASP 327, ASP 542, ARG 526, TYR 299, PHE 575, ASP 203		
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico	-6.0	ASP 327, ASP 542, ARG 526, TYR 299, TRP 406	ARG 526:HH11 1	
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético	-6.0	ASP 327, ASP 542, HIS 600, ARG 526, TYR 299, TRP 406, TRP 539	ARG 526:HH11 1	
Ácido protocatecuico	-5.9	ASP 327, HIS 600, ARG 526, TYR 299, ASP 203 PHE 575	ARG 526:HH11 1	
Ácido 2-hidroxifenilacético	-5.9	ASP 327, HIS 600, ASP 443, TYR 299, MET 444, ARG 528		
Ácido 3-hidroxifenilacético	- 5.8	ASP 327, HIS 600, ARG 526, TYR 299, PHE 575	HIS 600:HE2 1 ARG 526:HH11 1	
Ácido 4-hidroxifenilacético	-5.7	ASP 327, ARG 526, TYR 299, ASP 203, TRP 406	O:H 1 ARG 526:HH11 1	

Ácido 4-hidroxibenzoico	-5.6	ASP 327, ASP 542, HIS 600, ARG 526, TYR 299, PHE 575	HIS 600:HE2 1 ARG 526:HH11 1
Ácido fenilacético	-5.5	HIS 600, ARG 526, ASP 443, TYR 299, ILE 364, PHE 575	HIS 600:HE2 1

Los aminoácidos del sitio activo de la MGAM reportados por difracción de rayos X son los siguientes: ASP 327, ASP 542, HIS 600, ARG 526, TYR 605, ASP 571, ASP 443, TYR 299, ILE 328, ILE 364, TRP 441, MET 444, PHE 575, ASP 203, TRP 406 (Sim et al., 2008). De acuerdo con la Tabla 8, las interacciones obtenidas de la acarbosa optimizada frente al sitio de unión de la MGAM coinciden en un 66% respecto a los experimentales de cristalografía, de los cuales 10 de estos residuos estuvieron presentes. Además, los aminoácidos encontrados corresponden a estudios previos de acoplamiento molecular llevados a cabo en Autodock Vina por otros autores (Alvarado-Díaz et al., 2019; Landeros et al., 2018; Lucila et al., 2021). Adicionalmente, se ha encontrado que los aminoácidos Asp327, Asp542 generan puentes de hidrógeno, y el aminoácido Asp203 es considerado un residuo importante para la unión del sustrato o inhibidor de la MGAM (Saqib & Siddiqi, 2008).

La mayoría de los residuos del subsitio -1 son originados a partir del dominio de barril $(\beta/\alpha)_8$, los cuales implican enlaces de hidrógeno a través de Asp327, Asp542, His600 y Arg526 (Sim et al., 2008). Mientras que, en este estudio los puentes de hidrógeno correspondieron de ARG 526, TYR 205 y ASP 327. Además, se encontraron nuevos residuos que podrían ayudar con la afinidad de unión: THR 204, THR 205, LYS 480, TRP 530 y ARG 202.

En las Figura 15 se observa la afinidad de unión de la acarbosa en el sitio activo de la MGAM. Asimismo, en la Figura 16 y 17 se muestran las afinidades de unión de los derivados ácidos y glucósidos de la quercetina respectivamente. Las mejores energías de unión correspondieron a la rutina (-9.1 kcal/mol), quercetin 3,4-O-glucósido (-8.9 kcal/mol), quercetin 4-O-glucósido (-8.0 kcal/mol), quercetin 3-O-glucósido (-7.9 kcal/mol), quercitrin (-7.7 kcal/mol) y quercetina (-7.6 kcal/mol).

Las posiciones en el sitio activo de la MGAM se muestran en el anexo IV. De acuerdo con los parámetros de reactividad obtenidos en análisis previos, los ligandos que generaron mayor afinidad de unión podrían ser posibles inhibidores de la MGAM. Sin embargo, el resto de los ligandos podrían tener la misma actividad a pesar de presentar altas energías de unión respecto a los ligandos destacados anteriormente. Esto se debe a que las interacciones de los flavonoides con los aminoácidos del sitio activo se dan principalmente a través de los grupos -OH presentes en su estructura, ya que se ha reportado que muchas de las propiedades biológicas de los flavonoides se relacionan con los grupos hidroxilo (-OH) que componen su estructura (Kumar & Pandey, 2013; Ortega et al., 2018). Por lo tanto, es posible que todos los ligandos *in vitro* e *in vivo* presenten actividad inhibitoria a diferentes concentraciones. No obstante, con la predicción teórica de la reactividad química e interacción molecular, y a través de las energías de unión obtenidas, se genera una idea de cómo determinados compuestos pueden interaccionar con el receptor (MGAM).

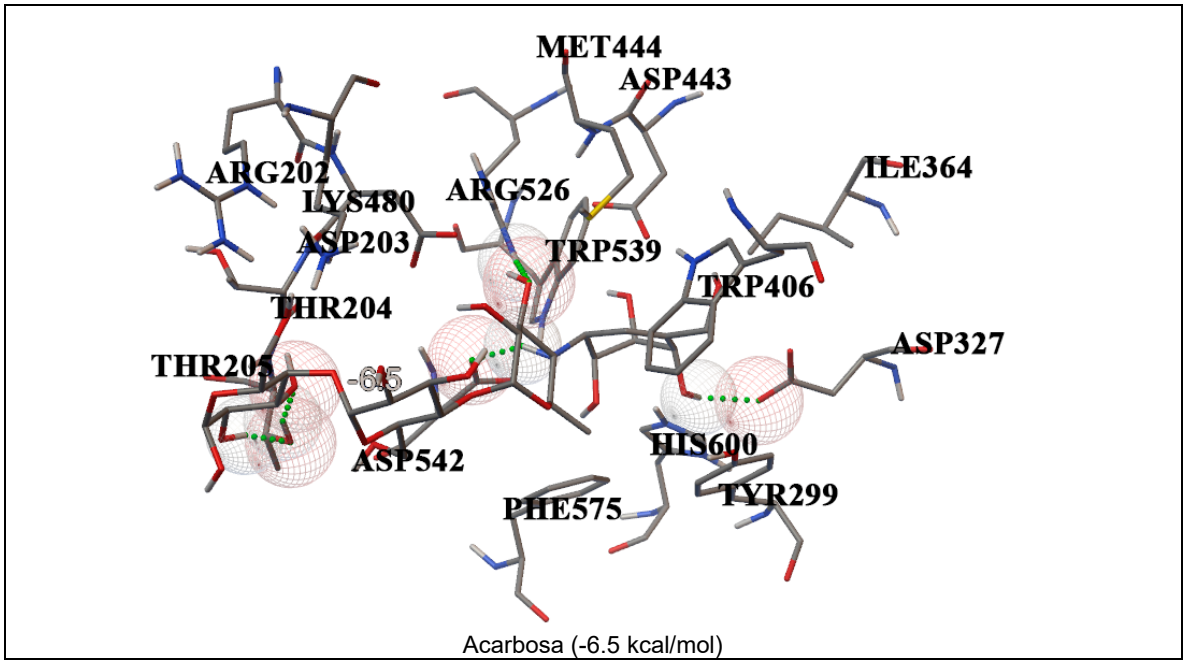
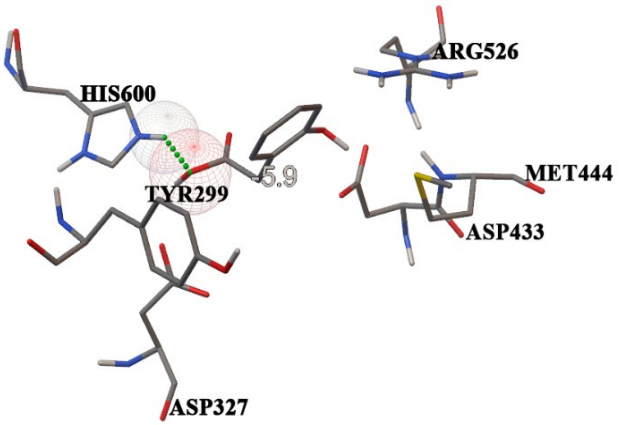
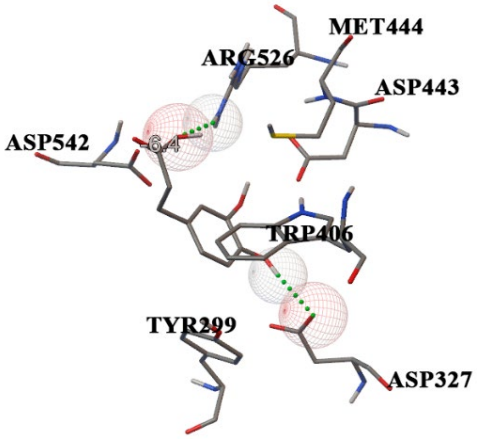


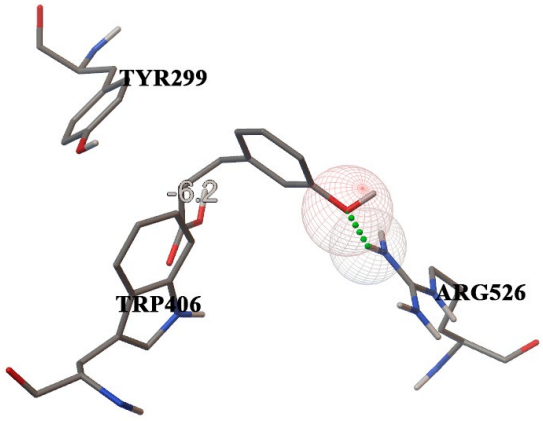
Figura 15. Interacciones π y puentes de hidrógeno de la acarbosa los cuales se muestran en línea punteada color verde en el sitio activo de la MGAM.



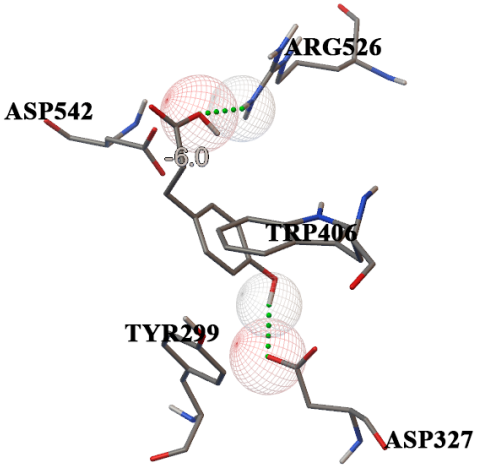
Ácido 2-hidroxifenilacético (-5.9 kcal/mol)



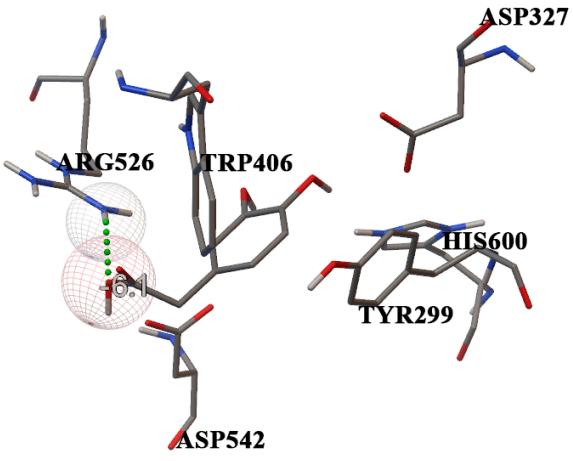
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico (-6.4 kcal/mol)



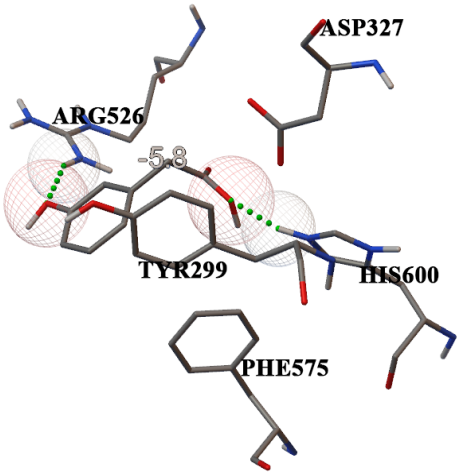
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico (-6.2 kcal/mol)



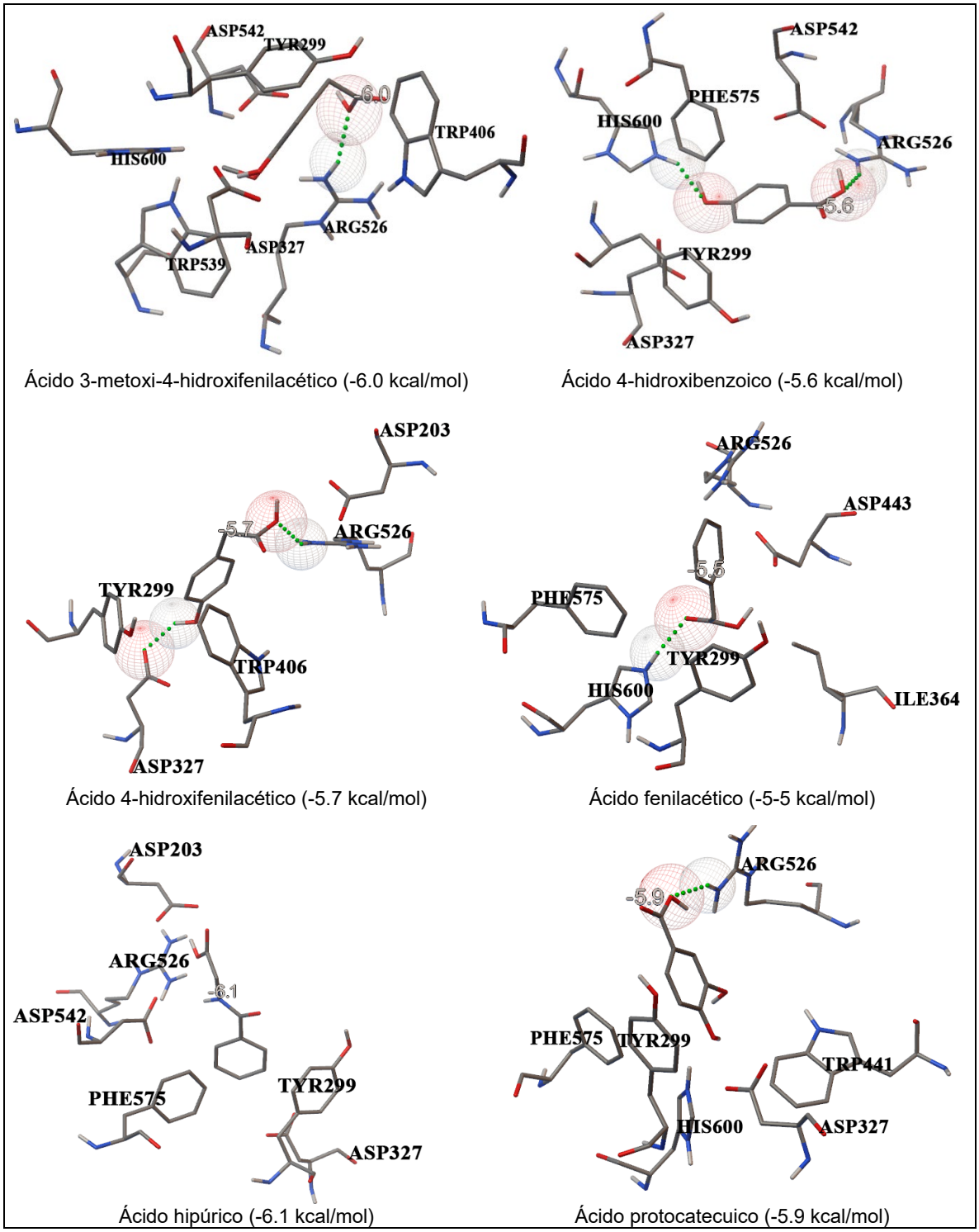
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico (-6.0 kcal/mol)



Ácido 3,4-dihidroxifenilacético (-6.1 kcal/mol)



Ácido 3-hidroxifenilacético (-5.8 kcal/mol)



Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético (-6.0 kcal/mol)

Ácido 4-hidroxibenzoico (-5.6 kcal/mol)

Ácido 4-hidroxifenilacético (-5.7 kcal/mol)

Ácido fenilacético (-5-5 kcal/mol)

Ácido hipúrico (-6.1 kcal/mol)

Ácido protocatecuico (-5.9 kcal/mol)

Figura 16. Interacciones π y puentes de hidrógeno de los derivados ácidos los cuales se muestran en línea punteada color verde en el sitio activo de la MGAM.

