



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE  
HIDALGO



FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

“ESCRUTINIO DE COMPUESTOS VEGETALES Y DE SÍNTESIS QUÍMICA CON  
EFECTO INHIBITORIO DE LA ENZIMA ALDOSA REDUCTASA (AKR)”

PRESENTA:

pQFB. LUIS ENRIQUE MONTES VEGA

ASESOR:

DOCTOR EN CIENCIAS MAURO MANUEL MARTÍNEZ PACHECO

CO-ASESOR:

MAESTRO EN CIENCIAS ALBERTO FLORES GARCÍA

MORELIA, MICHOACÁN

JUNIO 2015

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Fisiología Celular en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas en la Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección del D.C Mauro Manuel Martínez Pacheco y el M.C Alberto Flores García.

“La verdadera generosidad hacia el futuro es entregar todo en el presente”

*(Albert Camus)*

## Índice de contenido

Resumen.....	4
Abstract.....	5
1. Introducción. ....	6
2. Materiales y métodos. ....	7
2.1 Cuantificación de proteína por el método de Lowry. ....	7
2.2 Obtención del extracto crudo de enzimas de eritrocito humano AKR1B1.....	8
2.3 Obtención del extracto crudo de enzima de cristalino de rata Wistar AKR1B4. ....	8
2.4 Medición de la actividad enzimática de extracto crudo de enzima AKR1B1 y AKR1B1 <i>in vitro</i> . ....	8
2.5 Determinación de la Actividad enzimática inhibitoria y catalítica de AKR1B1 y AKR1B4. ....	8
2.6 Determinación de producto glicerol. ....	10
3. Discusión. ....	11

## Índice de tablas

Tabla 1 Diluciones de la mezcla de reacción para determinar actividad catalítica de la enzima AKR1B1 y AKR1B4. ....	9
Tabla 2 Diluciones para la determinación cuantitativa de glicerol .....	10

## Índice de figuras

figura 1 Curva de calibración de proteína (BSA) por el método de lowry .....	7
--	---

## Resumen

Un gran número de enzimas están relacionadas con detener, inducir o bien prevenir una afección en el organismo con el fin de mantener un estado de homeostasis. La familia de las enzimas Aldo Ceto Reductasa (AKR), comprende varias enzimas que catalizan las transformaciones de diferentes sustratos que interviene en la biosíntesis y osmorregulación de las células e incluso en la desintoxicación de algunos productos del metabolismo y algunos fármacos utilizados en la quimioterapia. La enzima aldosa reductasa (AR) es miembro de la subfamilia AKR1B y al enzima hidroxiesteroide deshidrogenasa es miembro de la subfamilia AKR1C, las enzimas tienen una función importante debido a su especificidad de sustrato, que interviene al momento de la desintoxicación en fase II de un gran número de productos farmacéuticos, drogas y xenobióticos. Además la AR es una enzima citosólica que cataliza la reducción de las hexosas, como la glucosa a sorbitol, que provoca la reducción irreversible de la glucosa a sorbitol dependiente de la coenzima NADPH. La AKR1C1 está implícita en la reducción del grupo carbonilo de los compuestos citostáticos que los hace inactivos y por lo tanto contribuye de resistencia a los fármacos. La gran variedad de estudios en investigación dirigen un enfoque racional para la terapéutica y la búsqueda de inhibidores de las AKR's con un efecto benéfico y específico para el ser humano, el cual ayude a mejorar las condiciones terapéuticas del organismo. En este contexto científico se desarrolla el presente trabajo donde se evaluaron los extractos de diferentes órganos de tres especies arbóreas que son *Tabebuia donnell-smithii*, *Tabebuia rosae* y *Jatropha cordata* en búsqueda de constituyentes con un efecto inhibitorio de las AKR's. Por lo cual los extractos de flores, hojas, tallo, semilla y corteza se obtuvieron por maceración con hexano, y de igual manera se buscan también la posible inhibición en compuestos de síntesis química y en metabolitos secundarios. La capacidad inhibitoria hacia las AKR's se determinó al medir el consumo de NADPH y la cuantificación del producto formado (glicerol) por métodos espectrofotométricos. El extracto que mostraron mayor inhibición frente a la enzima fue el de órgano de hoja de *T. donnell-smithii*, seguido por una dihidopirimidina de síntesis química. De los resultados obtenidos, queda la búsqueda para dilucidar cuales son los metabolitos responsables de la actividad inhibitoria.

