

# **Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil. y *Solanum lycopersicum* L. con la proteína tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum***

Gayozo, E.<sup>1\*</sup> & Rojas, L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, Laboratorio de Mutagénesis, Carcinogénesis y Teratogénesis Ambiental, San Lorenzo, Paraguay

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Microbiología Industrial, San Lorenzo, Paraguay

\*E-mail del autor: elviologo@gmail.com

---

**Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil y *Solanum lycopersicum* L. con la proteína tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum*.** *Leishmania infantum* es el principal causante de leishmaniasis visceral en humanos y en varios mamíferos. Numerosos estudios sugieren que la tripanotiona reductasa (TR) es un buen blanco para la búsqueda de moléculas bioactivas capaces de interactuar e inhibir funciones de esta proteína. El objetivo de esta investigación fue determinar *in silico* los fitoconstituyentes de *S. americanum*, *S. guaraniticum* y *S. lycopersicum* que demuestran afinidades de interacción con la TR, mediante el análisis de acoplamiento molecular y simulaciones de dinámica molecular. Se evaluaron un total de treinta moléculas descritas en *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* y *Solanum lycopersicum*. Las pruebas de acoplamiento molecular se realizaron entre estas y el sitio activo de la TR. Todas las moléculas demostraron afinidades de interacción por la TR, sin embargo, las que presentaron valores de energía de interacción significativamente favorables ( $p < 0,001$ ) entre todas fueron la solasodina, la solamargina y la manghaslina. Posteriormente, el análisis de las simulaciones de dinámica molecular reveló que solo la interacción con la solasodina demostró ser estable y presentar energía libre de interacción significativamente favorable ( $\Delta G_u = -4,68 \pm 2,57 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ ), sin embargo, las interacciones con la solamargina y la manghaslina resultaron desfavorables ( $\Delta G_u = 0,87 \pm 0,19 \text{ kcal.mol}^{-1}$  y  $\Delta G_u = 12,79 \pm 9,25 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivamente). Los residuos activos de la TR implicados en la interacción con la solasodina fueron la Lys60, la Tyr198 y la Arg287. Estos hallazgos sugieren que la proteína TR podría ser un blanco de interacción del glicoalcaloide solasodina, pudiendo ser un potencial inhibidor de su actividad enzimática.

**Palabras claves:** *Solanum*, glicoalcaloides, acoplamiento molecular, dinámica molecular.

**Structural analysis of *in silico* interactions of phytoconstituents from *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil and *Solanum lycopersicum* L. with the protein trypanothione reductase of *Leishmania infantum*.** *Leishmania infantum* is the main cause of visceral leishmaniasis in humans and several other mammals. Numerous studies suggest that trypanothione reductase (TR) is a good target to search for bioactive molecules capable of interacting and inhibiting functions of this protein. The objective of this research was to determine *in silico* phytoconstituents from *Solanum americanum*, *Solanum guaraniticum* and *Solanum lycopersicum* that show interaction affinities to TR, by analysis of molecular docking and molecular dynamics simulations. A total of thirty molecules described in *S. americanum*, *S. guaraniticum*, and *S. lycopersicum* were evaluated. Molecular docking

## Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa*

tests were performed between these molecules and TR's active site. All molecules demonstrated interaction affinities to TR; however, the ones which showed significantly favorable interaction energy values ( $p < 0.001$ ) were solasodine, solamargine, and manghaslin. Subsequently, the analysis of molecular dynamics simulations revealed that only the interaction with solasodine proved to be stable and present significantly favorable interaction-free energy ( $\Delta G_u = -4.68 \pm 2.57 \text{ kcal.mol}^{-1}$ ;  $p < 0.05$ ); however, interactions with solamargine and manghaslin were unfavorable ( $\Delta G_u = 0.87 \pm 0.19 \text{ kcal.mol}^{-1}$  and  $\Delta G_u = 12.79 \pm 9.25 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectively). The active residues of TR involved in the interaction with solasodine were Lys60, Tyr198 and Arg287. These findings suggest that the TR protein could be an interaction target for the glycoalkaloid solasodine, and could be a potential inhibitor of its enzymatic activity.

**Keywords:** *Solanum*, glycoalkaloids, molecular docking, molecular dynamics

---

### INTRODUCCIÓN

*Leishmania infantum* es la principal causante de leishmaniasis visceral en el ser humano y en varias especies de mamíferos (Turcano *et al.*, 2018). Según datos recabados por el Programa Nacional de Control de Zoonosis y Centro Antirrábico Nacional (PNCZ y CAN), entre los años 2016 al 2018 se registraron un total de 117 casos positivos, con un promedio de 4 casos por mes y una tasa de incidencia de 0,9 por cada 100.000 habitantes en el año 2016, 0,5 en el año 2017 y 0,3 en el año 2018 (MSPBS, 2018).