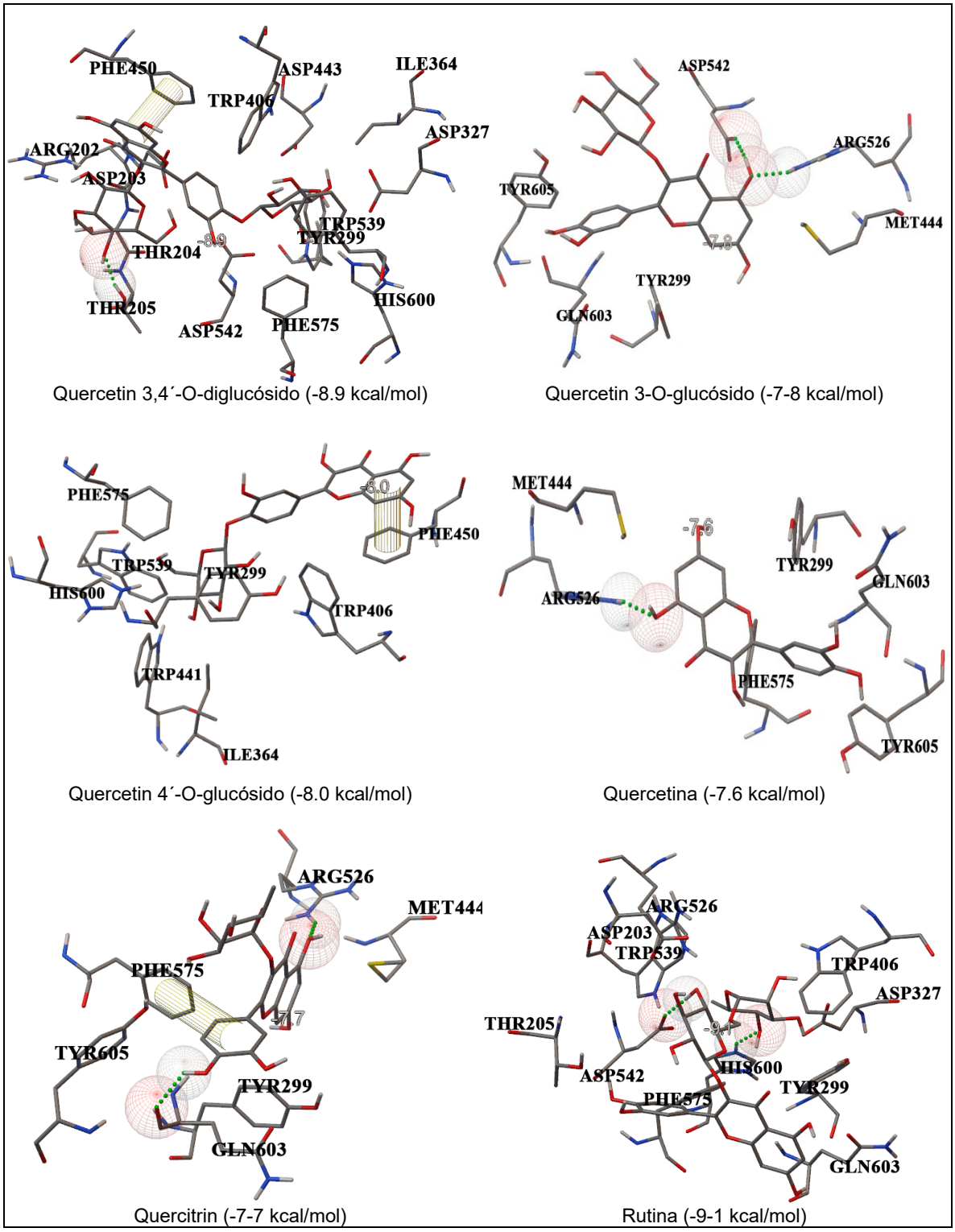


Figura 17. Interacciones π y puentes de hidrógeno de la quercetina y los glucósidos de quercetina los cuales se muestran en línea punteada color verde en el sitio activo de la MGAM.

Por otro lado, se realizaron acoplamientos moleculares con los sustratos D-maltosa y 4-nitrofenil-α-D-glucopiranósido (PNPG). En la Figura 16 se muestran los aminoácidos y enlaces de puentes de hidrógeno generados en el acoplamiento molecular rígido entre los sustratos y el sitio activo de la MGAM. En el anexo IV se presentan las posiciones del PNPG y maltosa sobre el sitio activo de la MGAM. En el acoplamiento molecular entre el PNPG y la MGAM se mostró una afinidad de unión de -6.9 kcal/mol, y la interacción con los residuos de aminoácidos His600, Asp542, Arg526, Asp443 y Tyr299. Además, se identificó la formación de dos puentes de hidrógeno con los aminoácidos His600 y Arg526. En tanto con la maltosa, la energía de unión obtenida fue de -6.5 kcal/mol. La maltosa interaccionó con los aminoácidos del sitio activo Asp203, Asp327, Tyr299, Asp542, His600, Trp441, Met444, Asp526, Trp406 y Trp539, y se generaron enlaces de puentes de hidrógeno con His600 y Arg526.

Las interacciones de los sustratos se compararon con el inhibidor de referencia. Tanto el PNPG como la maltosa presentaron energías de unión similares a la registrada por la acarbosa (-6.5 kcal/mol), lo cual comprueba el efecto inhibitorio *in vivo* de este fármaco, al ejercer una acción tipo competitiva e impedir que la MGAM degrade sus sustratos para su posterior absorción (Bischoff, 1994; Spieler et al., 2010).

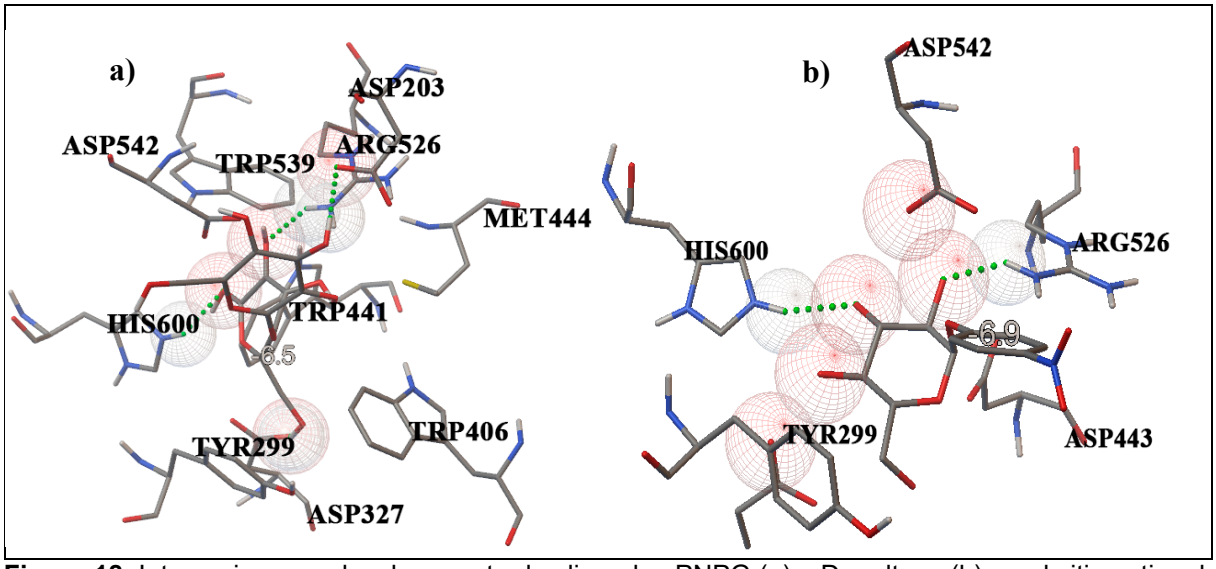


Figura 18. Interacciones moleculares entre los ligandos PNPG (a) y D-maltosa (b) en el sitio activo de la MGAM, obtenidas mediante el acoplamiento molecular rígido.

8. CONCLUSIONES

En este trabajo, se comprobó que los metabolitos generados de la degradación de la quercetina tienen interacción con el sitio catalítico de la maltasa glucoamilasa intestinal (MGAM) intestinal humano. De acuerdo con el análisis de acoplamiento molecular, todos los derivados de la quercetina presentaron algún grado de interacción con el sitio activo de la MGAM. Lo cual era de esperarse ya que existen estudios que demuestran que los grupos hidroxilo de los anillos B y C de los flavonoides son responsables de la inhibición de la MGAM por flavonoides. Los derivados de la quercetina que presentaron mayor afinidad por el sitio activo de la MGAM fueron la quercetina como sus glucósidos rutina, quercetin 3,4-O-glucósido, quercetin 4-O-glucósido, quercetin 3-O-glucósido y quercitrin.

Con base en estos resultados la hipótesis planteada en este trabajo podría ser rechazada. Es decir, las moléculas intactas de la quercetina y sus formas glicosiladas tienen mayor afinidad en el sitio activo que los derivados de la quercetina como los ácidos fenólicos. Estos resultados implican que, si se consume un alimento rico en quercetina y este es degradado tras su paso por el sistema digestivo, los derivados de quercetina resultantes tendrán una baja posibilidad de inhibir las MGAM intestinales.

Finalmente, para posteriores estudios experimentales se recomienda realizar ensayos de inhibición con los metabolitos con mayor energía de unión disponibles en el mercado. Asimismo, se sugiere abordar más estos resultados con estudios de dinámica molecular, para visualizar la trayectoria de los metabolitos en el sitio activo de la MGAM.

9. BIBLIOGRAFIA

Ademiluyi, A. O., Oboh, G., Aragbaiye, F. P., Tech, M., Oyeleye, S. I., Tech, M., Ogunsuyi, O. B., & Tech, B. (2015). Antioxidant properties and in vitro a -amylase and a -glucosidase inhibitory properties of phenolics constituents from different varieties of Corchorus spp . *Journal of Taibah University Medical Sciences*, *10*(3), 278–287. https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2014.11.005

Alonso, M., Santiago, A., Moreno, A., Carramiñana, F., López, F., Miravet, S., Seguí, M., Soriano, T., Pérez, M. P., Escribano, J., Mancera, J., Comas, J. M., Barquilla, A., & Gasull, V. (2015). *Guías Clínicas. Diabetes mellitus*. EUROMEDICE, Ediciones Médicas, S.L. http://2016.jornadasdiabetes.com/docs/Guia_Diabetes_Semergen.pdf

Alvarado-Díaz, C. S., Gutiérrez-Méndez, N., Mendoza-López, M. L., Rodríguez-Rodríguez, M. Z., Quintero-Ramos, A., Landeros-Martínez, L. L., Rodríguez-Valdez, L. M., Rodríguez-Figueroa, J. C., Pérez-Vega, S., Salmeron-Ochoa, I., & Leal-Ramos, M. Y. (2019). Inhibitory effect of saccharides and phenolic compounds from maize silks on intestinal α-glucosidases. *Journal of Food Biochemistry*, *43*(7), 1–11. https://doi.org/10.1111/jfbc.12896

Aramburu, V., López, M., & Fasoli, H. (2018). Propiedades catalíticas de grafeno dopado con metales de transición. *Revista Materia*, *23*(2). https://doi.org/10.1590/S1517-707620180002.0468

Aranda, J. S., & Salgado, E. (2008). Modelación de catálisis enzimática con enzimas alostéricas. *Revista Mexicana de Ingeníeria Química*, *7*(1), 21–27.

Barquilla, A. (2017). Brief update on diabetes for primary care doctors. *Revista Española Sanid Penit*, *17*, 57–65.

Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, *98*(7), 5648–5652. https://doi.org/10.1063/1.464913

Benalla, W., Bellahcen, S., & Bnouham, M. (2010). Antidiabetic Medicinal Plants as a Source of Alpha Glucosidase Inhibitors. *Current Diabetes Reviews*, *6*(4), 247–254. https://doi.org/10.2174/157339910791658826

Bischoff, H. (1994). Pharmacology of α-glucosidase inhibition. *European Journal of Clinical Investigation*, *24*(3), 3–10. https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1994.tb02249.x

Bravo, L. (2009). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, *56*(11), 317–333. https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x

Brodowska, K. M. (2017). Natural flavonoids: classification, potential role, and application of flavonoid analogues. *European Journal of Biological Research*, *7*(2), 108–123. https://doi.org/10.5281/zenodo.545778

Cancès, E., Mennucci, B., & Tomasi, J. (1997). A new integral equation formalism for the polarizable continuum model: Theoretical background and applications to Isotropic and anisotropic dielectrics. *Journal of Chemical Physics*, *107*(8), 3032–3041. https://doi.org/10.1063/1.474659

Cantudo, R. (2012). *SIMULACIÓN MOLECULAR Y SU POTENCIAL APLICACIÓN EN EL ÁMBITO DE LA INGENIERÍA QUÍMICA* (Tesis). Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales y de

Telecomunicación. Universidad De Cantabria.

Casal Domínguez, M., & Pinal-Fernandez, I. (2014). Guía de práctica clínica de diabetes mellitus tipo 2. *Archivos de Medicina*, *10*(2), 1–18. https://doi.org/10.3823/1212

Chandrasekaran, K., & Thilak Kumar, R. (2015). Structural, spectral, thermodynamical, NLO, HOMO, LUMO and NBO analysis of fluconazole. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *150*, 974–991. https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.06.018

Chattara, P. K., Maiti, B., & Sarkar, U. (2003). A Unified Treatment of Chemical Reactivity and Selectivity. *The Journal of Physical Chemistry*, *107*(25), 4973–4975. https://doi.org/10.1021/tx050322m

Chermette, H. (1999). Chemical reactivity indexes in density functional theory. *Journal of Computational Chemistry*, *20*(1), 129–154. https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(19990115)20:1<129::AID-JCC13>3.0.CO;2-A

Courts, F. L., & Williamson, G. (2015). The occurrence , fate and biological activities of C- glycosyl flavonoids in the human diet . *Food Science and Nutrition*, *55*(10), 1352–1367. https://doi.org/10.1080/10408398.2012.694497

Crozier, A., Jaganath, I. B., & Clifford, M. N. (2009). Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, *26*(8), 1001–1043. https://doi.org/10.1039/b802662a

Cuevas, G. (2005). Química Computacional. *Química Computacional*, *2*, 33–42. https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/56_2/quimica_comutacional.pdf

Day, A., Bao, Y., Morgan, M., & Williamson, G. (2000). CONJUGATION POSITION OF QUERCETIN GLUCURONIDES AND EFFECT ON BIOLOGICAL ACTIVITY. *Free Radical Biology & Medicine*, *29*(12), 1234–1243. https://doi.org/10.1016 / s0891-5849 (00) 00416-

Del Olmo, E., Carrillo, M., & Aguilera, S. (2008). Actualización del tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2. *Inf Ter Sist Nac Salud*, *32*(1), 1–16.

Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J. P. E., Tognolini, M., Borges, G., & Crozier, A. (2013). *Dietary (Poly)phenolics in Human Health: Structures, Bioavailability, and Evidence of Protective Effects Against Chronic Diseases*. *18*(14), 1818–1892. https://doi.org/10.1089/ars.2012.4581

Diaz-Sotomayor, M., Quezada-Calvillo, R., Avery, S. E., Chacko, S. K., Yan, L. K., Lin, A. H. M., Ao, Z. H., Hamaker, B. R., & Nichols, B. L. (2013). Maltase-glucoamylase modulates gluconeogenesis and sucrase-isomaltase dominates starch digestion glucogenesis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *57*(6), 704–712. https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182a27438

Divins, M. (2009). Información de mercado. *Farmacia Profesional*, *23*(6), 28–33.

Duda-Chodak, A., Tarko, T., Satora, P., & Sroka, P. (2015). Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. *European Journal of Nutrition*, *54*(3), 325–341. https://doi.org/10.1007/s00394-015-0852-y

Ernzerhof, M., & Scuseria, G. E. (1999). Assessment of the Perdew-Burke-Ernzerhof exchange-correlation functional. *Journal of Chemical Physics*, *110*(11), 5029–5036. https://doi.org/10.1063/1.478401

Fabián, S. (2020). *Cálculos Computacionales de Estructuras Moleculares*. Universidad de Alicante.