Palabras clave: aldosa reductasa, inhibición, detoxificación

## Abstract

A large number of enzymes are associated with stopping, induction or prevention a condition in the body in order to keep a homeostasis of state. The family of Aldo keto reductase (AKR) enzymes is compound of a variety of enzymes that catalyze the transformations of the biosynthesis and osmoregulation substrates of the cells and even in the detoxification of some products of metabolism and some drugs used in chemotherapy. The enzyme aldose reductase (AR) is a member of the subfamily AKR1B and hydroxysteroid dehydrogenase enzyme is a member of the AKR1C subfamily enzymes play an important role due to their substrate specificity, which intervenes when the detoxification in phase II of a large number of pharmaceuticals products, drugs and xenobiotics. Furthermore AR is a cytosolic enzyme which catalyzes the reduction of hexoses such as glucose to sorbitol, caused by the irreversible glucose lowering sorbitol dependent coenzyme NADPH. AKR1C1 is implicit in the reduction of the carbonyl group of cytostatic compounds that makes them inactive and therefore contributes to drug resistance. The variety of research studies direct a rational approach to therapy and the search for inhibitors of AKR's with a beneficial and specific effect for humans, which will help to improve therapeutic conditions for organism. In this scientific context, it is evaluated he extracts obtained from different organs o three different tree species are *Tabebuia Donnell-smithii*, *Tabebuia rosea* and *Jatropha cordata* seeking constituents with an inhibitory effect of AKR's develops evaluated. Therefore the extracts of blossoms, leaves, stem, seed and bark were obtained by maceration with hexane, and in the same way search the possibility of inhibition in chemical synthesis compounds and secondary metabolites. The inhibitory capacity towards AKR's was determined by measuring the consumption of NADPH and quantification of the formed product (glycerol) by spectrophotometric methods. The extract showed a major inhibitory activity in the enzyme was the one obtained from the leaf of the tree *donnell-Smithi*, continued by a dihidropirimidina of chemical sunthesis. From the obtained result, the search allows aluadate which are the metabolites responsible, of the inhibitory activity.

Keywords: aldose reductase inhibition, detoxification

## 1. Introducción.

Las enzimas son catalizadores de gran importancia que ayudan a conservar la homeostasis en los seres vivos, su especificidad para realizar una reacción permite aumentar al máximo su actividad catalítica por saturación para transformar sustratos en productos químicos en un intervalo de tiempo. La actividad enzimática es regulada o inhibida por estructuras parecidas al sustrato pero con la diferencia suficiente para evitar la actividad catalítica de la enzima, estas estructuras provienen de organismos distintos o de síntesis química. Los compuestos mayormente utilizados son los llamados metabolitos secundarios formados por rutas biosintéticas a los cuales se les confiere la actividad farmacológica, se unen dependiendo de la afinidad por el sitio activo de una enzima, compitiendo con el sustrato, y habrá otros metabolitos que solo modifican la estructura de la enzima y por tanto la función o anula parcialmente la actividad enzimática.

La gran variedad de estudios en investigación dirigen un enfoque racional para la terapéutica y la preparación de medicamentos por ejemplo: antibióticos, insecticidas y una variedad de compuestos que regulan la inflamación, dolor y aquellos que evitan, regulan o contrarrestan los efectos del cáncer cuando son aplicados. La información estructural que se obtiene de la gran variedad y cantidad de enzimas es apoyada por técnicas como ejemplo una resolución por cristalografía con rayos X, que combinada con información facilita la preparación de fármacos que inhiban una o varias enzimas específicamente implicadas en procesos del organismo.