Los fármacos recomendados por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para tratar la leishmaniasis visceral son la anfotericina B liposomal, antimoniales pentavalentes y anfotericina B desoxicolato, estos presentan efectos adversos afectando principalmente a riñones, hígado, y corazón además de generar hipersensibilidad en los pacientes, por lo que en algunos casos se encuentran contraindicados a pacientes inmunocomprometidos, a embarazadas y a personas con edades menores a 1 y mayores a 50 años (OPS, 2013; Tovar y Yasnot, 2017).

A causa de estos efectos adversos,

durante las últimas décadas se han explorado en la búsqueda de nuevas moléculas que tengan como blanco molecular proteínas vitales de estos parásitos (Tiuman *et al.*, 2011). Algunos investigadores han estudiado a la enzima tripanotia reductasa (EC: 1.8.1.12) y han observado que pueden ser considerados como blanco molecular para la búsqueda y diseño de potenciales inhibidores reversibles, esto debido en parte a que es drogable, se encuentra exclusivamente en el protozoario y no así en el hospedero, además de que cumple con funciones vitales para la supervivencia del parásito (Tiwari *et al.*, 2018; Colotti *et al.*, 2013).

Esta proteína cumple funciones de oxidorreductasa y se encuentra conformada por dos cadenas simétricas (protómeros A y B), estudios estructurales han revelado que la misma cuenta con varios dominios de unión a moléculas, el primero es el dominio conocido como interfaz, conformado por los residuos 48-87, 16-65, 334-348, 433-454 y 395-398, los cuales interactúan con la molécula de tripanotia, el segundo dominio es el dominio de unión a la NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido) conformado específicamente por los residuos 161-288 y finalmente

el tercer dominio, el cual es el de unión a la FAD (flavín adenín dinucleótido), conformado por los residuos 1-60 y 289-360 (Colotti *et al.*, 2013; Turcano *et al.*, 2018). La actividad depende fundamentalmente de la transferencia de electrones de la NADPH vía FAD a la tripanotona, promoviendo de esta manera la neutralización de las moléculas de peróxido de hidrógeno producidos por los macrófagos infectados (Colotti *et al.*, 2013; Turcano *et al.*, 2018).

Durante las últimas décadas, varios investigadores han realizado la búsqueda de moléculas con usos potenciales como leishmanicidas en productos naturales de origen vegetal (Argüelles *et al.*, 2016; Salem y Werbovets, 2006; Venkatesan *et al.*, 2011). Las plantas son fuentes de metabolitos secundarios con principios activos apreciables para la biomedicina e industrias farmacéuticas, por sus aplicaciones para el desarrollo de nuevos fármacos y la búsqueda de moléculas bioactivas (Rungsung *et al.*, 2015).

En este contexto, el género *Solanum* es uno de los más extensos dentro de la familia Solanaceae, con un amplio rango de actividades biológicas entre los que se resaltan las acciones antiprotozoarias, actividades que dependen directamente de la presencia de una innumerable cantidad de fitoconstituyentes bioactivos como los alcaloides, las saponinas esteroidales, los glicósidos, terpenos, flavonoides, compuestos fenólicos, cumarinas y entre otros (Kaunda y Zhang, 2019).

Recientemente, Alvarenga *et al.* (2020) han demostrado que el extracto metanólico de *S. americanum* Mill., y

sus fraccionamientos en cloroformo y en acetato de etilo presentan actividades antiprotozoarias contra *L. infantum*, demostrando reducciones en la cantidad de protozoarios en un 74-98% a concentraciones de 50-100  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . De igual manera, Clementino *et al.* (2018) han reportado que los glicoalcaloides esteroidales (solasonina, solasodina y solamargina) que se encuentran en la especie *S. lycocarpum* A. St.-Hil. presentan actividades leishmanicidas *in vitro* contra promastigotes y amastigotes de *L. infantum*.

Abreu Miranda *et al.* (2013) mencionan que el glicoalcaloide solamargina extraído de los frutos de *S. lycocarpum* presentan actividades leishmanicidas contra promastigotes de *L. amazonensis* ( $\text{IC}_{50} = 1,1 \mu\text{M}$ ). También Hubert *et al.*, (2013), evaluando las actividades leishmanicidas de plantas medicinales demostraron que el extracto obtenido de la especie *S. torvum* Sw. inhibe la proliferación de promastigotes de *L. donovani* ( $\text{IC}_{50} = 96,08 \pm 4,39 - 86,13 \pm 4,30 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ).

Argüelles *et al.*, (2016) realizando ensayos computacionales entre varios alcaloides, muchas de ellas presentes en especies de *Solanum*, y la tripanotona reductasa de *Trypanosoma cruzi* revelaron que muchos de estos presentan afinidades de interacción con la enzima, entre las que se mencionan a la (22R,25R)-solasodina, (22S,25R)-solanidina y (22S,25S)-tomatidina, sin embargo, a pesar de presentar afinidades de interacción con la enzima, se desconoce la estabilidad de la interacción.