Francl, M. M., Pietro, W. J., Hehre, W. J., Binkley, J. S., Gordon, M. S., Francl, M. M., Pietro, W. J., Hehre, W. J., Binkley, J. S., & Gordon, M. S. (1982). Selfconsistent molecular orbital methods . XXIII . A polarizationtype basis set for secondrow elements. *J. Chem. Phys.*, *77*(7), 3654–3665. https://doi.org/10.1063/1.444267

García-Alcalá, H., Meaney-Mendiolea, E., Vargas-Ayala, G., Pulido, M. E., & Aldrete-Velasco, J. (2011). Revisión actual de los conocimientos sobre la absorción intestinal de carbohidratos y su relación con la prevención del riesgo cardiovascular. *Medicina Interna de Mexico*, *27*(3), 270–280.

Gee, J., DuPont, S. M., Rhodes, M., & Johnson, I. (1998). QUERCETIN GLUCOSIDES INTERACT WITH THE INTESTINAL GLUCOSE. *Radic Libre Biol Med*, *25*(1), 19–25. https://doi.org/10.1016 / s0891-5849 (98) 00020-3

Hakamata, W., Kurihara, M., Okuda, H., Nishio, T., & Oku, T. (2009). Design and Screening Strategies for α-Glucosidase Inhibitors Based on Enzymological Information. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *9*(1), 3–12. https://doi.org/10.2174/156802609787354306

Hariharan, P. C., & Pople, J. A. (1973). The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies. *Theoretica Chimica Acta*, *28*(3), 213–222. https://doi.org/10.1007/BF00533485

Hauri, H. P., Sterchi, E. E., Bienz, D., Fransen, J. A. M., & Marxer, A. (1985). Expression and intracellular transport of microvillus membrane hydrolases in human intestinal epithelial cells. *Journal of Cell Biology*, *101*(3), 838–851. https://doi.org/10.1083/jcb.101.3.838

Hirshfeld, F. L. (1977). Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. *Theoretica Chimica Acta*, *44*(2), 129–138. https://doi.org/10.1007/BF00549096

Honda, M., & Hara, Y. (1993). Inhibition of Rat Small Intestinal Sucrase and α-Glycosidase Activities by Tea Polyphenols. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, *57*(1), 123–124. https://doi.org/10.1271/bbb.57.123

Instituto Mexicano del Seguro Social. (2018). *Diagnóstico y Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México, Instituto Mexicano del Seguro Social*. 55. http://imss.gob.mx/profesionales-salud/gpc

International Diabetes Federation. (2019). IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium. In *Atlas de la Diabetes de la FID*. http://www.idf.org/sites/default/files/Atlas-poster-2014_ES.pdf

Jaganath, I. B., Mullen, W., Edwards, C. A., & Crozier, A. (2006). The relative contribution of the small and large intestine to the absorption and metabolism of rutin in man. *Free Radical Research*, *40*(10), 1035–1046. https://doi.org/10.1080/10715760600771400

Jo, S. H., Ka, E. H., Lee, H. S., Apostolidis, E., Jang, H. D., & Kwon, Y. I. (2009). Comparison of antioxidant potential and rat intestinal α-glucosidases inhibitory activities of quercetin, rutin, and isoquercetin. *International Journal of Applied Research in Natural Products*, *2*(4), 52–60.

Jones, K., Sim, L., Mohan, S., Kumarasamy, J., Liu, H., Avery, S., Naim, H. Y., Quezada-Calvillo, R., Nichols, B. L., Mario Pinto, B., & Rose, D. R. (2011). Mapping the intestinal alpha-glucogenic

enzyme specificities of starch digesting maltase-glucoamylase and sucrase-isomaltase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *19*(13), 3929–3934. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2011.05.033

Kang, G. G., Francis, N., Hill, R., Waters, D., Blanchard, C., & Santhakumar, A. B. (2019). Dietary Polyphenols and Gene Expression in Molecular Pathways Associated with Type 2 Diabetes Mellitus : A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(140), 1–26.

Kim, M. J., Lee, S. B., Lee, H. S., Lee, S. Y., Baek, J. S., Kim, D., Moon, T. W., Robyt, J. F., & Park, K. H. (1999). Comparative study of the inhibition of α-glucosidase, α-amylase, and cyclomaltodextrin glucanosyltransferase by acarbose, isoacarbose, and acarviosine-glucose. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *371*(2), 277–283. https://doi.org/10.1006/abbi.1999.1423

Koch, W., & Holthausen, M. C. (2001). A Chemist's Guide to Density Functional Theory. In *Journal of the American Chemical Society* (Second Edi, Issue 11). https://doi.org/10.1021/ja004799q

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids : An Overview. *The Scientific World Journal*, *2013*, 1–16. https://doi.org/10.1155/2013/162750

Kwon, Y., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2008). Inhibitory potential of wine and tea against α-amilase and α-glucosidase for management of hyperglycemia linked to type 2 diabetes. *Journal of Food Biochemistry*, *32*, 15–31. https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2007.00165.x

Landeros, L., Gutiérrez, N., & Rodríguez, L. M. (2018). Acoplamiento molecular del fármaco acarbosa empleado contra la diabetes mellitus. Un análisis del sitio activo de la maltasa-glucoamilasa. *MEMORIAS CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINARIA*, *6*(1), 1–167.

Larson, A. J., Symons, J. D., & Jalili, T. (2012). Therapeutic Potential of Quercetin to Decrease Blood Pressure: Review of Efficacy and Mechanisms. *Advances in Nutrition*, *3*(1), 39–46. https://doi.org/10.3945/an.111.001271

Lee, B. H., & Hamaker, B. R. (2018). Maltase Has Most Versatile α-Hydrolytic Activity Among the Mucosal α-Glucosidases of the Small Intestine. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *66*(June), S7–S10. https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001954

Leiva, E., & Estrín, D. (2011). Química computacional. Simulaciones matemáticas del comportamiento de átomos y moléculas. *Ciencia Hoy*, *21*(124), 46–50.

Lewars, E. G. (2016). *Computational chemistry: Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics* (Second Edi). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30916-3

Li, Y. Q., Zhou, F. C., Gao, F., Bian, J. S., & Shan, F. (2009). Comparative evaluation of quercetin, isoquercetin and rutin as inhibitors of α-glucosidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(24), 11463–11468. https://doi.org/10.1021/jf903083h

Lim, J., Kim, D. K., Shin, H., Hamaker, B. R., & Lee, B. H. (2019). Different inhibition properties of catechins on the individual subunits of mucosal α-glucosidases as measured by partially-purified rat intestinal extract. *Food and Function*, *10*(7), 4407–4413. https://doi.org/10.1039/c9fo00990f

Limanto, A., Simamora, A., Santoso, A. W., & Timotius, K. H. (2019). Antioxidant, α-Glucosidase Inhibitory Activity and Molecular Docking Study of Gallic Acid, Quercetin and Rutin: A Comparative

Study. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, *3*(2), 67. https://doi.org/10.21705/mcbs.v3i2.60

Lin, A. H. M., Hamaker, B. R., & Nichols, B. L. (2012). Direct starch digestion by sucrase-isomaltase and maltase-glucoamylase. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *55*(SUPPL.2), 43–45. https://doi.org/10.1097/01.mpg.0000421414.95751.be

Loizzo, M. R., Pugliese, A., Bonesi, M., Tenuta, M. C., Menichini, F., Xiao, J., & Tundis, R. (2016). Edible Flowers: A Rich Source of Phytochemicals with Antioxidant and Hypoglycemic Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(12), 2467–2474. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03092

Lucila, L., Martínez, L., Méndez, N. G., Pedro, J., Báez, P., Aydeé, N., Bojorge, S., Pablo, J., Ríos, F. D. L., Amelia, H., Castillo, P., Antonio, M., Rojo, C., María, L., & Valdez, R. (2021). *The Oxidative Process of Acarbose , Maysin , and Luteolin with Maltase - Glucoamylase : Molecular Docking and Molecular Dynamics Study*.

Mahmud, T., Tornus, I., Egelkrout, E., Wolf, E., Uy, C., Floss, H. G., & Lee, S. (1999). Biosynthetic studies on the α-glucosidase inhibitor acarbose in actinoplanes sp.: 2-epi-5-epi-valiolone is the direct precursor of the valienamine moiety. *Journal of the American Chemical Society*, *121*(30), 6973–6983. https://doi.org/10.1021/ja991102w

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jime, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *79*, 727–747. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

Mendoza-Wilson, A. M., & Glossman-Mitnik, D. (2005). CHIH-DFT study of the electronic properties and chemical reactivity of quercetin. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, *716*(1–3), 67–72. https://doi.org/10.1016/j.theochem.2004.10.083

Morris, G., Huey, R., William, L., Sanner, M., Belew, R., Goodsell, D., & Olson, A. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, *30*(16), 2785–2791. https://doi.org/10.1002/jcc.21256

Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, *19*(14), 1639–1662. https://doi.org/10.1002/(sici)1096-987x(19981115)19:14<1639::aid-jcc10>3.0.co;2-b

Nagy, P. I., Dunn, W. J., Alagona, G., & Ghio, C. (1993). Theoretical studies of the 2- and 4-hydroxybenzoic acids with competing hydrogen bonds in the gas phase and aqueous solution. *Journal of Physical Chemistry*, *97*(18), 4628–4642. https://doi.org/10.1021/j100120a014

Nichols, B. L., Quezada-Calvillo, R., Robayo-Torres, C. C., Ao, Z., Hamaker, B. R., Butte, N. F., Marini, J., Jahoor, F., & Sterchi, E. E. (2009). Mucosal Maltase-Glucoamylase Plays a Crucial Role in Starch Digestion and Prandial Glucose Homeostasis of Mice. *The Journal of Nutrition*, *139*(4), 684–690. https://doi.org/10.3945/jn.108.098434

OMS. (2018). *Diabetes mellitus*. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes

Ortega, L., Cruz, R. G., Martínez, R. M., Valencia, O. E., López, A., Velázquez, R. G., & Ramírez, C.

(2018). Use of Flavonoids As Active Ingredient in Functional Foods. *AGRO Productividad*, *11*(11), 121–127. https://doi.org/10.32854/agrop.v11i11.1296

Ortiz-Andrade, R. (2012). ¿Qué sabe usted acerca de... los antidiabéticos orales (ADO's)? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, *43*(1), 79–84.

Padmanabhan, J., Parthasarathi, R., Subramanian, V., & Chattaraj, P. K. (2006). Group philicity and electrophilicity as possible descriptors for modeling ecotoxicity applied to chlorophenols. *Chemical Research in Toxicology*, *19*(3), 356–364. https://doi.org/10.1021/tx050322m

Parkar, S. G., Stevenson, D. E., & Skinner, M. A. (2008). The potential influence of fruit polyphenols on colonic micro flora and human gut health. *International Journal of Food Microbiology*, *124*, 295–298. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.03.017

Parr, R. G. (1980). DENSITY FUNCTIONAL THEORY OF ATOMS AND MOLECULES. *Horizons of Quantum Chemistry*, *1*, 5–15.

Parr, R. G., Szentpály, L. V., & Liu, S. (1999). Electrophilicity index. *Journal of the American Chemical Society*, *121*(9), 1922–1924. https://doi.org/10.1021/ja983494x

Parthasarathi, R., Subramanian, V., Roy, D. R., & Chattaraj, P. K. (2004). Electrophilicity index as a possible descriptor of biological activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *12*(21), 5533–5543. https://doi.org/10.1016/j.bmc.2004.08.013

Pearson, R. G. (1963). Hard and Soft Acids and Bases. *Journal of the American Chemical Society*, *85*(22), 3533–3539. https://doi.org/10.1021/ja00905a001

Pérez, I. (2016). Diabetes mellitus. *Gac Med Mex*, *152*(1), 50–55. https://www.anmm.org.mx/GMM/2016/s1/GMM_152_2016_S1_050-055.pdf

Prieto, F. D., Arciniega, M., & Medina, J. (2018). Molecular docking: current advances and challenges. *Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol.*, *21*(1), 65–87. https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143

Pritchard, H. O., & Skinner, H. A. (1955). The Concept of Electronegativity. *Chemical Reviews*, *55*(4), 745–786. https://doi.org/10.1021/cr50004a005

Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Oliveira, E. F. T., Sousa, J. L. C., Tomé, S. M., Ramos, M. J., Silva, A. M. S., Fernandes, P. A., & Fernandes, E. (2017). α-Glucosidase inhibition by flavonoids: an in vitro and in silico structure–activity relationship study. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *32*(1), 1216–1228. https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1368503

Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Oliveira, E. F. T., Sousa, J. L. C., Tomé, S. M., Ramos, M. J., Silva, A. M. S., Pedro, A., Fernandes, E., Proença, C., Freitas, M., Ribeiro, D., Oliveira, E. F. T., Sousa, L. C., Tomé, S. M., Ramos, M. J., Silva, A. M. S., Fernandes, P. A., … Fernandes, E. (2017). α-Glucosidase inhibition by flavonoids : an in vitro and in silico structure-activity relationship study. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *32*(1), 1216–1228. https://doi.org/10.1080/14756366.2017.1368503

Pyner, A., Nyambe-Silavwe, H., & Williamson, G. (2017). Inhibition of human and rat sucrase and maltase activities to assess antiglycemic potential: Optimization of the assay using acarbose and polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(39), 8643–8651.

https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03678

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, *27*(1), 76–89. https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418

Ramakrishnan, P. (2019). Electronegativity: A Force or Energy. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, *Volume-3*(Issue-4), 665–685. https://doi.org/10.31142/ijtsrd23864

Rassolov Vitaly, Ratner, M. A., Pople, J. A., Redfern, P. C., & Curtiss, L. A. (2001). 6-31G∗ Basis Set for Third-Row Atoms. *Journal of Computational Chemistry*, *22*(9), 976–984. https://doi.org/10.1002/jcc.1058

Reed, A. E., Weinstock, R. B., & Weinhold, F. (1985). Natural population analysis. *The Journal of Chemical Physics*, *83*(2), 735–746. https://doi.org/10.1063/1.449486

Ren, L., Qin, X., Cao, X., Wang, L., Bai, F., Bai, G., & Shen, Y. (2011). Structural insight into substrate specificity of human intestinal maltase-glucoamylase. *Protein and Cell*, *2*(10), 827–836. https://doi.org/10.1007/s13238-011-1105-3

Reyes, F., Pérez, M., Alfonso, E., Ramírez, M., & Jiménez, Y. (2016). Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *CCM*, *20*(1), 98–121. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812016000100009

Rodríguez Rivera, N. S., Cuautle Rodríguez, P., & Molina Guarneros, J. A. (2017). Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México. *Rev Hosp Jua Mex*, *84*(4), 203–211. www.medigraphic.com/hospitaljuarezwww.medigraphic.org.mxwww.medigraphic.org.mx

Saldívar, F., Medina, J., & Prieto, F. (2017). *Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional*. *28*, 51–58. https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002

Saqib, U., & Siddiqi, M. I. (2008). Probing ligand binding interactions of human alpha glucosidase by homology modeling and molecular docking. *International Journal of Integrative Biology*, *2*(2), 116–121.

Schlegel, H. B. (2003). Exploring Potential Energy Surfaces for Chemical Reactions: An Overview of Some Practical Methods. *Journal of Computational Chemistry*, *24*(12), 1514–1527.

Shi, G., Li, Y., Cao, Q., Wu, H., Tang, X., & Gao, X. (2019). Biomedicine & Pharmacotherapy In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications : A systematic review of the literature. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *109*, 1085–1099. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.130

Sim, L., Quezada-Calvillo, R., Sterchi, E. E., Nichols, B. L., & Rose, D. R. (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), 782–792. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2007.10.069

Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, B. M., & Rose, D. R. (2010). Structural basis for

substrate selectivity in human maltase-glucoamylase and sucrase-isomaltase N-terminal domains. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(23), 17763–17770. https://doi.org/10.1074/jbc.M109.078980

Spieler, V., Schulze, M., Trung, T. N., & Tüshaus, J. (2010). *Acarbose*. *July*, 1–36.

Tadera, K. T., Minami, Y. M., Takamatsu, K. T., & Matsuoka, T. M. (2006). Inhibition of α-Glucosidase and α-Amylase by Flavonoids. *J Nutr Sci Vitaminol*, *52*, 149–153. https://doi.org/10.3177/jnsv.52.149

Tundis, R., Loizzo, M. R., & Menichini, F. (2010). Natural Products as α-Amylase and α-Glucosidase Inhibitors and their Hypoglycaemic Potential in the Treatment of Diabetes: An Update. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, *10*(4), 315–331. https://doi.org/10.2174/138955710791331007

Valdés Ramos, E., & Camps Arjona, M. del C. (2013). Clinical characteristics and frequency of chronic complications in people with newly diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, *29*(2), 121–131.