La familia de las enzimas Aldo Ceto Reductasa (AKR), comprende varias enzimas que catalizan las transformaciones de diferentes sustratos interviene en la biosíntesis y osmorregulación de las células e incluso en la desintoxicación de algunos productos del metabolismo. Todas las plantas y animales que abarcan desde organismos inferiores como la levadura hasta organismos superiores como el hombre expresan múltiples genes de AKR's. Los sustratos de la familia incluyen la glucosa, los esteroides, los productos finales de glicosilación, especies reactivas de oxígeno (ROS), productos de la peroxidación de lípidos, y los contaminantes ambientales. Las enzimas tienen una función importante debido a su especificidad de sustrato, que interviene al momento de la desintoxicación en fase II de un gran número de productos farmacéuticos, drogas y xenobióticos. Esta es una familia enzimática relacionada directamente con procesos carcinogénicos. En este contexto científico se desarrolla el presente trabajo.

## 2. Materiales y métodos.

### 2.1 Cuantificación de proteína por el método de Lowry.

La valoración cuantitativa de la concentración de las proteínas es determinada por el método de Lowry, este método se basa en la reacción de Biuret y de Folin-Ciocalteu, la intensidad de colores resultante es proporcional a la concentración de proteínas según la ley de Lambert-Beer. El método de Lowry es realizado con las siguientes soluciones.

Solución A:  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  % (w/v) en  $\text{NaOH}$  0.1 M.

Solución B: Citrato de sodio al 4% (w/v).

Solución C:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  al 2% (w/v).

Solución D: se prepara una mezcla de diluciones en proporción 48:1:1 de las soluciones A: B: C.

Para la cuantificación se realiza una curva patrón de proteína albumina sérica bovina (BSA) de la cual se obtiene una pendiente igual a ( $y = 0.0146x + 0.0049$ ) figura 1, la pendiente es utilizada para la cuantificar de la cantidad de proteína a utilizar de la muestra problema. Como testigo es BSA como estándar en un intervalo de variación de concentración de BSA que va de 0 a 100  $\mu\text{g}$ , el complejo colorido se determinó a una absorbancia de 640nm.