Debido a la relevancia epidemiológica de la leishmaniasis visceral en el Paraguay y a la diversidad de fitocons-

## Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa*

tituyentes que poseen las especies del género *Solanum*, se propuso como objetivo principal de esta investigación el determinar mediante ensayos *in silico* los fitoconstituyentes de las especies nativas *S. americanum* Mill., y *S. guaraniticum* A. St.-Hil y de la especie exótica *S. lycopersicum* L., que presenten potencial interacción con la enzima tripanotia reductasa de *L. infantum* por medio del análisis estructural de los acoplamientos moleculares y las simulaciones de dinámica molecular. Las especies nativas *S. americanum* y *S. guaraniticum* fueron seleccionadas para realizar esta investigación debido a que son poco estudiadas, esto permitirá ir complementando la información científica existente de los mismos a nivel país.

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Caracterización de la drogabilidad del sitio de unión a NADPH y FAD

Las puntuaciones de drogabilidad del sitio de unión a las moléculas NADPH y FAD (PDB: 2X50) de la enzima tripanotia reductasa, fueron analizados y caracterizados empleando la herramienta DoGSiteScorer (Volkamer *et al.*, 2012). Para ello se determinaron los descriptores del sitio drogable como el tamaño, los grupos funcionales y la composición de residuos presente en el mismo.

#### Análisis de las pruebas de acoplamiento molecular entre la TR de *L. infantum* y fitoconstituyentes de *S. guaraniticum*, *S. americanum* y *S. lycopersicum*

Las estructuras moleculares de los fitoconstituyentes descritos por Kaunda &

Zhang (2019) en las especies *S. guaraniticum*, *S. americanum* y *S. lycopersicum* fueron obtenidas de la base de datos PubChem (Kim *et al.*, 2016) (Tabla 1).

La estructura de la proteína tripanotia reductasa fue obtenida de la base de datos Protein Data Bank RCSB (PDB: 2X50) (Baiocco *et al.*, 2011; Berman *et al.*, 2000). Las estructuras de los fitoconstituyentes y la proteína TR fueron preparadas aplicando cargas parciales y agregando átomos de hidrógeno polares empleando para ello el programa PyRx 0.8 (Dallakyan y Olson, 2015).

Las pruebas de acoplamiento molecular se realizaron con el programa AutoDock Vina v.1 (Trott y Olson, 2010) empleando una grilla de interacción con dimensiones de 31x26x41 Å<sup>3</sup>. De los resultados obtenidos fueron seleccionados para realizar ensayos de acoplamiento molecular exhaustivos en una totalidad de cincuenta repeticiones, aquellas moléculas que presentaron afinidades de unión y valores de energía libre de interacción favorables. Como control del ensayo de acoplamiento molecular se empleó a la molécula NADPH.

La visualización y el análisis de los complejos resultantes del acoplamiento entre los ligandos seleccionados y la cadena A de la enzima TR se realizaron empleando el programa Discovery Studio Visualizer v. 20 (Dassault Systèmes BIOVIA, 2019).

#### Análisis de las simulaciones de dinámica molecular

Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron por triplicados a modo de minimizar los errores que se pueden generar en las simulaciones y

constatar la estabilidad y rendimiento energético de los ligandos, para ello se emplearon los programas NANOScale Molecular Dynamics 2.14 (Phillips *et al.*, 2005) y Visual Molecular Dynamics 1.9.3 (Humphrey *et al.*, 1996).

Se utilizaron parámetros de campo de fuerza CHARMM36 (Vanommeslaeghe *et al.*, 2010) y los datos topológicos de los ligandos fueron realizados utilizando la herramienta CHARMM-GUI (Brooks *et al.*, 2009; Jo *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2016). Los complejos proteína-ligando fueron solvatados con moléculas de H<sub>2</sub>O TIP3P en una grilla con distancias de 2-100 nm (Jorgensen *et al.*, 1983). Se agregaron también iones sodio (Na<sup>+</sup>) y cloruro (Cl<sup>-</sup>) para neutralizar las cargas parciales del sistema (Liang *et al.*, 2020). Las dinámicas moleculares fueron isotérmicas e isobáricas a temperatura y presión constantes de 310 K y 1,02 bar respectivamente, por un tiempo de 1 ns (1000 ps) con intervalos de tiempo de 2 fs, el periodo de oscilación fue de 150 fs, las velocidades fueron azarosas según la distribución de Maxwell, con una constante dieléctrica del solvente igual a 1.

La estimación de la estabilidad de la interacción se realizó calculando los valores de RMSD (raíz de la desviación cuadrática media), de RMSF (raíz de la fluctuación cuadrática media) y  $\Delta$ RMSF (variación de la raíz de la fluctuación cuadrática media) de los sistemas en el tiempo simulado, para ello se utilizó el programa Visual Molecular Dynamics 1.9.3 (Humphrey *et al.*, 1996).

Los valores de energía libre de unión ( $\Delta G_u$ ) de los ligandos en los complejos formados fueron estimados utilizando

el método EIL (Energía de Interacción Lineal) (Åqvist *et al.*, 1994; Hansson *et al.*, 1998) utilizando para ello la herramienta CaFE (Liu y Hou, 2016).