Valencia Avilés, E., Figueroa, I., Sosa Martínez, E., Bartolomé Camacho, M., Martínez Flores, H., & García Pérez, M. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de La Facultad de Ciencias Químicas*, *16*, 15–29.

Valles, A., Rosales, L., Serrato, L., & Farías, L. (2014). Métodos y Usos de la Química Computacional Computational Chemistry Methods and its Applications. *Revista Científica de La Universidad Autónoma de Coahuila Métodos*, *6*(11), 16–21.

Van Beers, E. H., Büller, H. A., Grand, R. J., Einerhand, A. W. C., & Dekker, J. (1995). Intestinal brush border glycohydrolases: Structure, function, and development. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, *30*(3), 197–262. https://doi.org/10.3109/10409239509085143

Vélez, O. (2010). Estudios teóricos sobre la estructura y reactividad química de complejos de molibdeno. Importancia del cruzamiento entre estados electrónicos. In *Tesis* (Tesis). Departamento de Química Física y Analítica. Universotat Jaume.

Walle, T., Otake, Y., Walle, U. K., & Wilson, F. A. (2000). Human Nutrition and Metabolism Completely Hydrolyzed in Ileostomy Patients before Absorption. *The Journal of Nutrition*, *130*(11), 2658–2661. https://doi.org/10.1093/jn/130.11.2658

Wu, Y., Wan, J., Choe, U., Pham, Q., Schoene, N. W., He, Q., Li, B., Yu, L., & Wang, T. T. Y. (2019). Interactions Between Food and Gut Microbiota : Impact on Human Health. *Annu Rev Food Sci Technol*, *10*, 389–408. https://doi.org/10.1146 / annurev-food-032818-121303

Yang, Y., Lian, G., & Yu, B. (2015). Naturally Occurring Polyphenolic Glucosidase Inhibitors. *Israel Journal of Chemistry*, *55*, 268–284. https://doi.org/10.1002/ijch.201400134

Yero, A. H., Herrera, I. O. T., Carrasco, I. I. B., Alfredo, I. I. I., Hadad, N., Elías-calles, I. V. L. C., Pérez, V. L., Frank, V. I., & Valdés, F. (2011). Pharmacological treatment of prediabetes. *Revista Cubana de Endocrinología*, *22*(1), 36–45.

Yilmazer-Musa, M., Griffith, A. M., Michels, A. J., Schneider, E., & Frei, B. (2012). Grape seed and tea extracts and catechin 3-gallates are potent inhibitors of α-amylase and α-glucosidase activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(36), 8924–8929. https://doi.org/10.1021/jf301147n

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., & Kang, W. (2014). α-Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, *3*(3–4), 136–174. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2014.11.003

Young, D. C. (2001). *Computational Chemistry. A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems*. John Wiley & Sons.

Yuriev, E., Holien, J., & Ramsland, P. A. (2015). Improvements , trends , and new ideas in molecular docking : 2012 – 2013 in review. *J. Mol. Recognit.*, *28*, 581–604. https://doi.org/10.1002/jmr.2471

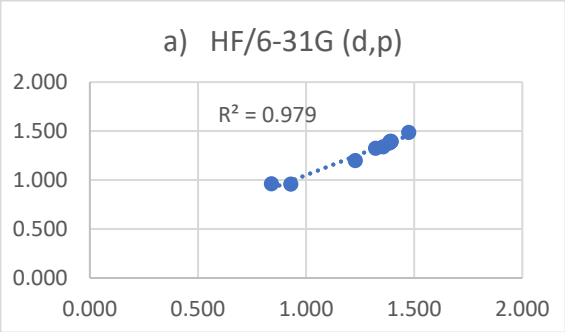
Zhang, B., Li, X., Sun, W., Xing, Y., Xiu, Z., Zhuang, C., & Dong, Y. (2017). Dietary Flavonoids and Acarbose Synergistically Inhibit α-Glucosidase and Lower Postprandial Blood Glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*, 8319–8330. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02531

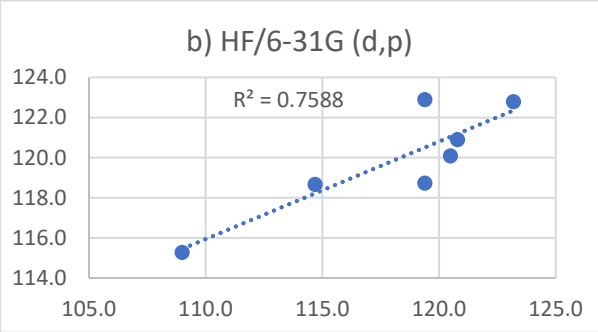
Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: Two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theoretical Chemistry Accounts*, *120*(1–3), 215–241. https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x

10. ANEXOS

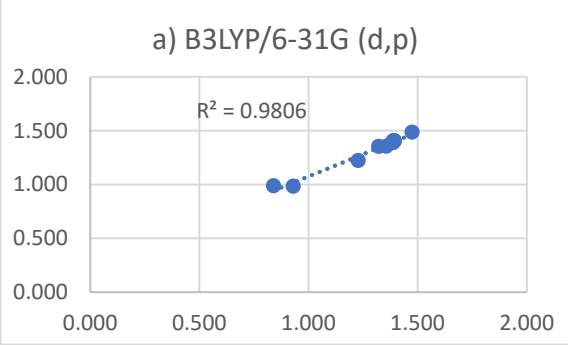
Anexo I. Correlaciones obtenidas del método DFT y HF para el ácido 4-hidroxibenzoico.

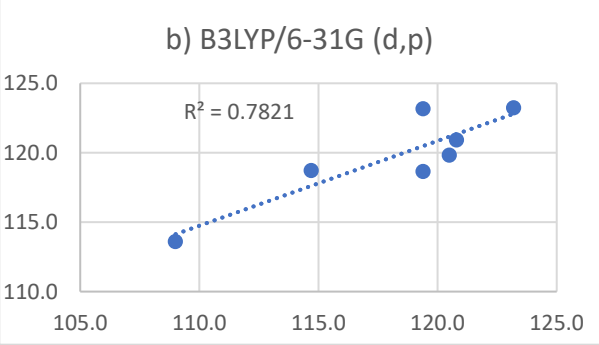
- Correlación de las mediciones de distancia (a) y ángulos de enlace (b) del metabolito ácido 4-hidroxibenzoico en comparación de los datos experimentales y el método HF/6-31G(d,p).



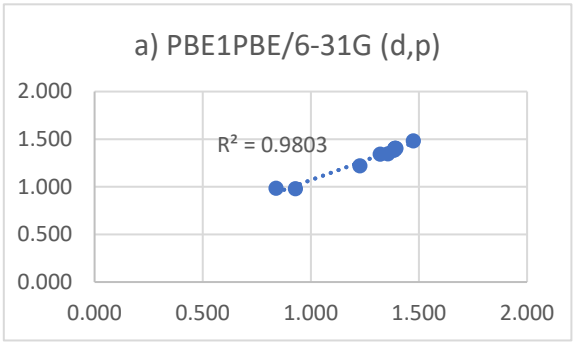


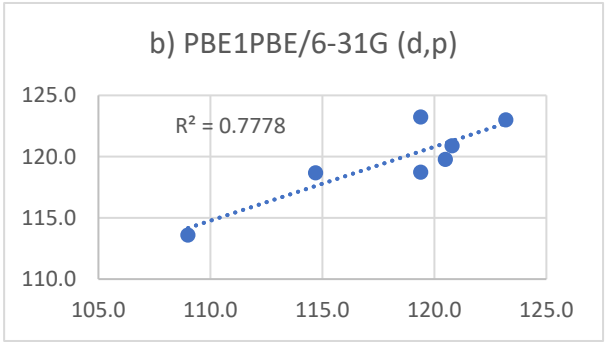
- Correlación de las mediciones de distancia (a) y ángulos de enlace (b) del metabolito ácido 4-hidroxibenzoico en comparación de los datos experimentales y el método DFT B3LYP/6-31G(d,p).



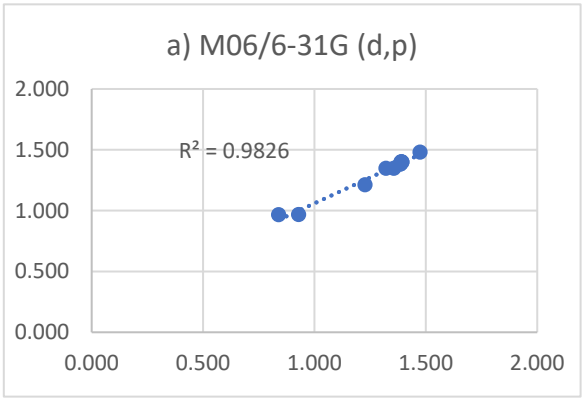


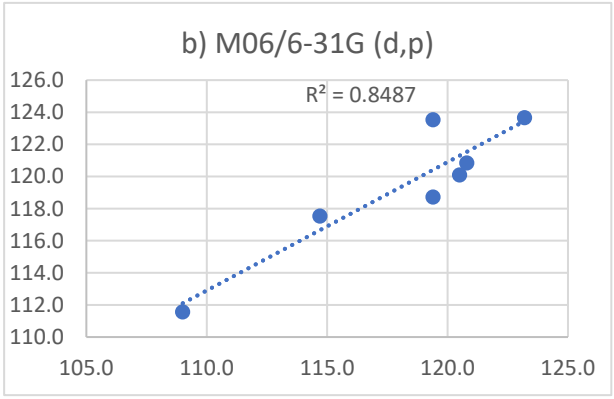
- Correlación de las mediciones de distancia (a) y ángulos de enlace (b) del metabolito ácido 4-hidroxibenzoico en comparación de los datos experimentales y el método DFT PBE1PBE/6-31G(d,p).



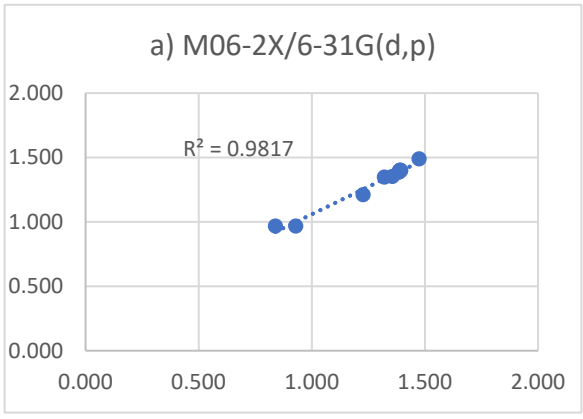


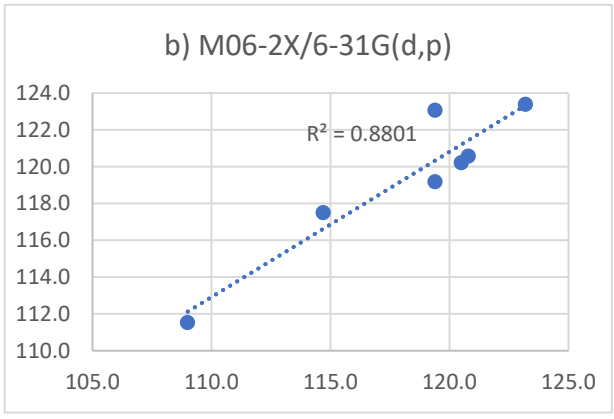
- Correlación de las mediciones de distancia (a) y ángulos de enlace (b) del metabolito ácido 4-hidroxibenzoico en comparación de los datos experimentales y el método DFT M06/6-31G(d,p).





- Correlación de las mediciones de distancia (a) y ángulos de enlace (b) del metabolito ácido 4-hidroxibenzoico en comparación de los datos experimentales y el método DFT M06-2X/6-31G(d,p).





Anexo II. Energía neutra, catiónica y aniónica de las estructuras moleculares calculadas con DFT M06-2X/6-31G (d,p).

ENERGÍAS DTF M06-2X/6-31G (d,p)			
Compuesto	**E0 (ev)**	**EC (ev)**	**EA (ev)**
Acarbosa	-64937.47592	-64931.10449	-64937.08924
Rutina	-61218.46342	-61212.1934	-61220.57237
Quercetin 3-*O*-glucósido	-46650.19465	-46643.94156	-46652.31571
Quercetin 3,4´-*O*-diglucósido	-63263.67674	-63257.09701	-63265.84279
Quercetin 4´-*O*-glucósido	-46649.81148	-46643.45249	-46651.8092
Quercitrin	-44604.02269	-44597.72679	-44605.94644
Quercetina	-30036.39663	-30030.4513	-30038.40052
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico	-17678.12051	-17672.13638	-17678.05444
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético	-16608.77394	-16602.68793	-16608.82466
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico	-15631.89285	-15625.61813	-15632.05868
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico	-15631.89407	-15625.48416	-15632.08613
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético	-17677.66178	-17671.63104	-17677.67563
Ácido 2-hidroxifenilacético	-14562.60723	-14556.15999	-14562.80326
Ácido fenilacético	-12516.20895	-12509.18305	-12516.41568
Ácido 3-hidroxifenilacético	-14562.5321	-14556.04238	-14562.93576
Ácido 4-hidroxifenilacético	-14562.54788	-14556.16788	-14562.77015
Ácido protocatecuico	-15539.62414	-15533.24019	-15540.78128
Ácido 4-hidroxibenzoico	-13493.20417	-13486.35653	-13494.33995
Ácido hipúrico	-17105.31013	-17097.64315	-17106.3907

Anexo III. Análisis de la reactividad local de la acarbosa y los metabolitos de la quercetina a través de las Funciones de Fukui, empleando los esquemas de partición de cargas: Hirshfeld, Mulliken y NPA.

-Acarbosa

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.02802	0.03269	-0.04543	-0.06525	-0.02544	-0.03646
C2	0.00704	0.02318	-0.00958	-0.01389	-0.00577	0.00751
C3	0.00894	0.01279	-0.01590	-0.00642	-0.00668	0.00087
C4	0.04089	0.00604	0.02953	-0.00687	0.02088	-0.00622
C5	0.14954	0.03111	0.07189	0.02940	0.22082	0.05678
C6	0.03384	0.01047	-0.00313	0.00000	-0.03300	-0.00543
C7	0.19096	0.01151	0.15824	-0.00495	0.29174	-0.02998
O8	0.01730	0.02410	0.01962	0.02501	0.01561	0.01902
O9	0.01262	0.00870	0.01096	0.00862	0.00351	0.00200
O10	0.05052	0.00979	0.00980	0.00857	0.04502	0.00589
O11	0.01767	0.00581	0.00959	0.00237	0.00433	0.00110
C12	0.00092	0.00393	-0.00138	-0.00661	-0.00045	-0.00283
C13	0.00205	0.01155	0.00017	0.00644	0.00024	0.00244
C14	0.00158	0.02546	-0.00455	-0.01299	-0.00222	0.00935
C15	0.00691	0.02901	-0.00561	-0.07695	0.00123	-0.05310
C16	0.00236	0.00677	-0.00168	-0.01368	-0.00062	-0.00635
C17	0.00217	0.01220	-0.00194	-0.00769	-0.00153	-0.00545
N18	0.01424	0.28979	-0.00304	0.28578	0.00673	0.53491
O19	0.00270	0.01387	0.00165	0.01144	0.00139	0.00932
O20	0.00288	0.01445	-0.00467	0.01596	-0.00472	0.00706
C21	0.00363	0.01725	0.00360	0.02063	0.00357	0.01832
C22	0.00011	0.00043	-0.00016	-0.00061	-0.00004	-0.00018
C23	0.00014	0.00059	0.00008	0.00018	0.00000	-0.00004
C24	0.00016	0.00068	0.00006	0.00023	-0.00013	-0.00059
C25	0.00018	0.00079	-0.00188	-0.00864	-0.00031	-0.00150
C26	0.00009	0.00038	0.00030	0.00099	-0.00010	-0.00049
C27	0.00019	0.00084	0.00026	0.00181	0.00020	0.00080
O28	0.00025	0.00097	0.00021	0.00077	0.00016	0.00058
O29	0.00020	0.00089	-0.00012	-0.00045	-0.00018	-0.00079
O30	0.00029	0.00147	0.00022	0.00144	0.00002	0.00050
O31	0.00028	0.00137	0.00031	0.00156	0.00026	0.00134
O32	0.00057	0.00247	0.00066	0.00250	0.00058	0.00225
C33	0.00002	0.00006	-0.00001	-0.00006	0.00000	-0.00003
C34	0.00001	0.00005	0.00006	0.00008	0.00002	0.00002