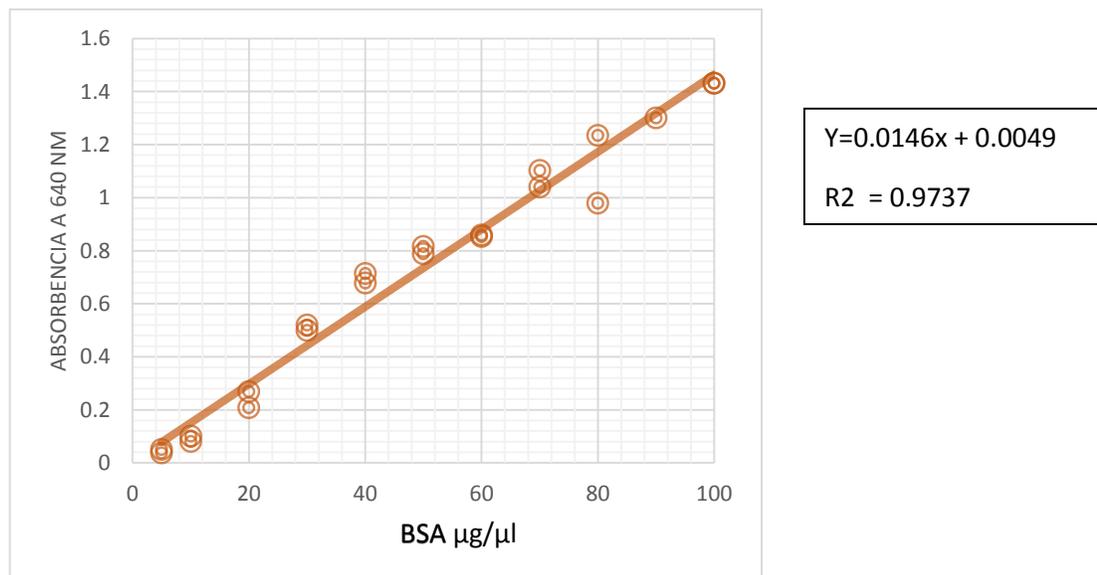


Figura 1 Curva de calibración de proteína (BSA) por el método de lowry

## 2.2 Obtención del extracto crudo de enzimas de eritrocito humano AKR1B1.

Para la obtención del extracto crudo de enzima de eritrocito humano se realizó iniciando con una flebotomía en condiciones asépticas recolectando aproximadamente 3 mL de sangre de humano en un tubo con anticoagulante EDTA, después 500µl los eritrocitos se colocaron en tubos eppendorf. Las células se lavan 3 veces con solución salina para retirar el exceso de cualquier estructura proteínica de la membrana. Después de finalizar los tres lavados se adicionan 10µl de 2-mercaptoetanol y 10µl de un coctel de inhibidores de proteasas. Posterior a esto se preparó una dilución al 10% de eritrocitos lavados en buffer de fosfatos de potasio a un pH de 7.4 junto con 150mM de NaCl. Después toda la mezcla fue congelada a -40°C por 3 horas, transcurrido el tiempo se descongeló por 1 hora, repitiendo el ciclo 3 veces para garantizar la ruptura de la membrana. Después de romper la membrana del eritrocito por cambios de temperatura la dilución se centrifugó a 10 000 rpm por un tiempo de 15 minutos, después del centrifugado el sobrenadante fue utilizado como extracto crudo de enzima utilizado para determinar la actividad catalítica y la actividad inhibitoria tabla 1.

## 2.3 Obtención del extracto crudo de enzima de cristalino de rata Wistar AKR1B4.

Para obtener el extracto crudo de enzima de cristalino se realizó la extracción del ojo de la rata, posterior se liberó el cristalino de la membrana del ojo y se colocó en un homogenizador junto con 1 mL de buffer de fosfato de potasio 0.1 M a pH 6.8 y 10 µl del coctel de inhibidores de proteasas. Los cristalinos fueron triturados en el homogenizador para liberar a la enzima, después todo líquido homogenado se centrifugó a 10 000 rpm por un tiempo de 15 min. al final del centrifugado el sobrenadante se utilizó como extracto crudo de enzima para determinar la actividad inhibitoria tabla 4, y la biomasa fue desechada.

## 2.4 Medición de la actividad enzimática de extracto crudo de enzima AKR1B1 y AKR1B1 *in vitro*.

El efecto de los compuestos sintéticos y los extractos vegetales sobre las enzimas fueron evaluados por dos métodos: el primero consistió en la determinación de la inhibición de NADPH y el segundo en la medición del producto de la reacción.

## 2.5 Determinación de la Actividad enzimática inhibitoria y catalítica de AKR1B1 y AKR1B4.

La actividad catalítica e inhibitoria se determinó por el decaimiento de la pendiente a causa del consumo de NADPH en una mezcla de reacción que contiene las diluciones que se muestran en la tabla 4, se utilizó una longitud de onda de 340 nm que es propiedad del NADPH para absorber la luz en un espectrofotómetro.

Tabla 1 Diluciones de la mezcla de reacción para determinar actividad catalítica de la enzima AKR1B1 y AKR1B4.