El análisis de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de las moléculas seleccionadas se realizaron teniendo en cuenta la regla de los cinco de Lipinski (Butina *et al.*, 2002; Selick *et al.*, 2002), para ello se empleó la herramienta SwissADME (Daina *et al.*, 2014, Daina *et al.*, 2017; Daina y Zoete, 2016).

### Análisis estadístico de datos

Los valores de energía libre de unión ( $\Delta G_u$ ) obtenidos en las pruebas de acoplamiento molecular fueron analizados mediante el test de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952) con 5% de nivel de significancia y el test *post-hoc* de Dunn (Dunn, 1964).

Los resultados de energía libre de unión ( $\Delta G_u$ ) obtenidas en las simulaciones de dinámica molecular fueron analizadas con el test de ANOVA con 5% de nivel de significancia (previa comprobación de supuestos), y con la prueba *post-hoc* de Tukey (5% de nivel de significancia), para ello se utilizó el programa Past v. 4.06b (Hammer *et al.*, 2001). Los gráficos estadísticos fueron realizados empleando los programas Past v. 4.06b (Hammer *et al.*, 2001) y Microsoft Excel (2016).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tripanotona reductasa (TR) es una oxidoreductasa homodimérica conformada por dos cadenas A y B, en las cuales se identifican los mismos sitios de

**Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotonia* reductasa**

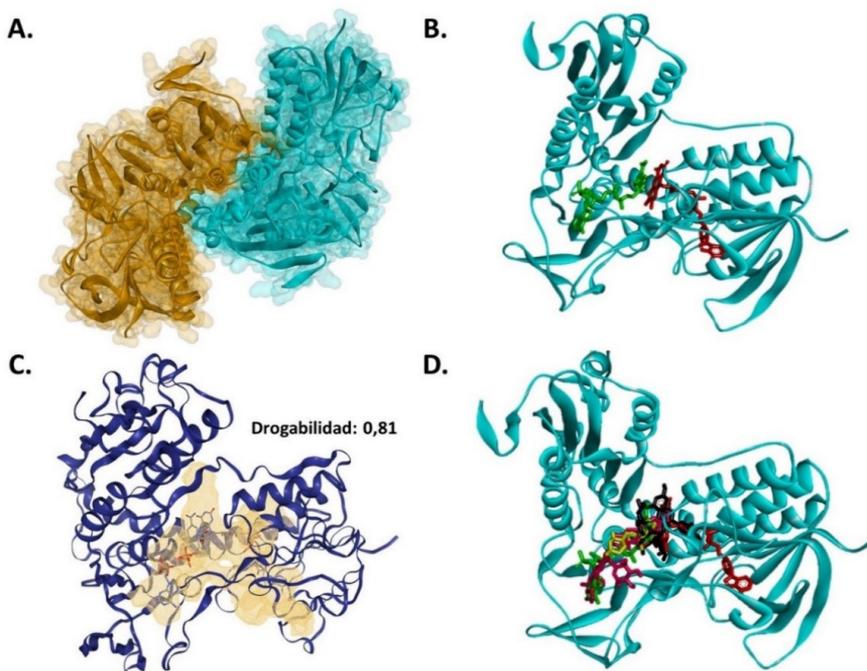
unión de las moléculas intercambiadoras de electrones NADPH y FAD (Figura 1.A, B).

Este sitio de unión a la NADPH y FAD demostró una puntuación de drogabilidad igual a 0,81, lo cual nos sugiere que es altamente drogable y utilizable como blanco para la búsqueda o diseño de potenciales inhibidores (Volkamer *et al.*, 2012) (Figura 1.C).

Este sitio de unión identificado posee un volumen de 2577,62 Å<sup>3</sup>, una superficie de 2981,11 Å<sup>2</sup> y una profundidad de 33 Å, con 509 átomos presentes en el mismo, 78 grupos funcionales con la capacidad de generar puentes de hidrógeno (donadores), unos 159 grupos aceptores

de puentes de hidrógeno y un 39% de hidrofobicidad con 151 grupos capaces de generar interacciones hidrofóbicas. También se ha identificado la presencia de residuos apolares en un 47%, residuos polares en un 38%, residuos básicos en un 7% al igual que la presencia de residuos ácidos, destacándose un ligero aumento en la cantidad de residuos apolares en comparación a la de residuos polares. Los residuos presentes en este sitio activo fueron Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr y Val.