C35	0.00003	0.00008	0.00000	0.00002	-0.00002	-0.00007
C36	0.00001	0.00005	-0.00015	-0.00072	0.00000	-0.00007
C37	0.00002	0.00006	0.00004	0.00015	-0.00001	-0.00006
C38	0.00000	0.00003	-0.00002	-0.00010	0.00001	0.00001
O39	0.00006	0.00011	0.00007	0.00010	0.00005	0.00006
O40	0.00006	0.00014	0.00008	0.00014	0.00005	0.00010
O41	-0.00001	0.00005	-0.00007	-0.00011	-0.00006	-0.00012
O42	0.00009	0.00026	0.00011	0.00030	0.00007	0.00018
O43	0.00000	0.00010	-0.00002	0.00010	-0.00001	0.00009
O44	0.00010	0.00031	0.00016	0.00039	0.00012	0.00032
H45	0.04193	0.02827	0.08955	0.07958	0.06488	0.04206
H46	0.01717	0.01894	0.04269	0.05346	0.02466	0.02868
H47	0.02161	0.02077	0.04911	0.04380	0.02809	0.02906
H48	0.04465	0.01277	0.09633	0.02879	0.05640	0.01844
H49	0.03777	0.01125	0.06472	0.02102	0.04409	0.01507
H50	0.04833	0.01078	0.08969	0.02069	0.06714	0.01439
H51	0.07110	0.01945	0.14306	0.05338	0.06200	0.02852
H52	0.00829	0.01130	0.01249	0.01688	0.00209	0.01210
H53	0.01220	0.00978	0.01537	0.01179	0.01184	0.01041
H54	0.03037	0.00705	0.05104	0.00896	0.02677	0.00704
H55	0.01828	0.00577	0.02169	0.00684	0.01903	0.00609
H56	0.00196	0.00905	0.00468	0.02159	0.00281	0.01327
H57	0.00247	0.01195	0.00634	0.03074	0.00326	0.01697
H58	0.00350	0.01750	0.01067	0.05194	0.00527	0.02876
H59	0.00773	0.03484	0.02033	0.09335	0.00931	0.05329
H60	0.00253	0.00976	0.00676	0.03311	0.00348	0.01754
H61	0.00236	0.01302	0.00498	0.02873	0.00281	0.01684
H62	0.00326	0.01712	0.00652	0.03385	0.00420	0.02209
H63	0.00244	0.01118	0.00355	0.00841	0.00051	-0.00283
H64	0.01228	0.06887	0.02739	0.10060	0.01474	0.05194
H65	0.00237	0.01095	0.00298	0.01296	0.00261	0.01170
H66	0.00537	0.01630	0.00770	0.02108	0.00697	0.01881
H67	0.00020	0.00083	0.00050	0.00199	0.00030	0.00120
H68	0.00016	0.00079	0.00041	0.00207	0.00020	0.00106
H69	0.00034	0.00145	0.00094	0.00409	0.00053	0.00230
H70	0.00041	0.00179	0.00126	0.00571	0.00030	0.00137
H71	0.00025	0.00111	0.00083	0.00374	0.00051	0.00220
H72	-0.00018	-0.00125	-0.00180	-0.00833	-0.00124	-0.00574
H73	0.00031	0.00158	0.00082	0.00433	0.00033	0.00195
H74	0.00019	0.00076	0.00023	0.00091	0.00020	0.00080
H75	0.00035	0.00152	0.00048	0.00205	0.00044	0.00191
H76	0.00019	0.00116	0.00016	0.00129	0.00013	0.00106
H77	0.00003	0.00011	0.00006	0.00025	0.00003	0.00015

H78	-0.00004	0.00002	-0.00011	0.00005	-0.00006	0.00002
H79	0.00009	0.00021	0.00023	0.00056	0.00014	0.00032
H80	-0.00003	0.00002	-0.00008	0.00011	-0.00010	-0.00016
H81	0.00009	0.00023	0.00025	0.00060	0.00015	0.00035
H82	-0.00001	-0.00006	-0.00007	-0.00040	-0.00008	-0.00037
H83	-0.00006	0.00000	-0.00016	0.00000	-0.00011	-0.00008
H84	0.00003	0.00008	0.00004	0.00010	0.00004	0.00008
H85	0.00003	0.00009	0.00003	0.00010	0.00003	0.00009
H86	0.00005	0.00017	0.00008	0.00024	0.00007	0.00021
H87	-0.00001	0.00005	-0.00004	0.00002	-0.00003	0.00002

- *Ácido 2-hidroxifenilacético*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.10918	0.07945	0.06409	0.04981	0.17356	0.11145
C2	0.12422	0.05737	0.09768	0.03116	0.16438	-0.00143
C3	0.06394	0.15871	0.00497	0.12419	-0.00453	0.25003
C4	0.14438	0.07619	0.10397	0.02984	0.19712	0.03421
C5	0.12172	0.08543	0.09447	0.07997	0.15212	0.07844
C6	0.04843	0.11335	0.03541	0.08124	-0.00399	0.13914
H7	0.05498	0.03466	0.10499	0.07074	0.05022	0.03917
H8	0.03689	0.05302	0.07950	0.09598	0.04128	0.03572
H9	0.06160	0.03863	0.11098	0.07525	0.05249	0.03929
H10	0.05364	0.04066	0.10282	0.08014	0.04914	0.04051
O11	0.02989	0.12729	0.02546	0.12478	0.02213	0.14166
C12	0.02515	0.01497	-0.00083	-0.00763	-0.01763	-0.02073
C13	0.01416	0.00627	0.01597	0.00525	0.00661	-0.00344
O14	0.01945	0.01377	0.02040	0.01582	0.01826	0.01304
O15	0.01423	0.01100	0.00891	0.00894	0.01025	0.00861
H16	0.00985	0.00746	0.01278	0.00965	0.01076	0.00813
H17	0.02694	0.02023	0.05094	0.04054	0.03447	0.02681
H18	0.02119	0.01855	0.04479	0.03787	0.02545	0.02359
H19	0.02014	0.04300	0.02272	0.04648	0.01793	0.03580

- *Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.05762	0.09011	-0.00021	0.03724	0.03343	0.14213
C2	0.13915	0.04226	0.12723	0.04546	0.22238	-0.00394
C3	0.08707	0.10184	0.07555	0.08258	0.07996	0.12488
C4	0.07642	0.11148	0.05926	0.09087	0.04881	0.14095
C5	0.15256	0.05565	0.12735	0.04194	0.22874	0.00957
C6	0.08471	0.10295	0.05238	0.08444	0.06919	0.12626
H7	0.05522	0.02831	0.10878	0.06327	0.04957	0.03612
H8	0.06424	0.03438	0.11780	0.07056	0.05481	0.03936
H9	0.04349	0.04152	0.09024	0.08142	0.04441	0.03781
O10	0.04737	0.09975	0.03701	0.09523	0.03314	0.10280
O11	0.04217	0.11198	0.03394	0.10758	0.02974	0.11735
H12	0.02335	0.03910	0.02570	0.04204	0.02036	0.03348
H13	0.02481	0.03623	0.02765	0.03926	0.02174	0.03155
C14	0.01354	0.01574	-0.01279	-0.01473	-0.01241	-0.02233
C15	0.00807	0.01095	-0.01454	-0.01298	-0.00439	-0.00176
C16	0.00477	0.00261	0.01008	0.00670	0.00186	-0.00200
O17	0.00774	0.00598	0.00105	0.00451	0.00133	0.00389
O18	0.00706	0.00612	0.00540	0.00477	0.00568	0.00492
H19	0.00426	0.00400	0.00553	0.00523	0.00432	0.00429
H20	0.01756	0.01941	0.03692	0.03958	0.02066	0.02451
H21	0.01721	0.01751	0.03967	0.03837	0.02276	0.02367
H22	0.01207	0.01352	0.02498	0.02745	0.01520	0.01740
H23	0.00955	0.00859	0.02103	0.01921	0.00871	0.00907

- *Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.10268	0.05314	0.04727	-0.01147	0.14974	0.02186
C2	0.05630	0.15966	0.01777	0.14613	-0.00830	0.25945
C3	0.14048	0.06687	0.09970	0.01852	0.19150	0.00751
C4	0.12513	0.09790	0.09713	0.09139	0.15896	0.10875
C5	0.05462	0.11429	0.02035	0.06354	-0.00507	0.13587
C6	0.12962	0.07946	0.11612	0.08063	0.19349	0.07994
H7	0.03467	0.05213	0.07905	0.09874	0.04087	0.03548
H8	0.06045	0.03715	0.10923	0.07341	0.05187	0.03967
H9	0.05433	0.04261	0.10349	0.08333	0.04897	0.03987
H10	0.05670	0.03884	0.11101	0.08114	0.05001	0.03962
C11	0.01232	0.00642	-0.01596	-0.00691	-0.00221	-0.00275
H12	0.00810	0.00433	0.01373	0.00802	0.00382	0.00074
C13	0.02190	0.01155	-0.01516	-0.01240	-0.01894	-0.01480
O14	0.01034	0.00651	0.00984	0.00649	0.00964	0.00623
O15	0.00714	0.00439	0.00333	0.00264	0.00462	0.00309
H16	0.00559	0.00319	0.00769	0.00422	0.00653	0.00359
H17	0.01085	0.00659	0.02560	0.01489	0.01188	0.00699
H18	0.01001	0.00642	0.02255	0.01507	0.01167	0.00759
H19	0.02088	0.01467	0.04428	0.03107	0.02601	0.01837
H20	0.02462	0.01566	0.05409	0.03406	0.03420	0.02106
O21	0.03373	0.13523	0.02756	0.13176	0.02409	0.14686
H22	0.01955	0.04300	0.02134	0.04575	0.01663	0.03503

- *Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.04668	0.12697	-0.01984	0.08030	-0.00675	0.23810
C2	0.14001	0.06172	0.11095	0.03914	0.20015	0.01492
C3	0.13170	0.08962	0.09701	0.07335	0.16913	0.09214
C4	0.05551	0.11459	0.02043	0.06877	-0.00619	0.13889
C5	0.13441	0.08686	0.10936	0.07659	0.18744	0.08488
C6	0.11824	0.06569	0.08810	0.04009	0.15561	0.02538
H7	0.06030	0.03482	0.11460	0.07271	0.05305	0.03903
H8	0.05781	0.04137	0.11038	0.08214	0.05114	0.03988
H9	0.05758	0.04055	0.10849	0.08029	0.05083	0.04004
H10	0.05022	0.03350	0.09975	0.07086	0.04702	0.03737
O11	0.03401	0.13133	0.02783	0.12734	0.02409	0.14124
H12	0.01994	0.04224	0.02177	0.04506	0.01704	0.03474
C13	0.01132	0.01976	-0.01181	-0.02073	-0.01169	-0.03335
C14	0.00697	0.01446	-0.01092	-0.01456	-0.00417	-0.00082
C15	0.00423	0.00335	0.00858	0.00628	0.00062	-0.00360
O16	0.00736	0.00768	0.00091	0.00639	0.00131	0.00547
O17	0.00636	0.00783	0.00511	0.00616	0.00523	0.00646
H18	0.00392	0.00504	0.00516	0.00661	0.00397	0.00539
H19	0.00930	0.01039	0.01846	0.02430	0.00731	0.01219
H20	0.01115	0.01669	0.02265	0.03367	0.01400	0.02143
H21	0.01515	0.01989	0.03366	0.04384	0.01821	0.02625
H22	0.01784	0.02565	0.03936	0.05143	0.02266	0.03395

- *Ácido 3,4-dihidroxifenilacético*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.06984	0.09107	0.00620	0.03097	0.06315	0.14033
C2	0.14236	0.04450	0.12990	0.04923	0.22809	-0.00002
C3	0.07552	0.10182	0.05855	0.08164	0.04867	0.12443
C4	0.08840	0.10944	0.07717	0.08836	0.08227	0.13657
C5	0.14414	0.05664	0.12198	0.04301	0.21584	0.01273
C6	0.06720	0.10309	0.03561	0.08710	0.02774	0.12442
H7	0.05957	0.03061	0.11648	0.06719	0.05272	0.03781
H8	0.06098	0.03440	0.11162	0.07022	0.05211	0.03911
H9	0.03761	0.04153	0.07979	0.07959	0.04075	0.03735
O10	0.04210	0.10212	0.03401	0.09785	0.02996	0.10630
O11	0.04763	0.11224	0.03715	0.10815	0.03313	0.11844
H12	0.02476	0.03905	0.02744	0.04195	0.02185	0.03336
H13	0.02322	0.03673	0.02559	0.03964	0.02026	0.03180
C14	0.02118	0.01725	-0.00557	-0.00757	-0.01561	-0.02298
C15	0.01144	0.00959	0.01526	0.01512	0.00593	0.00138
O16	0.01599	0.01362	0.01322	0.01475	0.01246	0.01351
O17	0.01166	0.01063	0.00741	0.00742	0.00820	0.00787
H18	0.00821	0.00723	0.01101	0.00928	0.00908	0.00799
H19	0.02994	0.02259	0.06159	0.04368	0.04314	0.03053
H20	0.01825	0.01583	0.03561	0.03243	0.02025	0.01908

- *Ácido 3-hidroxifenilacético*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.09564	0.05133	0.05043	-0.01123	0.14435	0.01662
C2	0.04979	0.15721	0.01779	0.14491	-0.00313	0.25597
C3	0.10657	0.06628	0.06991	0.01860	0.12946	0.00735
C4	0.11846	0.09800	0.09756	0.09229	0.16343	0.10915
C5	0.04929	0.11407	0.01815	0.06246	-0.00442	0.13410
C6	0.11168	0.08117	0.09922	0.08183	0.15525	0.08377
H7	0.03018	0.05044	0.06920	0.09574	0.03529	0.03453
H8	0.04752	0.03677	0.08738	0.07245	0.04262	0.03935
H9	0.04999	0.04251	0.09300	0.08279	0.04394	0.03975
H10	0.04950	0.03884	0.09719	0.08006	0.04494	0.03917
C11	0.03080	0.01377	-0.02316	-0.00508	-0.02190	-0.00961
C12	0.04827	0.00554	0.04916	0.00279	0.05647	-0.00736

O13	0.05902	0.01758	0.05993	0.02008	0.06219	0.02023
O14	0.02906	0.00742	0.02302	0.00733	0.01922	0.00550
H15	0.01605	0.00611	0.02029	0.00805	0.01622	0.00684
H16	0.02787	0.01559	0.06001	0.03196	0.03619	0.01882
H17	0.03201	0.01648	0.06655	0.03464	0.04272	0.02036
O18	0.03056	0.13741	0.02500	0.13418	0.02189	0.15013
H19	0.01775	0.04348	0.01941	0.04616	0.01529	0.03534

- *Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	**Ataque nucleofílico (fk+)**	**Ataque electrofílico (fk-)**	**Ataque nucleofílico (fk+)**	**Ataque electrofílico (fk-)**	**Ataque nucleofílico (fk+)**	**Ataque electrofílico (fk-)**
C1	0.07038	0.08907	0.01014	0.03171	0.06806	0.13742
C2	0.13649	0.04146	0.12324	0.04610	0.22272	0.00206
C3	0.07050	0.09051	0.06070	0.07674	0.04814	0.11437
C4	0.09108	0.10530	0.08198	0.08653	0.08897	0.13214
C5	0.14292	0.05663	0.12019	0.04311	0.21358	0.01599
C6	0.06414	0.09988	0.03244	0.08393	0.02155	0.11917
H7	0.05297	0.02691	0.10780	0.06123	0.04841	0.03357
H8	0.06060	0.03371	0.11106	0.06867	0.05183	0.03804
H9	0.03670	0.04039	0.07846	0.07763	0.04032	0.03654
O10	0.04870	0.10595	0.03797	0.10183	0.03398	0.11116
O11	0.03118	0.09171	0.02212	0.08487	0.02554	0.11163
C12	0.02138	0.01683	-0.00578	-0.00782	-0.01565	-0.02251
C13	0.01338	0.02323	-0.02883	-0.03957	-0.01087	-0.01828
H14	0.01410	0.01866	0.02756	0.03676	0.01748	0.02211
H15	0.01246	0.02245	0.02420	0.04398	0.01215	0.02801
H16	0.01240	0.02243	0.02438	0.04413	0.01231	0.02807
H17	0.02507	0.03722	0.02781	0.04013	0.02207	0.03186
C18	0.01130	0.00932	0.01489	0.01473	0.00562	0.00134
O19	0.01574	0.01327	0.01312	0.01435	0.01235	0.01318
O20	0.01167	0.01041	0.00741	0.00729	0.00821	0.00771
H21	0.00825	0.00707	0.01108	0.00908	0.00914	0.00780
H22	0.01828	0.01544	0.03579	0.03173	0.02034	0.01859
H23	0.03031	0.02216	0.06226	0.04288	0.04377	0.03003