DILUCIONES	Control μl	Blanco1 μl	Muestra μl	Blanco2 μl
Gliceraldehido 0.1 mM	300	-----	300	-----
Buffer fosfatos de potasio (pH6.8).	2535	2835	2535	2835
Agua o DMSO.	30	30	-----	-----
Extracto vegetal (1mg/mL).	-----	-----	30	30
Extracto crudo de enzima.	60	60	60	60
NADPH (0.2 mM).	60	60	60	60
2-Mercaptoetanol 1 Mm	15	15	15	15
Volumen final	3000	3000	3000	3000

La reacción fue iniciada después de la adición de la coenzima NADPH a la mezcla de reacción a una temperatura (T°) de 25°C en ensayo con extracto crudo de cristalino de rata, y a una T° de 37°C en ensayos de extracto crudo de eritrocito humano. La reacción duró un lapso de 2 minutos en el espectrofotómetro. Al finalizar se registró el patrón del decaimiento del consumo de NADPH. El valor de la pendiente registrada por el espectrofotómetro es utilizado para calcular la actividad específica de la enzima, y a la vez determinar la actividad inhibitoria. Para la determinación se utilizó la siguiente formula [40]:

$$\text{Actividad específica (U/mg de proteína)} = \frac{\text{ABS}/\text{min} (Vf)(1\text{cm}^2)}{(\epsilon)(Vm)} / \text{mg de proteína.}$$

Donde:

ABS/ min: Absorbencia/2minutos

Vf: (Volumen final)

Vm; (Volumen agregado de enzima cruda):

ε (Coeficiente de extinción de NADPH): 0.0062 cm<sup>2</sup>/mL.

## 2.6 Determinación de producto glicerol.

Para la determinación del producto de la reacción se utilizó el segundo método, se cuantifico la concentración de glicerol. La medición de glicerol se determinó con un reactivo comercial de glicerol libre de sigma. El reactivo transforma el glicerol contenido en la muestra a un producto colorido quinoneimida que absorbe la luz a 540 nm. El aumento de la absorbencia es directamente proporcional a la cantidad de glicerol de la muestra.

La determinación se llevó a cabo con 4 tubos con una rotulación de: control, muestra, blanco y estándar. Se colocan 1200µl de reactivo de glicerol libre a cada tubo. Al blanco se agregó 30µl de agua des-ionizada, al estándar 30µl de una disolución de glicerol a 0.26 mg de glicerol/mL, al control y la muestra se agregó 30µl de la mezcla reacción catalizada por la enzima previamente centrifugada a una velocidad de 12 000 rpm durante 15 minutos tabla 2 para que por diferencia de densidades el glicerol permanezca en la parte inferior del tubo y facilite su obtención. Una vez los tubos con su mezcla de reacción se dejan en reposo por 15 minutos a temperatura ambiente, y se midió la absorbencia de cada uno de ellos a 540 nm.

Tabla 2 Diluciones para la determinación cuantitativa de glicerol

	Control	Muestra	Blanco	Estándar
Glicerol	1200µl	1200µl	1200µl	1200µl
Muestra ensayada	30µl	30µl	---	---
Agua des-ionizada	---	---	30µl	---
Sol. Estándar	---	---	---	30
Volumen final	1230	1230	1230	1230

Para la determinación cuantitativa de glicerol no debe de ser excedido el tiempo del análisis, y solamente se determina en las inhibiciones de más del 50%. Los datos registrados por el espectrofotómetro son utilizados para determinar la cantidad de glicerol utilizando la formula siguiente:

Donde: 
$$\text{Glicerol } \left( \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{ABS}_m - \text{ABS}_b}{\text{ABS}_e - \text{ABS}_b} / 0.26 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

ABS<sub>m</sub>: Absorbencia de muestra.

ABS<sub>b</sub>: Absorbencia de blanco.

ABS<sub>e</sub>: Absorbencia de estándar.