Montrieux *et al.* (2014) emplearon al ácido rosmarínico y al ácido cafeico junto con otros fitoconstituyentes de



**Figura 1:** **A.** Representación de la tripanotonia reductasa de *Leishmania infantum*, PDB: 2X50 (Cadena A: celeste; Cadena B: naranja). **B.** Región activa de la cadena A en acoplamiento con las moléculas FAD (rojo) y NADPH (verde). **C.** Sitio activo de interacción (naranja) e índice de drogabilidad. **D.** Sitio de acoplamiento de las moléculas seleccionadas solasodina (amarillo), solamargina (fucsia), manghaslina (negro) en comparación a los sitios de acoplamiento de la FAD (rojo) y la NADPH (verde)

*Pluchea carolinensis* (Jacq.) D.Don y evidenciaron que ambas moléculas presentan actividades leishmanicidas contra *L. amazonensis* con una  $IC_{50}$  de  $0,7 \pm 0,3 \mu\text{M}$  y  $5,2 \pm 1,1 \mu\text{M}$  respectivamente ante promastigotes e  $IC_{50}$  de  $4,8 \pm 1,2 \mu\text{M}$  y  $16,0 \pm 1,8 \mu\text{M}$  respectivamente ante amastigotes intracelulares, en ambas se determinaron índices de selectividad de 20 y 11 respectivamente. A su vez, Garcia *et al.* (2019) y da Silva *et al.* (2019) demostraron que ambas moléculas (ácido rosmarínico y ácido cafeico) son capaces también de inhibir las actividades de la enzima arginasa de los parásitos *L. infantum* y *L. amazonensis*.

De igual manera, los ensayos realizados con los fitoconstituyentes de la especie *S. americanum*, evidenciaron que las moléculas solamargina y solasodina fueron las que demostraron valores energéticos más favorables ( $\Delta G_u = -11,3$  y  $-9,4 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivamente) entre todas las moléculas evaluadas. También se destaca que la energía  $\Delta G_u$  estimada en los fitoconstituyentes restantes fueron favorables con valores de entre  $-7,0$  a  $-9,3 \text{ kcal.mol}^{-1}$  (Tabla 1).

De entre los fitoconstituyentes estudiados de la especie *S. lycopersicum* se registró que las manghaslina y el lanosterol fueron las moléculas que presentaron energía libre de unión más favorables ( $\Delta G_u = -9,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$  y  $\Delta G_u = -10,2 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivamente), los demás fitoconstituyentes también evidenciaron valores energéticos favorables de  $-7,0$  a  $-9,7 \text{ kcal.mol}^{-1}$  (Tabla 1).

Las moléculas que fueron seleccionadas para llevar a cabo las repeticiones de las pruebas de acoplamiento molecular fueron el ácido rosmarínico, la solasodi-

na, la solamargina, la manghaslina y el lanosterol. El ácido rosmarínico reveló un promedio una energía libre de unión de  $-8,44 \pm 0,25 \text{ kcal.mol}^{-1}$  (Figura 2).

Con los fitoconstituyentes solamargina y solasodina se registraron en promedio valores de  $\Delta G_u$  iguales a  $-11,50 \pm 1,01 \text{ kcal.mol}^{-1}$  y  $-9,70 \pm 0,62 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivamente. A su vez, las moléculas manghaslina y lanosterol, evidenciaron  $\Delta G_u$  iguales a  $-10,11 \pm 0,72 \text{ kcal.mol}^{-1}$  y  $-8,50 \pm 0,46 \text{ kcal.mol}^{-1}$  respectivamente.

En estas pruebas se pudo registrar que la solamargina, la solasodina y la manghaslina fueron las moléculas que demostraron valores de  $\Delta G_u$  significativamente favorables ( $p < 0,001$ ) en comparación a lo obtenido con los demás fitoconstituyentes (Figura 2).

La solasodina, la solamargina y la manghaslina revelaron poseer afinidades de interacción por el sitio de unión de la NADPH-FAD y por residuos del sitio catalítico de la TR (Figura 1 D, 3A, B, C).