- *Ácido 4-hidroxibenzoico*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.08340	0.12357	0.01903	0.08811	0.07671	0.23504
C2	0.05772	0.07449	0.06683	0.03019	0.09796	-0.01284
C3	0.20294	-0.04865	0.01938	0.08958	0.01121	0.13108
C4	-0.05716	0.26262	0.09504	0.05690	0.15076	0.11534
C5	0.08379	0.05337	0.02451	0.07908	0.01559	0.09189
C6	0.17640	-0.04013	0.06516	0.03611	0.08898	0.00850
H7	0.03597	0.03210	0.07559	0.06347	0.03724	0.03649
H8	0.03172	0.04090	0.06339	0.08316	0.03378	0.03811
H9	0.02322	0.04528	0.06235	0.07625	0.03335	0.03776
H10	0.19798	-0.12846	0.07491	0.06493	0.03599	0.03554
C11	-0.30693	0.46047	0.16167	0.04466	0.14647	-0.02229
O12	0.05729	0.14077	0.04258	0.14064	0.04055	0.15973
O13	-0.05850	0.15220	0.04983	0.02444	0.05048	0.02668
O14	0.67621	-0.47856	0.12305	0.06359	0.13892	0.07730
H15	0.01261	0.05501	0.02624	0.04650	0.02088	0.03576
H16	-0.17383	0.21219	0.03045	0.01242	0.02113	0.00592

- *Ácido 4-hidroxifenilacético*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.04774	0.12906	-0.02401	0.07537	-0.00677	0.24020
C2	0.13845	0.05973	0.10612	0.03738	0.19649	0.01188
C3	0.13044	0.08835	0.09614	0.07301	0.16674	0.09065
C4	0.05582	0.11483	0.02111	0.06747	-0.00520	0.13689
C5	0.13479	0.09217	0.10968	0.08142	0.18824	0.09584
C6	0.12040	0.06680	0.09673	0.04534	0.15449	0.02090
H7	0.05883	0.03384	0.11418	0.07166	0.05279	0.03854
H8	0.05720	0.04106	0.10938	0.08156	0.05083	0.03968
H9	0.05736	0.04145	0.10717	0.08138	0.05019	0.03998
H10	0.05382	0.03609	0.10180	0.07300	0.04868	0.03933
C11	0.01413	0.02119	-0.00463	-0.01077	-0.01201	-0.03285
C12	0.00921	0.01211	0.01698	0.01699	0.00543	0.00185
O13	0.01436	0.01664	0.01000	0.01733	0.00968	0.01556
O14	0.01010	0.01297	0.00665	0.00938	0.00719	0.00968
H15	0.00663	0.00879	0.00875	0.01119	0.00708	0.00968
H16	0.01662	0.01907	0.03121	0.03969	0.01823	0.02380
H17	0.01998	0.02768	0.04299	0.05123	0.02656	0.03652

O18	0.03417	0.13512	0.02797	0.13155	0.02428	0.14665
H19	0.01995	0.04305	0.02177	0.04581	0.01709	0.03519

- *Ácido hipúrico*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.09223	0.14718	0.04573	0.09090	0.11618	0.26863
C2	0.07502	0.08185	0.05396	0.06728	0.07200	0.05786
C3	0.06496	0.07104	0.02457	0.03008	0.03321	0.02038
C4	0.12221	0.17379	0.09541	0.13331	0.17726	0.27430
C5	0.06055	0.09538	0.01877	0.05137	0.02140	0.07990
C6	0.08045	0.06258	0.06153	0.05243	0.08760	0.00851
H7	0.03655	0.03791	0.07556	0.07615	0.03633	0.03704
H8	0.03395	0.03824	0.06828	0.07463	0.03536	0.03904
H9	0.05004	0.05563	0.08843	0.10079	0.04205	0.03340
H10	0.03282	0.04264	0.06688	0.08109	0.03505	0.03855
H11	0.03735	0.03427	0.07626	0.07067	0.03724	0.03826
C12	0.08627	0.01990	0.10718	0.03169	0.09637	-0.03907
N13	0.04256	0.02607	0.01618	0.01450	0.04138	0.03650
C14	0.01334	0.00915	-0.01091	-0.00759	-0.00801	-0.00489
C15	0.00571	0.00362	0.00796	0.00539	0.00069	-0.00030
H16	0.02110	0.01280	0.03277	0.01939	0.01923	0.00954
O17	0.09662	0.05570	0.09507	0.05755	0.10444	0.06722
O18	0.00764	0.00505	0.00515	0.00385	0.00580	0.00391
O19	0.00882	0.00598	0.00984	0.00699	0.00829	0.00609
H20	0.00537	0.00343	0.00697	0.00439	0.00588	0.00376
H21	0.01355	0.00908	0.02788	0.01764	0.01650	0.01054
H22	0.01293	0.00872	0.02652	0.01749	0.01578	0.01086

- *Ácido protocatecuico*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.07643	0.08682	0.00653	0.02903	0.07119	0.12008
C2	0.08171	0.05645	0.08503	0.06226	0.10394	0.02244
C3	0.04197	0.10857	0.02376	0.08149	0.00721	0.13357
C4	0.09330	0.09824	0.09751	0.08089	0.14635	0.11418
C5	0.05062	0.05238	0.02394	0.04081	0.01671	0.01365
C6	0.07726	0.09326	0.06786	0.08414	0.08871	0.11011
H7	0.03767	0.03205	0.07786	0.06689	0.03620	0.03683
H8	0.02899	0.03243	0.06156	0.06542	0.03280	0.03700

H9	0.03628	0.03687	0.07287	0.07075	0.03500	0.03393
O10	0.02723	0.11894	0.02354	0.11562	0.02052	0.12872
O11	0.05290	0.10538	0.04054	0.10191	0.03845	0.11232
H12	0.01562	0.04032	0.01721	0.04303	0.01364	0.03395
H13	0.02276	0.03714	0.02563	0.03976	0.02057	0.03190
C14	0.12871	0.02277	0.16830	0.04426	0.15446	-0.00925
O15	0.13174	0.04442	0.12181	0.04350	0.13759	0.05156
O16	0.06421	0.02000	0.04453	0.01239	0.04560	0.01412
H17	0.03263	0.01398	0.04153	0.01786	0.03106	0.01487

- *Quercetin 3,4´-O-diglucósido*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
O1	-0.00002	0.00042	-0.00657	-0.00157	-0.00313	-0.00049
O2	0.00055	0.00010	-0.00059	-0.00023	0.00003	-0.00004
O3	0.01423	0.01600	0.01211	0.01263	0.01061	0.01288
O4	0.00335	0.00213	0.00328	0.00207	0.00278	0.00179
O5	0.00270	0.00157	0.00260	0.00154	0.00221	0.00129
O6	0.01339	0.00364	0.00943	0.00290	0.00826	0.00263
O7	0.00419	0.00210	0.00155	0.00190	0.00266	0.00153
O8	0.00160	0.00046	0.00152	0.00046	0.00132	0.00039
O9	0.00117	0.00035	0.00115	0.00036	0.00097	0.00029
O10	0.00168	0.00047	0.00197	0.00056	0.00116	0.00034
O11	0.00491	0.00199	0.00662	0.00298	0.00679	0.00291
O12	0.00123	0.00024	0.00172	0.00035	0.00165	0.00037
O13	0.04526	0.04158	0.02642	0.03093	0.04262	0.04797
O14	0.01350	0.00429	0.01175	0.00380	0.01128	0.00381
O15	0.09338	0.02888	0.08651	0.02470	0.10450	0.03156
O16	0.03035	0.10416	0.02467	0.10071	0.02881	0.11982
O17	0.02146	0.04536	0.01777	0.04225	0.01736	0.04153
C18	0.00150	0.00097	-0.00040	-0.00011	-0.00044	-0.00015
C19	0.00105	0.00055	0.00038	0.00019	-0.00049	-0.00034
C20	0.00214	0.00144	-0.00195	-0.00145	-0.00141	-0.00077
C21	0.00075	0.00020	-0.00007	0.00002	-0.00012	-0.00002
C22	0.00039	0.00012	0.00014	0.00005	-0.00027	-0.00007
C23	0.00216	0.00127	-0.00457	-0.00274	-0.00049	-0.00034
C24	0.00139	0.00035	-0.00108	-0.00030	-0.00035	-0.00012
C25	0.00100	0.00026	-0.00220	-0.00056	-0.00028	-0.00005
C26	0.00316	0.00338	-0.01136	-0.00830	-0.00383	-0.00322
C27	0.00400	0.00090	-0.00626	-0.00158	-0.00216	-0.00062
C28	0.00193	0.00105	-0.00229	-0.00104	-0.00100	-0.00054

C29	0.00074	0.00021	-0.00062	-0.00022	-0.00040	-0.00012
C30	0.04869	0.04186	0.03618	0.04738	0.02743	0.06961
C31	0.04277	0.01011	0.04291	0.00884	0.07165	0.01620
C32	0.09594	0.02622	0.11197	0.01954	0.15503	0.02105
C33	0.02443	0.00089	-0.00269	0.00000	-0.00500	-0.01077
C34	0.09370	0.01659	0.10431	0.03165	0.14342	-0.00953
C35	0.02116	0.00579	0.01380	0.00433	0.00448	0.00304
C36	0.02379	0.00626	0.01321	0.00411	0.00921	0.00214
C37	0.04162	0.00693	0.04583	0.00945	0.05808	0.00855
C38	0.03348	0.00772	0.02600	0.00514	0.04441	0.01049
C39	0.01647	0.05261	-0.00195	0.04608	-0.01448	0.06791
C40	0.01985	0.04120	0.01904	0.01693	0.01208	-0.00874
C41	0.03114	0.07610	0.04114	0.05629	0.04168	0.08269
C42	0.02387	0.16853	0.02619	0.16908	0.01955	0.28268
C43	0.02585	0.06463	0.02215	0.07115	0.01851	0.06909
C44	0.03105	0.04838	0.02108	0.01216	0.03539	-0.00406
H45	0.00207	0.00126	0.00560	0.00334	0.00282	0.00172
H46	0.00182	0.00105	0.00488	0.00282	0.00261	0.00152
H47	0.00425	0.00248	0.01152	0.00667	0.00627	0.00363
H48	0.00096	0.00024	0.00250	0.00062	0.00130	0.00033
H49	0.00079	0.00024	0.00213	0.00063	0.00114	0.00035
H50	0.00316	0.00172	0.00860	0.00461	0.00439	0.00233
H51	0.00191	0.00051	0.00508	0.00136	0.00272	0.00073
H52	0.00131	0.00030	0.00343	0.00078	0.00170	0.00038
H53	0.00601	0.00428	0.01777	0.01286	0.00676	0.00580
H54	0.00425	0.00103	0.01157	0.00281	0.00514	0.00124
H55	0.00297	0.00161	0.00608	0.00330	0.00376	0.00207
H56	0.00227	0.00123	0.00541	0.00292	0.00302	0.00165
H57	0.00087	0.00028	0.00204	0.00066	0.00115	0.00038
H58	0.00111	0.00032	0.00227	0.00068	0.00144	0.00042
H59	0.00163	0.00096	0.00215	0.00125	0.00132	0.00082
H60	0.00128	0.00073	0.00150	0.00086	0.00106	0.00060
H61	0.00285	0.00112	0.00404	0.00165	0.00022	0.00058
H62	0.00070	0.00021	0.00089	0.00026	0.00062	0.00018
H63	0.00054	0.00014	0.00063	0.00016	0.00044	0.00011
H64	0.00108	0.00028	0.00135	0.00034	0.00094	0.00023
H65	0.00262	0.00010	0.00101	-0.00083	-0.00396	-0.00257
H66	0.00019	0.00001	-0.00027	-0.00016	-0.00123	-0.00040
H67	0.01477	0.00432	0.03206	0.00913	0.01737	0.00526
H68	0.01860	0.00421	0.04003	0.00932	0.01853	0.00312
H69	0.01504	0.00378	0.03541	0.00963	0.01562	0.00338
H70	0.01499	0.05078	0.03199	0.09534	0.01677	0.03307
H71	0.00801	0.00225	0.00890	0.00246	0.00691	0.00192

H72	0.01475	0.03212	0.03101	0.06443	0.01657	0.03295
H73	0.01303	0.02345	0.01940	0.02726	0.00638	0.01685
H74	0.00927	0.02073	0.01027	0.02240	0.00817	0.01877

- *Quercetin 3-O-glucósido*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.00086	0.00068	0.00021	0.00026	-0.00040	-0.00032
C2	0.00199	0.00180	-0.00376	-0.00278	-0.00032	-0.00015
C3	0.00119	0.00112	-0.00069	-0.00106	-0.00069	-0.00065
C4	0.00142	0.00103	-0.00075	-0.00056	-0.00077	-0.00051
C5	0.03112	0.03046	0.03376	0.03530	0.04437	-0.01352
C6	0.01766	0.08009	0.01433	0.07385	0.00367	0.10041
O7	0.01217	0.07155	0.00973	0.06485	0.00914	0.07130
C8	0.03985	0.09661	0.03936	0.07242	0.06077	0.11919
O9	0.02587	0.10790	0.02120	0.10573	0.02075	0.11760
C10	0.02179	0.05661	0.00852	0.04351	0.00223	0.03106
C11	0.03901	0.07488	0.03803	0.06388	0.05640	0.07387
C12	0.01637	0.08868	-0.00983	0.04483	-0.02276	0.15171
C13	0.10106	0.01048	0.11664	0.02347	0.16832	-0.03865
O14	0.04792	0.00586	0.02852	-0.00327	0.04580	0.00372
C15	0.02238	0.00677	0.02289	0.00725	0.01597	0.00187
C16	0.02575	0.00898	0.02773	0.00918	0.02026	0.00782
C17	0.03528	0.01055	0.02468	0.00672	0.04157	0.01203
O18	0.02402	0.00871	0.01982	0.00766	0.01936	0.00780
C19	0.02774	0.00854	0.02312	0.00856	0.01812	0.00729
C20	0.03565	0.00841	0.04773	0.00968	0.04942	0.00681
O21	0.03251	0.01004	0.02652	0.00882	0.03063	0.01017
C22	0.01775	0.00951	-0.00580	0.00686	-0.01861	0.01064
C23	0.10394	0.01329	0.12242	0.01392	0.16775	-0.00283
O24	0.09638	0.02289	0.08303	0.02223	0.10576	0.02983
C25	0.04089	0.05183	0.02533	0.05631	0.00622	0.09853
O26	0.01232	0.01392	0.01035	0.00764	0.00938	0.00851
C27	0.00294	0.00343	-0.01374	-0.01006	-0.00327	-0.00326
O28	0.00200	0.00001	-0.00128	-0.00430	0.00042	-0.00196
O29	0.00078	0.00130	0.00020	0.00015	-0.00010	-0.00005
O30	0.00207	0.00166	0.00187	0.00149	0.00152	0.00118
O31	0.00295	0.00223	0.00286	0.00211	0.00245	0.00185
C32	0.00224	0.00175	-0.00221	-0.00105	-0.00123	-0.00045
O33	0.00783	0.00395	0.00867	0.00504	0.00961	0.00441
H34	0.00160	0.00118	0.00433	0.00326	0.00225	0.00169