0.26 µg/mL: Constante

### 3. Discusión.

La presencia y estimulación de la actividad de la AKR está asociada a las afecciones metabólicas tales como la diabetes. Como ejemplo está el cristalino de ojo de humano el cual en condiciones hiperglucémicas incrementa la expresión de la enzima AKR la cual es causante de la formación de catarata en ojo. Además, la presencia de las AKR interviene en la detoxificación de los productos de reacción, lo cual es un problema para la terapia anticancerígena ya que la actividad de la AKR es inactivar una serie de fármacos dirigidos al tejido con tumor. Por ello la búsqueda de inhibidores de la AKR es de gran importancia. Algunas lesiones han sido vinculadas a la capacidad de la AKR para la formación de prostaglandinas en procesos inflamatorios. Por esta razón en este trabajo se realizó un escrutinio de extractos vegetales de tres especies arbóreas que fueron *Tabebuia rosae*, *Tabebuia donnell-smithii* y *Jatropha cordata* en busca de inhibidores de la enzima AKR. Los resultados de los ensayos con los extractos hexánicos de los órganos de *T. rosae* mostraron una actividad inhibitoria sin una diferencia significativa de acuerdo al análisis de estadístico para las dos enzimas AKR1B1 y AKR1B4 excepto por el extracto de un órgano de corteza de la enzima AKR1B1. Lo resultados del extracto de flores de *T. rosae* mostraron una actividad inhibitoria de 87.50% y 76.65% frente a las enzimas AKR1B4 de rata Wistar y AKR1B1 de eritrocito humano. Al igual los extractos de órgano de tallo la actividad inhibitoria fue la misma en las enzimas AKR1B4 y AKR1B1 respectivamente. Los resultados de los extractos de hoja mostraron una actividad inhibitoria frente a AKR1B4 y AKR1B1, con esto se estima que el compuestos causante de la inhibición está presente en la mayoría de los extractos de órgano de *T. rosae* a excepción del extracto de corteza como se mencionó anteriormente, esto supone que para logran inhibir a AKR1B1 el extracto de corteza no contiene los mismos componentes que los demás extractos, pero si lo suficiente para inhibir a AKR1B4 en más del 50%. De igual manera se determina el producto de la reacción para constatar los resultados.

Además también se ensayaron 14 compuestos químicos ensayados de los cuales 12 eran compuestos de origen sintético que abarcaban 7 compuestos de la familia de las dihidropiridinas (DHP), 5 benzaldehidos y 2 metabolitos secundarios. En la familia de las DHP se conocen terapéuticamente como bloquea dores de los canales de calcio. Nuestros resultados indican que la DHP con un flúor (F) en posición *orto* mostró una actividad inhibitoria de 90.75% frente a la enzima AKR1B4 y una inhibición de 71.49% frente a la enzima AKR1B1, estas dos inhibiciones tienen una diferencia de 19.26% una de otra, la cual es mayor a comparación de la diferencia que hay en las inhibiciones de las mismas enzimas ensayadas con el extracto de órgano de hojas de *T. donnell-smithii*. Además se conoce que las fluoropirimidinas son ampliamente utilizadas para el tratamiento de diversos tumores malignos, de los cuales los más conocidos son capecitabina, floxuridina y fluorouracilo (5-FU) [20], por ello el extracto de hoja de *T. donnell-smithii* sigue como perspectiva para investigaciones posteriores para inhibir a la AR, pero por otra parte el DHP (F) que para posteriores investigaciones para inhibir ala deshidrogenasa AKR1C1 implicada en la resistencia a los fármacos anticancerígenos. La DHP con sustitución de un nitrito (NO<sub>2</sub>) en posición *para* mostró también una actividad inhibitoria frente a las enzimas AKR1B1 de eritrocito y AKR1B4 de rata pero inferior a comparación de las inhibiciones por la DHP (F) con un valor de 58.99% y 32.04. La nitrendipina que es de la familia de las dihidropirimidinas con un mecanismo para inhibir el flujo de iones de calcio (Ca) al tejido músculo vascular mostro [45] mostró una inhibición del 10.82% y 85% frente a AKR1B4 y AKR1B1 con una inhibición considerable en AKR1B1 de eritrocito. Las tres DHP con un cloro (Cl),

hidrogeno (H) y metil (CH<sub>3</sub>) en posición *orto* y *meta* mostraron una estimulación de la enzima potenciando la actividad enzimática con valores de 346.77%, 51.77% y 77.58 % respectivamente frente a la enzima AKR1B4, y una activación del 109.60% y 73.12% frente a la enzima AKR1B1. Y al final fue determinado el producto de la reacción.