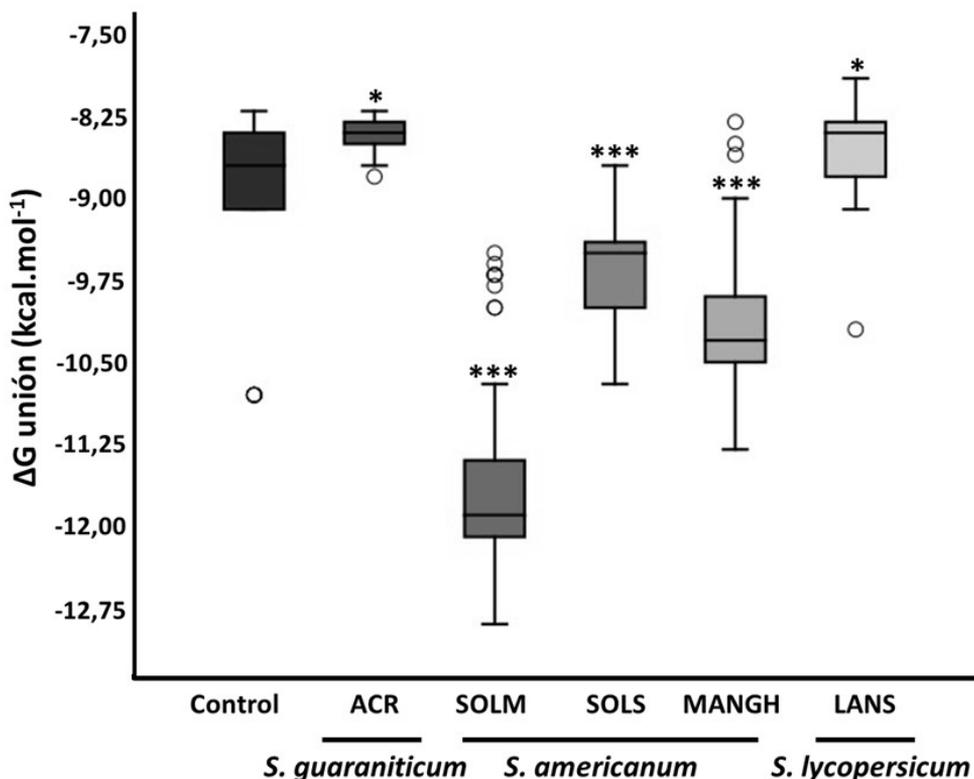
Los residuos que se encuentran activamente participando en la formación del complejo TR:solasodina fueron la Lys60, la Tyr198 y la Arg287. Se registró la formación de puentes de hidrógeno entre la solasodina y la Lys60 con distancias promedio de  $4,74 \text{ \AA}$  entre ellas. También se pudo identificar la formación de interacciones hidrofóbicas entre los orbitales  $\pi$  de la Tyr198 y las cadenas de alquilo presentes en la solasodina, con distancia promedio de  $5,12 \text{ \AA}$  entre ellos.

*Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de Solanum y  
Tripanotia reductasa*

**Tabla 1:** Resultados obtenidos en las pruebas de acoplamiento molecular

Fitoconstituyentes	PubChem CID	$\Delta G_u$ (kcal.mol <sup>-1</sup> )
NADPH†	-	-9,2
<i>Solanum guaraniticum</i>		
Ácido Rosmarínico	5281792	-9,8
Ácido Cafeico	689043	-7,1
<i>Solanum americanum</i>		
Ácido 3-Indolcarboxílico	69867	-6,6
Ácido 4-hidroxibenzoico	135	-6,1
Ácido Corcórico B	9861431	-7,0
Loliolido	100332	-7,0
N-trans-Feruloiltiramina	5280537	-9,3
N-trans-p-Cumaroiloctopamina	23874492	-9,0
N-trans-p-Cumaroiltiramina	5372945	-9,1
Ácido p-Cumárico	637542	-6,5
Resveratrol	445154	-8,0
Solamargina	73611	-11,3
Solasodina	442985	-9,4
<i>Solanum lycopersicum</i>		
Diosgenina	99474	-9,1
Tomatidenol	12442871	-8,7
α-Tomatina (Tomatina)	28523	-9,4
Tomatidina	65576	-9,0
Esculeosido A	10887728	-9,7
Friedelina	91472	-8,9
Manghaslina	11498684	-9,9
β-Sitosterol	222284	-8,5
Clionasterol	457801	-8,9
Stigmasterol	5280794	-8,9
γ-Tocoferol	92729	-7,6
Ergosterol	444679	-9,7
Lanosterol	246983	-10,2
Umbelliferona	5281426	-7,0
Bergamottina	5471349	-9,1
Esculetina	5281416	-7,3
Zizibeosido I	11972301	-9,2

†Control



**Figura 2:** Valores de energía libre de interacción ( $\Delta G_u$ ) obtenidas en las pruebas de acoplamiento molecular de los fitoconstituyentes seleccionados. Control: NADPH, ACR: ácido rosmarínico, SOLM: solamargina, SOLS: solasodina, MANGH: manghaslina, LANS: lanosterol. \* $p < 0,05$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ .

De igual manera se identificó la formación de interacciones hidrofóbicas entre el segmento alquilo de la cadena lateral del residuo Arg287 y la cadena de alquilo presente en la solasodina, con una distancia promedio de 5,71 Å entre ambas. Los residuos del sitio bolsillo de interacción fueron Gly56, Cys57, Gly197, Ile199, Arg228, Gly286, Met333 y Leu334 (Figura 3A).

La solasodina se ha descrito en numerosas especies de la familia Solanaceae, es un glicoalcaloide del tipo esteroidal, al igual que la solamargina. La solasodina, al igual que las especies que la sin-

tetizan, son muy valoradas por sus aptitudes farmacológicas, ya que las mismas son empleadas para la producción de corticoesteroides, esteroides anabólicos y drogas con efectos antifertilidad, también se le atribuye varias acciones tales como anticonvulsivo, antioxidante, antiinflamatorio, hepatoprotector, inmunomodulador, antimicrobiano, entre otras actividades (Kumar *et al.*, 2019; Mann, 1979).