H35	0.00256	0.00238	0.00670	0.00618	0.00346	0.00330
H36	0.00176	0.00179	0.00358	0.00370	0.00236	0.00244
H37	0.00130	0.00121	0.00286	0.00230	0.00152	0.00110
H38	0.00202	0.00155	0.00555	0.00416	0.00277	0.00213
H39	0.01363	0.02153	0.03297	0.04997	0.01450	0.02854
H40	0.00709	0.02846	0.00806	0.03133	0.00639	0.02548
H41	0.00935	0.03200	0.01093	0.03493	0.00845	0.02491
H42	0.01367	0.03177	0.02902	0.06401	0.01603	0.03443
H43	0.01773	0.03154	0.03651	0.06255	0.01629	0.03117
H44	0.01613	0.00539	0.03445	0.01122	0.01808	0.00595
H45	0.01029	0.00359	0.01140	0.00396	0.00905	0.00321
H46	0.01589	0.00499	0.03357	0.01022	0.01798	0.00558
H47	0.01368	0.00395	0.01981	0.00538	0.00654	0.00181
H48	0.00621	0.00530	0.01730	0.01472	0.00546	0.00678
H49	0.00111	0.00130	0.00126	0.00124	0.00104	0.00097
H50	0.00123	0.00106	0.00152	0.00130	0.00120	0.00106
H51	0.00149	0.00111	0.00184	0.00138	0.00115	0.00098
H52	0.00460	0.00295	0.01232	0.00785	0.00665	0.00417
H53	0.00497	0.00143	0.00655	0.00172	-0.00290	-0.00093

- *Quercetin 4´-O-glucósido*

	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
O1	0.00058	0.00039	-0.00032	-0.00026	0.00020	0.00014
O2	0.01235	0.00952	0.00879	0.00777	0.00758	0.00698
O3	0.00148	0.00108	0.00141	0.00105	0.00123	0.00090
O4	0.00107	0.00079	0.00106	0.00079	0.00089	0.00066
O5	0.00154	0.00112	0.00179	0.00131	0.00106	0.00079
O6	0.00118	0.00083	0.00163	0.00117	0.00159	0.00114
O7	0.04332	0.05809	0.02657	0.04767	0.04180	0.06846
O8	0.01254	0.01029	0.01067	0.00899	0.01060	0.00931
O9	0.02761	0.08679	0.02340	0.08288	0.02051	0.09200
O10	0.11037	0.04255	0.09746	0.03951	0.11466	0.04960
O11	0.03324	0.05790	0.02666	0.05398	0.03128	0.06353
O12	0.02405	0.03076	0.01972	0.02806	0.01925	0.02767
C13	0.00068	0.00049	-0.00005	-0.00002	-0.00011	-0.00006
C14	0.00036	0.00026	0.00014	0.00011	-0.00025	-0.00018
C15	0.00128	0.00086	-0.00084	-0.00067	-0.00028	-0.00027
C16	0.00089	0.00064	-0.00203	-0.00144	-0.00028	-0.00017
C17	0.00360	0.00229	-0.00618	-0.00425	-0.00221	-0.00180
C18	0.00070	0.00051	-0.00056	-0.00042	-0.00036	-0.00026

C19	0.03924	0.02674	0.03851	0.02282	0.06576	0.04405
C20	0.01987	0.01385	0.01306	0.01140	0.00516	0.00680
C21	0.02376	0.01537	0.01327	0.01074	0.00907	0.00347
C22	0.02484	0.00922	0.00285	-0.00030	-0.00009	-0.01298
C23	0.03798	0.01789	0.04124	0.02365	0.05128	0.02085
C24	0.03408	0.02183	0.02764	0.01296	0.04195	0.02790
C25	0.08483	0.06846	0.09432	0.06752	0.13405	0.08222
C26	0.04778	0.09219	0.04139	0.08303	0.01622	0.12878
C27	0.01742	0.02313	-0.00715	0.02114	-0.02095	0.02054
C28	0.02356	0.01739	0.02552	0.00634	0.01998	-0.02038
C29	0.10829	0.01987	0.12126	0.02822	0.16797	-0.01229
C30	0.03540	0.04587	0.04762	0.03788	0.04979	0.05149
C31	0.02495	0.09296	0.02628	0.08843	0.01819	0.14790
C32	0.03582	0.03536	0.02570	0.01604	0.04361	0.01121
C33	0.02654	0.04209	0.02195	0.04388	0.01562	0.04436
H34	0.00086	0.00060	0.00225	0.00157	0.00115	0.00082
H35	0.00074	0.00054	0.00198	0.00144	0.00107	0.00078
H36	0.00179	0.00126	0.00472	0.00333	0.00253	0.00179
H37	0.00117	0.00081	0.00308	0.00214	0.00152	0.00106
H38	0.00392	0.00264	0.01067	0.00721	0.00456	0.00317
H39	0.00082	0.00060	0.00192	0.00142	0.00108	0.00081
H40	0.00103	0.00076	0.00210	0.00154	0.00133	0.00097
H41	0.00065	0.00047	0.00082	0.00059	0.00056	0.00041
H42	0.00049	0.00035	0.00057	0.00040	0.00040	0.00028
H43	0.00099	0.00070	0.00122	0.00086	0.00085	0.00059
H44	0.00026	0.00013	-0.00013	-0.00022	-0.00113	-0.00090
H45	0.01393	0.00995	0.02918	0.02044	0.01609	0.01195
H46	0.01723	0.00989	0.03701	0.02188	0.01734	0.01007
H47	0.01617	0.01025	0.03563	0.02390	0.01599	0.00871
H48	0.00742	0.00547	0.00826	0.00607	0.00631	0.00484
H49	0.01580	0.03127	0.03387	0.06037	0.01782	0.02432
H50	0.01556	0.02109	0.03315	0.04257	0.01777	0.02192
H51	0.01520	0.02659	0.01814	0.03013	0.01357	0.02293
H52	0.01453	0.01539	0.02145	0.01927	0.00736	0.01054
H53	0.01026	0.01391	0.01139	0.01513	0.00902	0.01263

- *Quercetina*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
C1	0.02838	0.01354	0.02271	0.01383	0.01492	0.00992
C2	0.04000	0.01607	0.05391	0.01735	0.05778	0.01729
C3	0.01894	0.01040	-0.00823	0.00882	-0.02401	0.00634
C4	0.02678	0.00866	0.03054	0.00923	0.02532	-0.00233
C5	0.02676	0.02185	0.02755	0.01999	0.01826	0.02581
C6	0.04068	0.01828	0.03000	0.01201	0.05105	0.01938
C7	0.11502	0.02109	0.12964	0.02228	0.18677	-0.00229
C8	0.03870	0.08585	0.02941	0.07957	-0.00408	0.12692
C9	0.08850	0.04384	0.09842	0.04896	0.14290	0.02323
C10	0.01727	0.05951	-0.00519	0.02945	-0.01732	0.08703
C11	0.03472	0.06094	0.03250	0.05363	0.04794	0.07092
C12	0.02032	0.04152	0.00853	0.02718	0.00299	0.01513
C13	0.03836	0.07590	0.03792	0.05975	0.05855	0.10201
C14	0.01735	0.04906	0.01083	0.04517	0.00191	0.05035
C15	0.03389	0.02977	0.04079	0.03929	0.04960	0.00709
O16	0.04484	0.01928	0.02577	0.00867	0.04406	0.01659
O17	0.10981	0.04148	0.09570	0.03923	0.11371	0.05088
O18	0.01137	0.03849	0.00901	0.03291	0.00845	0.03474
O19	0.02437	0.07365	0.01986	0.07008	0.01943	0.07626
O20	0.02730	0.07373	0.02245	0.06711	0.02310	0.07805
O21	0.02697	0.01493	0.02209	0.01323	0.02154	0.01333
O22	0.03495	0.01870	0.02839	0.01652	0.03266	0.01912
H23	0.01671	0.00819	0.03583	0.01686	0.01926	0.00928
H24	0.01695	0.01034	0.03636	0.02120	0.01922	0.01054
H25	0.01467	0.02355	0.03090	0.04749	0.01303	0.01929
H26	0.01269	0.02432	0.02693	0.04970	0.01479	0.02730
H27	0.01569	0.01936	0.03297	0.04163	0.01461	0.02339
H28	0.00677	0.01759	0.00756	0.01950	0.00606	0.01622
H29	0.00878	0.02260	0.01025	0.02513	0.00788	0.01860
H30	0.01641	0.02434	0.02246	0.02798	0.01243	0.02072
H31	0.01138	0.00621	0.01265	0.00682	0.01000	0.00560
C32	0.01466	0.00700	0.02149	0.00944	0.00715	0.00335

- *Quercitrin*

Átomo	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
O1	0.00369	0.00393	0.00363	0.00404	0.00301	0.00320
C2	0.00092	0.00067	0.00116	0.00336	0.00076	0.00158
C3	0.00226	0.00171	0.00000	-0.00076	-0.00062	-0.00095
O4	0.00468	0.00445	0.00477	0.00450	0.00373	0.00349
C5	0.00073	0.00092	0.00066	-0.00034	-0.00065	-0.00084
O6	0.00231	0.00253	0.00242	0.00245	0.00142	0.00098
C7	0.00089	0.00151	-0.00259	0.00706	0.00194	0.00695
C8	0.00197	0.00240	0.00000	0.00005	-0.00134	-0.00183
O9	0.00495	0.00622	0.00729	0.00901	0.00483	0.00656
C10	0.00399	0.00446	-0.01393	-0.01013	-0.00337	-0.00386
O11	0.01284	0.01702	0.01321	0.01122	0.01167	0.01414
C12	0.04057	0.05255	0.02451	0.05434	0.00364	0.09725
C13	0.11233	0.01358	0.12952	0.01517	0.18068	-0.00326
O14	0.11070	0.02628	0.09922	0.02604	0.11799	0.03294
C15	0.09645	0.01303	0.10818	0.03018	0.16441	-0.03117
C16	0.01236	0.07922	-0.01281	0.03246	-0.02267	0.14090
C17	0.02566	0.02690	0.02665	0.02906	0.03696	-0.01359
C18	0.01542	0.07529	0.01290	0.07123	0.00361	0.09528
O19	0.01149	0.06952	0.00955	0.06377	0.00881	0.06951
C20	0.03447	0.09375	0.03476	0.07070	0.05224	0.11719
O21	0.02284	0.10581	0.01880	0.10376	0.01836	0.11529
C22	0.01971	0.05383	0.00952	0.04299	0.00452	0.02817
C23	0.03131	0.07203	0.02874	0.05965	0.04236	0.07462
O24	0.04965	0.00854	0.03269	0.00039	0.04757	0.00658
C25	0.02403	0.00652	0.02505	0.00672	0.01909	0.00062
C26	0.02731	0.01115	0.02884	0.01085	0.02109	0.01140
C27	0.03826	0.01102	0.02740	0.00703	0.04615	0.01208
O28	0.02558	0.00905	0.02096	0.00795	0.02040	0.00806
C29	0.02862	0.00857	0.02348	0.00880	0.01692	0.00677
C30	0.03851	0.00924	0.05140	0.01015	0.05467	0.00848
C31	0.01811	0.00844	-0.00688	0.00628	-0.02243	0.00807
O32	0.03538	0.01135	0.02841	0.00993	0.03319	0.01159
H33	0.00192	0.00214	0.00228	0.00258	0.00175	0.00203
H34	0.00057	-0.00105	-0.00025	-0.00561	-0.00196	-0.00522
H35	0.00379	0.00366	0.01016	0.00962	0.00520	0.00499
H36	0.00262	0.00262	0.00318	0.00316	0.00226	0.00242
H37	0.00284	0.00400	0.00729	0.00975	0.00429	0.00601
H38	0.00175	0.00224	0.00220	0.00292	0.00177	0.00238
H39	-0.00235	-0.00530	-0.01073	-0.03395	-0.00886	-0.02208

H40	0.00243	0.00278	0.00490	0.00552	0.00305	0.00332
H41	0.00194	0.00269	0.00365	0.00522	0.00194	0.00267
H42	0.00278	0.00406	0.00573	0.00824	0.00357	0.00531
H43	0.00715	0.00618	0.01660	0.01666	0.00387	0.00835
H44	0.01330	0.02251	0.03249	0.05225	0.01423	0.02980
H45	0.00657	0.02775	0.00748	0.03073	0.00595	0.02499
H46	0.00831	0.03148	0.00973	0.03442	0.00747	0.02460
H47	0.01274	0.03129	0.02670	0.06330	0.01488	0.03434
H48	0.01578	0.03207	0.03411	0.06374	0.01604	0.03200
H49	0.01706	0.00602	0.03656	0.01255	0.01913	0.00647
H50	0.01096	0.00379	0.01217	0.00418	0.00965	0.00342
H51	0.01669	0.00519	0.03561	0.01068	0.01907	0.00586
H52	0.01521	0.00443	0.02268	0.00612	0.00773	0.00215

- *Rutina*

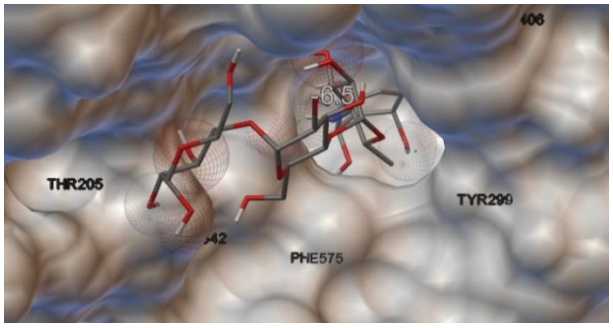
	Hirshfeld		Mulliken		NPA	
Átomo	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)	Ataque nucleofílico (fk+)	Ataque electrofílico (fk-)
O1	0.04892	0.00714	0.03022	-0.00050	0.04688	0.00592
C2	0.10087	0.01017	0.11521	0.02659	0.16934	-0.03515
C3	0.04098	0.04808	0.02421	0.04944	0.00488	0.09017
O4	0.01236	0.01314	0.01059	0.00619	0.00930	0.00776
C5	0.10648	0.01309	0.12575	0.01472	0.17233	-0.00192
O6	0.09809	0.02262	0.08415	0.02187	0.10738	0.02936
C7	0.03648	0.00839	0.04880	0.00953	0.05081	0.00718
O8	0.03315	0.01002	0.02704	0.00881	0.03122	0.01017
C9	0.02811	0.00820	0.02336	0.00828	0.01804	0.00675
C10	0.03614	0.01036	0.02548	0.00664	0.04282	0.01171
O11	0.02453	0.00854	0.02022	0.00751	0.01975	0.00765
C12	0.02620	0.00933	0.02807	0.00935	0.02045	0.00861
C13	0.02288	0.00645	0.02339	0.00646	0.01675	0.00142
C14	0.01799	0.00879	-0.00627	0.00641	-0.01944	0.00937
C15	0.01534	0.08444	-0.00841	0.03928	-0.02305	0.14071
C16	0.03316	0.03467	0.03966	0.04637	0.04793	-0.00828
C17	0.01604	0.08017	0.00797	0.06465	0.00231	0.10573
O18	0.01130	0.07524	0.01069	0.07428	0.00896	0.07914
C19	0.03548	0.08746	0.03147	0.05803	0.05709	0.11447
O20	0.02292	0.09775	0.02105	0.10185	0.01918	0.11031
C21	0.01972	0.04574	0.01011	0.03593	0.00366	0.01314
C22	0.03267	0.07584	0.02821	0.05946	0.04573	0.08513
C23	0.00310	0.00325	-0.01336	-0.00999	-0.00329	-0.00330

