



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Secretaría de Investigación y Posgrado

**ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**



Bioinformatics and conventional approaches to discover novel biotherapeutics for the treatment of chronic diseases.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
Doctorado en Ciencias en Biotecnología

P R E S E N T A:

M. en C. Poonam Kalhotra

CVU POONAM KALHOTRA: 719973
CVU TZAYHRI GALLARDO: 122866

DIRECTORA:

Dra. Tzayhri Guadalupe Gallardo Velazquez

Abstract

Chronic diseases are a cause of premature mortality and disability in most developing and developed countries, and due to the combination of genetic, physiological, environmental, and behavior factors. Among various chronic diseases, the prevalence of diabetes and cancer is increasing exponentially every year in Mexico and in other countries. In diabetes and cancer, glucose metabolism plays a vital role, and it is proven that inhibition of serine-protease dipeptidyl peptidase-4 (DPP4) regulates glucose metabolism and provides a therapeutic opportunity. Current therapeutics in clinical use for both diabetes and cancer possess side effects, and hence, there is a need for the development of new therapeutics. Nature is a source of diverse bioactive compounds and an important source of potential leads that has been utilized in the process of drug discovery and drug development for many years. Hence, this study was focused on the identification of bioactive compounds for inhibition of DPP4, which possesses the ability to regulate glucose metabolism in skeletal muscle cells, and benefits the treatment of diabetic myopathy in combination with insulin.

The first part of this thesis led to the identification of natural compounds chrysin and galangin as DPP4 inhibitors. It was observed that selected natural compounds in combination with insulin improved skeletal muscle health, that benefits the treatment of diabetes and in specific to diabetes myopathy. Network biology approach led to identify significant pathways responsible for the benefits of skeletal muscle health.

Since DPP4 inhibition induce Lysine specific demethylase-1 (LSD1) inhibition and thereby possesses anticancer activity. As chrysin and galangin were already proved to possess anticancer activity, bioinformatics approaches led to discover new polyphenol 3-hydroxyflavone as DPP4 inhibitor and LSD1 inhibitor. The polyphenol 3-hydroxyflavone possessed anticancer activity and had found to be highly effective on lung adenocarcinoma cells whose IC50 is almost equal to the therapeutic drugs in clinical use.

Another part of this study involved in the isolation of therapeutic proteins from *Allium sativum* (Garlic or Ajo) as a natural source of bioactive compounds, which possessed DPP4 and LSD1 inhibition activity. It was observed that calmodulin modulating proteins from *Allium sativum* possessed LSD1 inhibition, and had proven to reduce lung cancer cell proliferation.

Resumen

Las enfermedades crónicas son una causa de mortalidad prematura y discapacidad en la mayoría de los países desarrollados y en desarrollo, los cuales se deben a la combinación de factores genéticos, fisiológicos, ambientales y de comportamiento. Entre las enfermedades crónicas, la prevalencia de diabetes y cáncer aumenta exponencialmente cada año tanto en México como en otros países. Entre las diversas enfermedades crónicas, la diabetes y el cáncer son los más comunes, en las cuales el metabolismo de la glucosa juega un papel vital, y está comprobado que la inhibición de la serin-proteasa dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) regula el metabolismo de la glucosa y brinda una oportunidad terapéutica. Los agentes terapéuticos actualmente en uso clínico tanto para la diabetes como para el cáncer poseen efectos secundarios y, por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos compuestos para este fin. La naturaleza es una fuente de compuestos bioactivos que han sido utilizados en el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos durante muchos años. Por lo tanto, este estudio se centró en la identificación de compuestos bioactivos para la inhibición de DPP4 que posean la capacidad de regular el metabolismo de la glucosa en células del músculo esquelético y que beneficien el tratamiento de la miopatía diabética en combinación con insulina.

La primera parte de esta tesis condujo a la identificación de los compuestos naturales crisina y galangina como inhibidores de DPP4. Se observó que éstos compuestos en combinación con insulina mejoraron la salud del músculo esquelético, lo que beneficia el tratamiento de la diabetes y en particular, la miopatía diabética. El enfoque del uso de la red de biología condujo a identificar los mecanismos bioquímicos responsables de los beneficios a la salud del músculo esquelético.

Dado que la inhibición de DPP4 induce también la inhibición de lisina demetilasa-1 (LSD1), también posee actividad anticancerígena. Como demostró que la crisina y galangina poseen actividad anticancerígena, esto ayudó junto con los enfoques bioinformáticos a descubrir un nuevo polifenol, el 3-hidroxi flavona como inhibidor de

DPP4 e inhibidor de LSD1. El polifenol 3-hidroxiavona posee actividad anticancerígena, resultó ser altamente efectivo en la inhibición del crecimiento de células de adenocarcinoma de pulmón, teniendo una CI50 prácticamente igual a los fármacos terapéuticos en uso clínico.

La otra parte de este estudio involucró el aislamiento de proteínas terapéuticas de *Allium sativum* (garlic o Ajo) con actividad inhibidora de DPP4 y LSD1. Se observó que las proteínas moduladoras de calmodulina de *Allium sativum* poseen inhibición de LSD1 y demostraron reducir la proliferación celular de cáncer de pulmón.