Las actividades leishmanicidas de la solasodina fueron atribuidas a las propiedades fisicoquímicas de la molécula, ya que por su carácter principalmente

Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa*

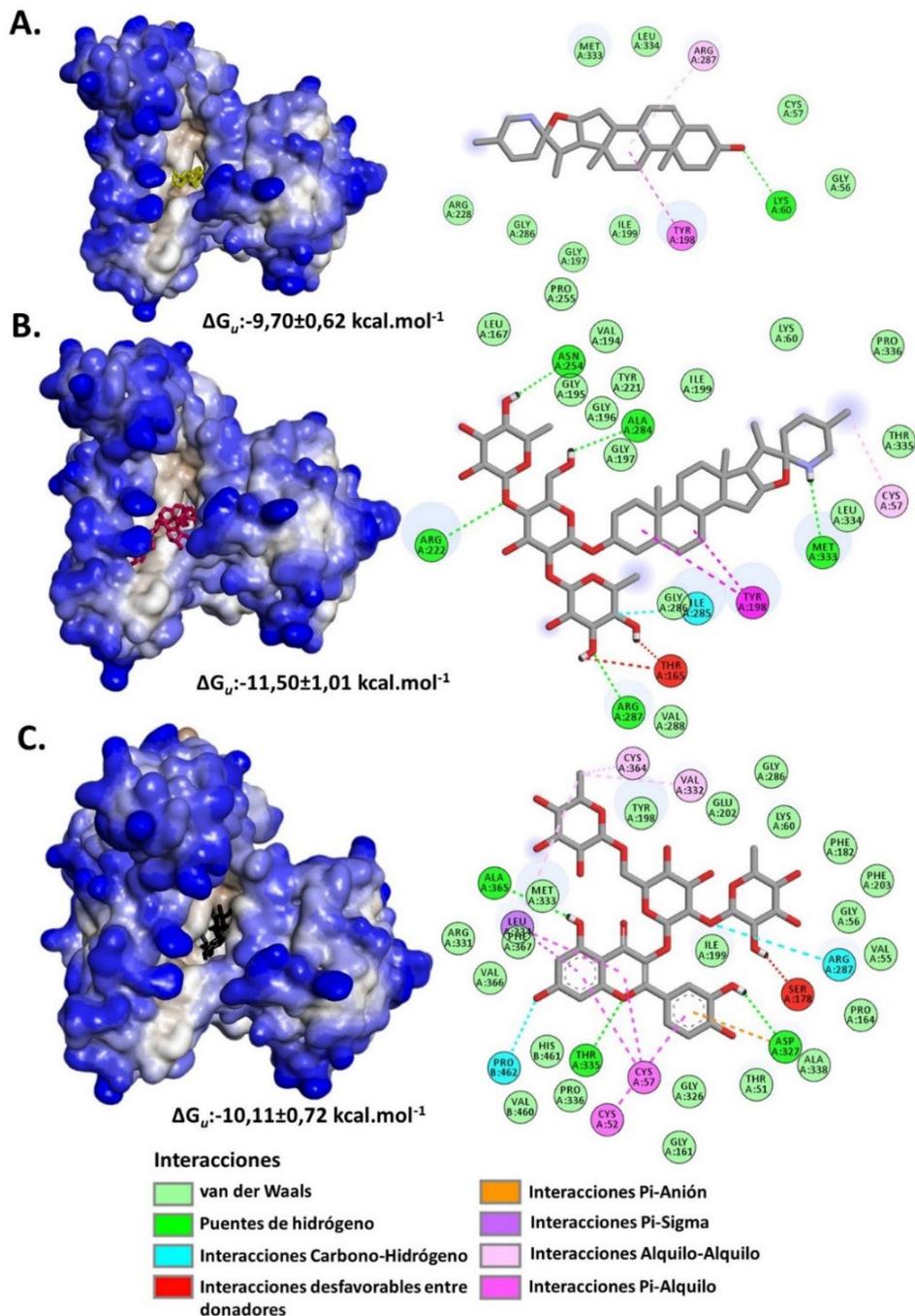


Figura 3: Modelos tridimensionales de superficie hidrofóbica (azul: hidrofílico, marrón: hidrofóbico) y bidimensionales de los complejos formados con las moléculas seleccionadas. **A.** Solasodina. **B.** Solamargina. **C.** Manghaslina

hidrofóbico permitiría a estas moléculas atravesar la membrana plasmática de la *L. infantum* rica en glicoproteínas ancladas con glicosilfosfatidilinositol, y una vez dentro del citoplasma del parásito interactuar con posibles blancos proteicos (Cham y Daunter, 1990; Clementino *et al.*, 2018; Ndjakou Lenta *et al.*, 2007).

A su vez, los residuos activos presentes en el complejo TR:solamargina fueron Cys57, Tyr198, Arg222, Asn254, Ala284, Ile285, Arg287 y Met333. La formación del complejo se encontraba estabilizado por la formación de puentes de hidrógeno entre la solamargina y los residuos Arg222, Asn254, Ala284, Arg287 y Met333, con distancias promedios de 4,58, 4,37, 4,59, 6,33 y 5,48 Å respectivamente.