C24	0.00224	0.00202	-0.00252	-0.00098	-0.00126	-0.00037
O25	0.00795	0.00430	0.00862	0.00534	0.00976	0.00471
C26	0.00150	0.00118	-0.00071	-0.00058	-0.00077	-0.00058
O27	0.00301	0.00255	0.00293	0.00240	0.00251	0.00209
C28	0.00093	0.00105	0.00011	0.00009	-0.00041	-0.00033
O29	0.00212	0.00206	0.00191	0.00181	0.00153	0.00137
C30	0.00208	0.00253	-0.00342	-0.00263	-0.00027	0.00002
C31	0.00118	0.00161	-0.00187	-0.00435	-0.00101	-0.00164
O32	0.00207	0.00058	-0.00123	-0.00621	0.00055	-0.00187
C33	0.00013	-0.00027	0.00084	0.00460	0.00048	0.00150
O34	0.00043	0.00130	0.00089	0.00302	0.00029	0.00121
C35	-0.00029	-0.00078	-0.00374	-0.01467	-0.00029	-0.00065
O36	0.00072	0.00396	-0.00005	0.00070	-0.00093	-0.00152
C37	0.00061	0.00225	0.00050	0.00148	0.00017	0.00040
O38	0.00093	0.00279	0.00095	0.00264	0.00064	0.00169
C39	0.00030	0.00093	0.00008	0.00019	-0.00009	-0.00018
O40	0.00063	0.00202	0.00053	0.00177	0.00042	0.00140
C41	0.00031	0.00085	-0.00118	-0.00306	-0.00022	-0.00071
C42	0.00037	0.00098	-0.00011	-0.00038	-0.00021	-0.00056
O43	0.00116	0.00304	0.00136	0.00390	0.00126	0.00341
H44	0.01390	0.00391	0.02011	0.00532	0.00662	0.00180
H45	0.01615	0.00486	0.03415	0.00997	0.01831	0.00547
H46	0.01050	0.00353	0.01163	0.00390	0.00923	0.00318
H47	0.01638	0.00536	0.03504	0.01115	0.01838	0.00587
H48	0.01598	0.02561	0.03483	0.05496	0.01599	0.03273
H49	0.00707	0.03033	0.00809	0.03398	0.00644	0.02740
H50	0.00665	0.02216	0.00784	0.02444	0.00612	0.01761
H51	0.01331	0.03034	0.02872	0.06334	0.01588	0.03524
H52	0.01491	0.03004	0.03429	0.06364	0.01505	0.03004
H53	0.00647	0.00588	0.01823	0.01649	0.00607	0.00780
H54	0.00462	0.00323	0.01247	0.00861	0.00668	0.00456
H55	0.00514	0.00156	0.00682	0.00192	-0.00293	-0.00078
H56	0.00210	0.00180	0.00574	0.00482	0.00288	0.00249
H57	0.00153	0.00130	0.00190	0.00161	0.00117	0.00117
H58	0.00167	0.00161	0.00452	0.00440	0.00234	0.00229
H59	0.00128	0.00139	0.00158	0.00172	0.00125	0.00144
H60	0.00267	0.00317	0.00698	0.00829	0.00365	0.00451
H61	0.00147	0.00206	0.00366	0.00553	0.00175	0.00232
H62	0.00190	0.00282	0.00428	0.00661	0.00275	0.00410
H63	-0.00010	-0.00121	-0.00190	-0.00755	-0.00270	-0.00817
H64	-0.00019	-0.00073	-0.00090	-0.00337	-0.00281	-0.00846
H65	0.00155	0.00539	0.00259	0.00899	0.00208	0.00713
H66	0.00075	0.00298	0.00189	0.00740	0.00110	0.00440

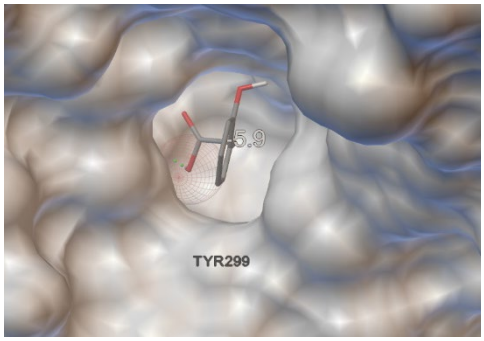
H67	0.00049	0.00180	0.00063	0.00244	0.00046	0.00177
H68	0.00051	0.00137	0.00146	0.00400	0.00072	0.00188
H69	0.00047	0.00138	0.00058	0.00164	0.00050	0.00144
H70	0.00040	0.00129	0.00110	0.00370	0.00044	0.00175
H71	0.00036	0.00086	0.00074	0.00179	0.00044	0.00104
H72	0.00042	0.00110	0.00080	0.00213	0.00052	0.00138
H73	0.00035	0.00098	0.00854	0.00191	0.00039	0.00116

Anexo IV. Conformaciones obtenidas del acoplamiento molecular rígido entre los ligandos y el sitio activo de la MGAM.

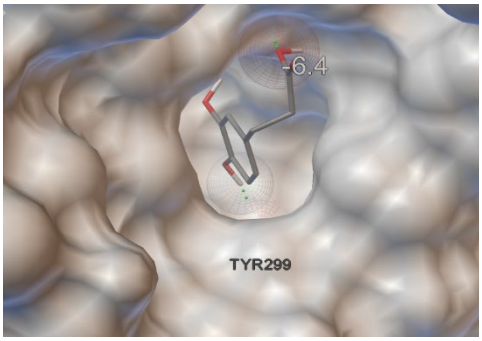
- *Acarbosa y metabolitos frenta a la MGAM*



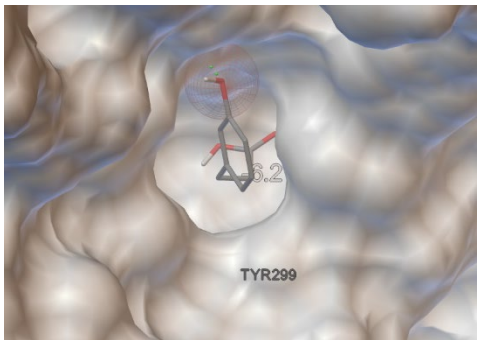
Acarbosa (-6.5 kcal/mol)



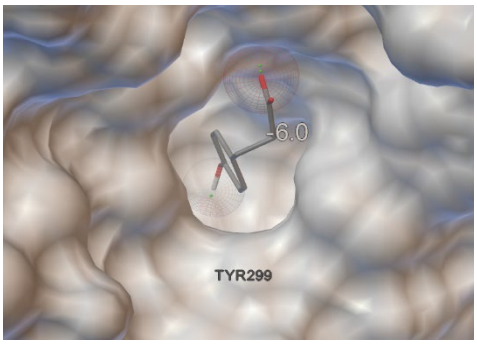
Ácido 2-hidroxifenilacético (-5.9 kcal/mol)



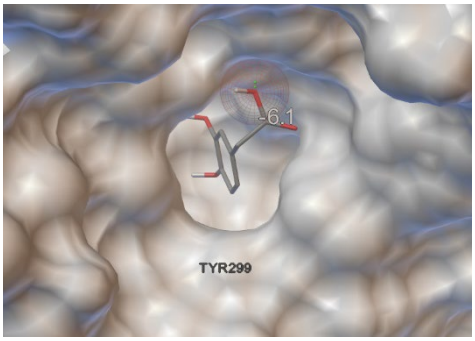
Ácido 3-(3,4-dihidroxifenil) propiónico (-6.4 kcal/mol)



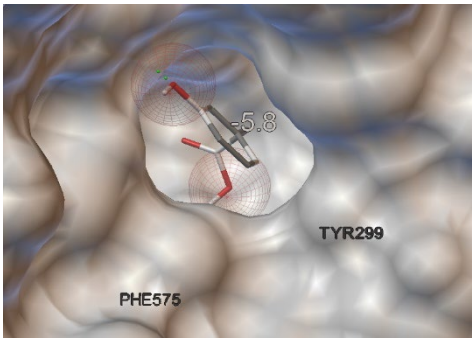
Ácido 3-(3-hidroxifenil) propiónico (-6.2 kcal/mol)



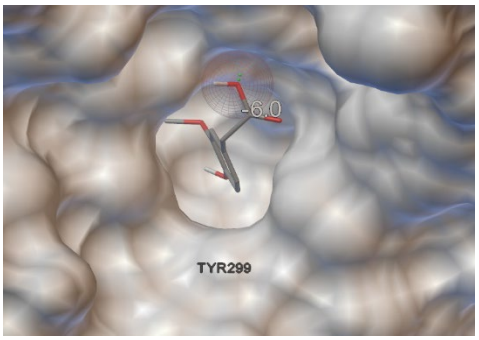
Ácido 3-(4-hidroxifenil) propiónico (-6.0 kcal/mol)



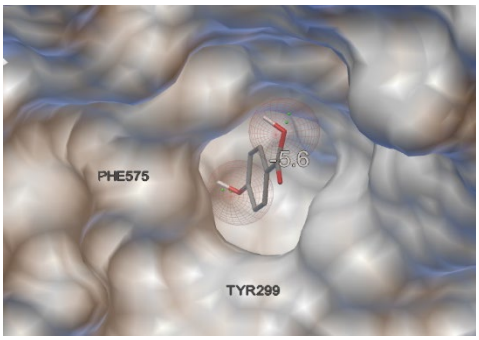
Ácido 3,4-dihidroxifenilacético (-6.1 kcal/mol)



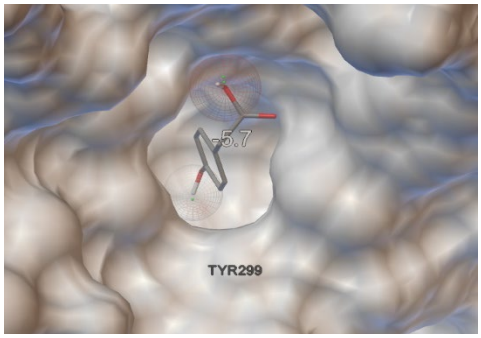
Ácido 3-hidroxifenilacético (-5.8 kcal/mol)



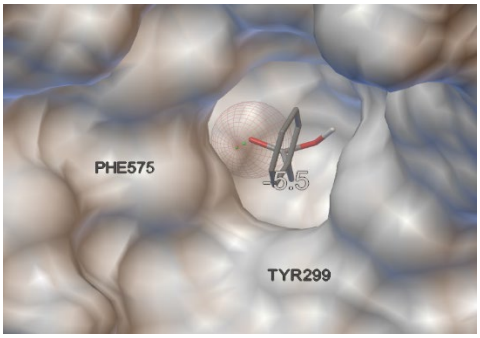
Ácido 3-metoxi-4-hidroxifenilacético (-6.0 kcal/mol)



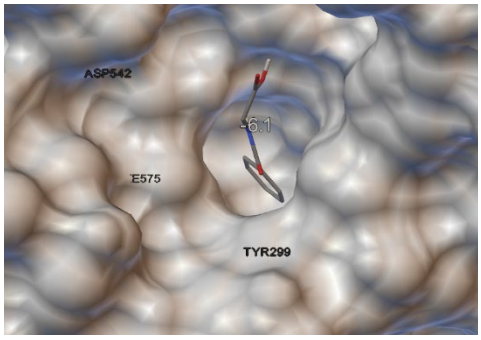
Ácido 4-hidroxibenzoico (-5.6 kcal/mol)



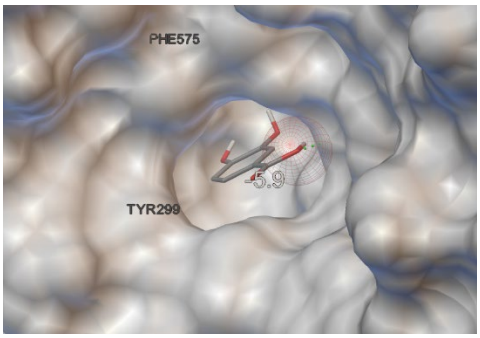
Ácido 4-hidroxifenilacético (-5.7 kcal/mol)



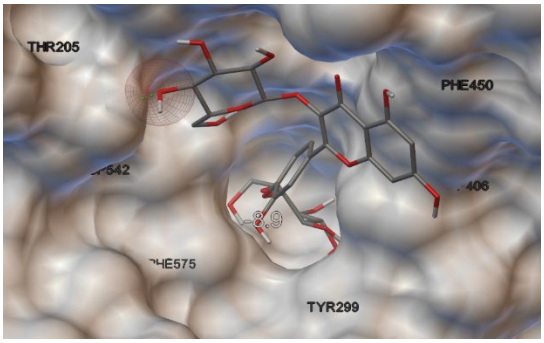
Ácido fenilacético (-5-5 kcal/mol)



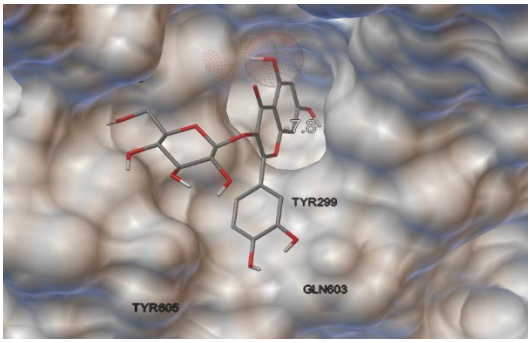
Ácido hipúrico (-6.1 kcal/mol)



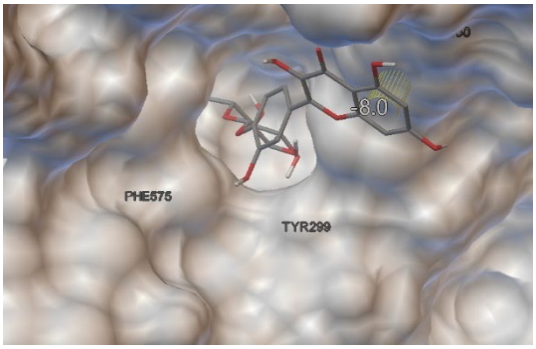
Ácido protocatecuico (-5.9 kcal/mol)



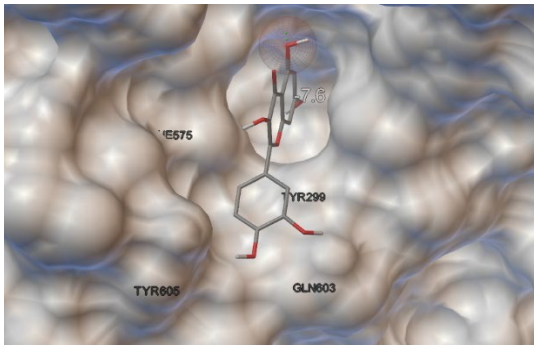
Quercetin 3,4´-O-diglucósido (-8.9 kcal/mol)



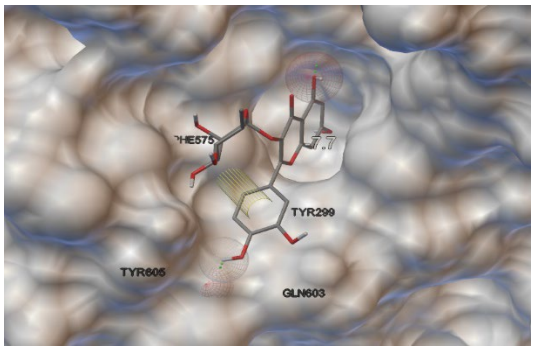
Quercetin 3-O-glucósido (-7-8 kcal/mol)



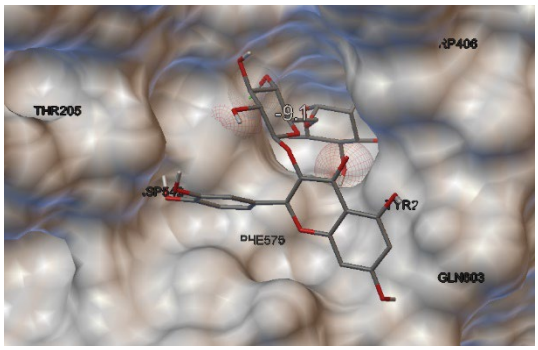
Quercetin 4´-O-glucósido (-8.0 kcal/mol)



Quercetina (-7.6 kcal/mol)

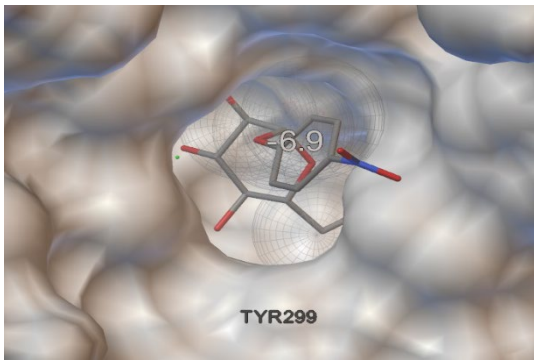


Quercitrin (-7-7 kcal/mol)

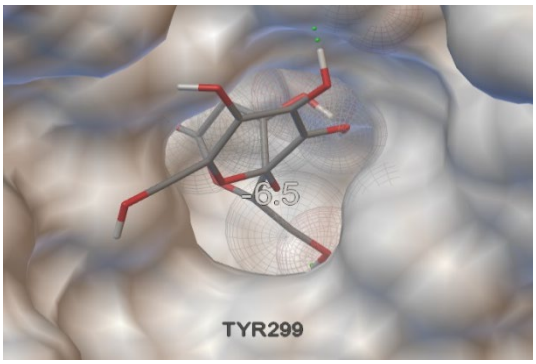


Rutina (-9-1 kcal/mol)

- *p-nitrofenil-a-D-glucopiranósido (PNPG) y D-maltosa frenta a la MGAM*



PNPG (-6.9 kcal/mol)



D-Maltosa (-6.5 kcal/mol)