De los resultados obtenidos de los extractos de órgano de *T. donnell-smithii*, el extracto de órgano de hoja mostró una actividad inhibitoria frente a las enzimas AKR1B1 de eritrocito humano y AKR1B4 de rata Wistar interesante, y se asevera que los efectos se debe a los compuestos mayoritarios contenidos en el extracto, lo cual nos indica que este extracto es candidato para investigaciones químicas para dilucidar la molécula causante de la inhibición. Al igual el extracto de corteza de *T. donnell-smithii* mostró una actividad inhibitoria moderada de AKR1B1 de eritrocito humano y AKR1B4 de rata Wistar. Los extractos de órganos de semillas y flores tuvieron una actividad contraria a la buscada, ellos estimularon la actividad enzimática de la AKR1B4, y de AKR1B1, y con ello se sospecha que la activación de la enzima se debe a los compuestos mayoritarios contenidos en el extracto o incluso los minoritarios. De los resultados obtenidos de cada extracto se seleccionó a los que tuvieran más del 50% de actividad inhibitoria para confirmar la actividad de la AR y hacer una correlación de la inhibición y el producto (Glicerol) formado.

Existen algunos benzaldehídos sustituidos en posición 4 que les atribuye una función odorífera, por ejemplo el 4-metilbenzaldehído que tiene un olor herbóreo dulce, tipo almendra amarga, contrario el 4-isopropilbenzaldehído que tiene un olor herbóreo desagradable y potente [21]. Y de acuerdo a nuestros resultados el único benzaldehído que mostró una actividad inhibitoria frente a AKR1B1 y AKR1B4 fue el 4-Nitrobenzaldehído figura 8 B que mostró una inhibición del 84.08% y 74.95% con una diferencia del 10% entre las dos inhibiciones de las enzimas. El 2,3-Diclobenzaldehído mostró inhibición de 86.64% solamente frente a AKR1B1 pero considerable para tener presente su actividad para trabajos en la enzima AR purificada.

De igual manera que a los miembros de la familia AKR1B las enzimas AKR1C (C1-C4) contribuye a la detoxificación del organismo. Esta subfamilia tiene afinidad por los sustratos que incluyen, esteroides, algunos xenobioticos, monosacáridos y prostaglandinas. La enzima AKR1C1 es miembro de esta subfamilia, posee actividad 20 $\alpha$ -hidroxideshidrogenasa, y la deficiencia de esta hormona provoca trastornos en el retraso del parto. La actividad de estas enzimas y especial la enzima AKR1C1 está implicada en la desintoxicación e inactivación de los productos del mecanismo de fármacos anticancerígenos, y en la formación de especies reactivas de oxígeno. La sobreexpresión de 1C1 se da en pequeñas células cancerosas de pulmón, ovario, endometrio, testículos, glándulas mamarias y cerebro, y tal sobreexpresión no existe en células normales. Hasta ahora los fármacos a los que se les genera resistencia son de la familia de las antraciclinas como: cisplatino, adriamicina, daunorubicina, doxorubicina. Steckelbrock *et al.* en 2003 utilizo un sistema de cromatografía en capa fina o TLC por sus siglas en inglés demostró que la isoforma AKR1C1 presentan actividad 3 $\beta$ -HSD con afinidad para los sustratos 3 $\beta$ -cetoesteroides en la síntesis de los productos androgénicos 3 $\beta$ -androstane diol. Los esfuerzos por inhibir a esta enzima de la subfamilia de AKRs es obstaculizada por que los ratones expresan al menos 8 proteínas AKR1C en comparación con los seres humanos que son solo 4, y esto ocasiona problemas para comparar directamente las enzimas humanas y ratón.