También se pudo identificar la formación de puentes de hidrógeno no convencionales del tipo Carbono-Hidrógeno entre la solamargina y el residuo Ile285, con una distancia promedio de 5,98 Å (Gómez-Jeria *et al.*, 2020) (Figura 3B).

Se registró además la formación de interacciones hidrofóbicas entre orbitales  $\pi$  de la Tyr198 y las cadenas de alquilo de la solamargina, con distancias de entre 5,07 y 6,09 Å, e interacciones entre las cadenas de alquilo de la Cys57 y de la solamargina con una distancia promedio de 4,41 Å.

También se detectó la existencia de interacciones desfavorables entre la solamargina y el residuo Thr165, ocasionada por repulsiones entre los átomos del residuo y del ligando (Dhorajiwala *et al.*, 2019; Musfiroh *et al.*, 2020). Los residuos que forman parte del sitio bolsillo de interacción son Lys60, Leu167, Val194, Gly195, Gly196, Gly197,

Ile199, Tyr221, Pro255, Gly286, Gly288, Leu334, Thr335 y Pro336 (Figura 3B).

Los residuos activos presentes en el complejo TR:manghaslina fueron Cys52, Cys57, Arg287, Asp327, Val332, Leu334, Thr335, Cys364 y Ala365, entre los que se identificaron la formación de puentes de hidrógeno entre la manghaslina y los residuos Asp327, Thr335 y Ala365 con distancias promedios de 3,60, 4,16 y 4,33 Å respectivamente. Se pudo registrar también la formación de puentes de hidrógeno no convencionales del tipo Carbono-Hidrógeno con el residuo Arg287 con una distancia promedio de 4,49 Å.

Las interacciones electrostáticas fueron detectadas entre los orbitales  $\pi$  de la manghaslina y las cargas negativas del Asp327, con distancia promedio de 6,88 Å. También se registró la formación de interacciones entre los orbitales  $\pi$  de la manghaslina y orbitales  $\sigma$  de la Leu334 con una distancia de 4,21 Å (Figura 3C).

Se pudieron detectar interacciones hidrofóbicas entre grupos alquilo de la manghaslina y los residuos Leu334, Cys364 y Val332 con distancias entre residuos-ligando de 5,09, 5,56 y 5,05 Å respectivamente. Se observó la formación de interacciones entre orbitales  $\pi$  presentes en la manghaslina y segmentos alquilo de los residuos Cys52, Cys57 y Leu334 con distancias entre los residuos y el ligando de 5,22, 5,77 y 5,46 Å.

También se observó la existencia de posibles repulsiones moleculares entre la molécula de manghaslina y el residuo Ser178. Los residuos presentes en el sitio bolsillo de unión fueron Thr51, Val55, Gly56, Lys60, Gly161, Pro164,

**Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa***

Phe182, Tyr198, Ile199, Gly202, Phe203, Gly286, Gly326, Arg331, Met333, Pro336, Ala338, Val366 y Phe367 (Figura 3C).

De entre los residuos que se encuentran participando en la formación de los distintos complejos, la Tyr198 cumple un rol fundamental en la unión de la NADPH a la TR, donde el anillo aromático de la cadena lateral de la Tyr sufre una rotación de unos 120° para poder acomodar correctamente al anillo de nicotínico de la NADPH (Baiocco *et al.*, 2009; Colotti *et al.*, 2013).

Así también se ha descrito que el residuo Arg228 presente en la TR participa en la interacción de la NADPH, específicamente con el oxígeno (2 y 3) presentes en el 2' fosfato de la adenina-ribosa de la molécula (Baiocco *et al.*, 2009). A su vez, el residuo Ile199 también se encuentran cumpliendo un papel importante durante la unión de la NADPH y la TR, específicamente se encuentra interaccionando con el átomo de oxígeno (2) del grupo fosfato unido a la adenina, el residuo de Met333 se encuentra conservado interespecíficamente en la estructura de la TR, la misma también se encuentra interaccionando con el anillo de nicotinamida ribosa específicamente con el átomo de oxígeno (Baiocco *et al.*, 2009).

Otros residuos que se encuentran cumpliendo funciones importantes en la unión de la molécula NADPH a la TR son la Ala365, la Arg222 y la Tyr221, el primer residuo se encuentra interaccionando con la nicotinamida, el segundo con los átomos de oxígeno (1 y 3) presentes en la posición 2' fosfato y el último interacciona también con los oxí-

genos (1 y 2) del 2' fosfato (Baiocco *et al.*, 2009).

Los residuos Cys52 y Cys57 se encuentran altamente conservados interespecíficamente en la estructura de la TR, estos están presentes en el sitio catalítico y en un estado oxidado de la enzima forman puentes de disulfuro entre sí, sin embargo, en el estado reducido este puente de disulfuro se rompe permitiendo la entrada de iones de antimonio (III) y formando una estructura coordinada tetraédricamente por las dos cisteínas y el antimonio (Baiocco *et al.*, 2009; Colotti *et al.*, 2013).

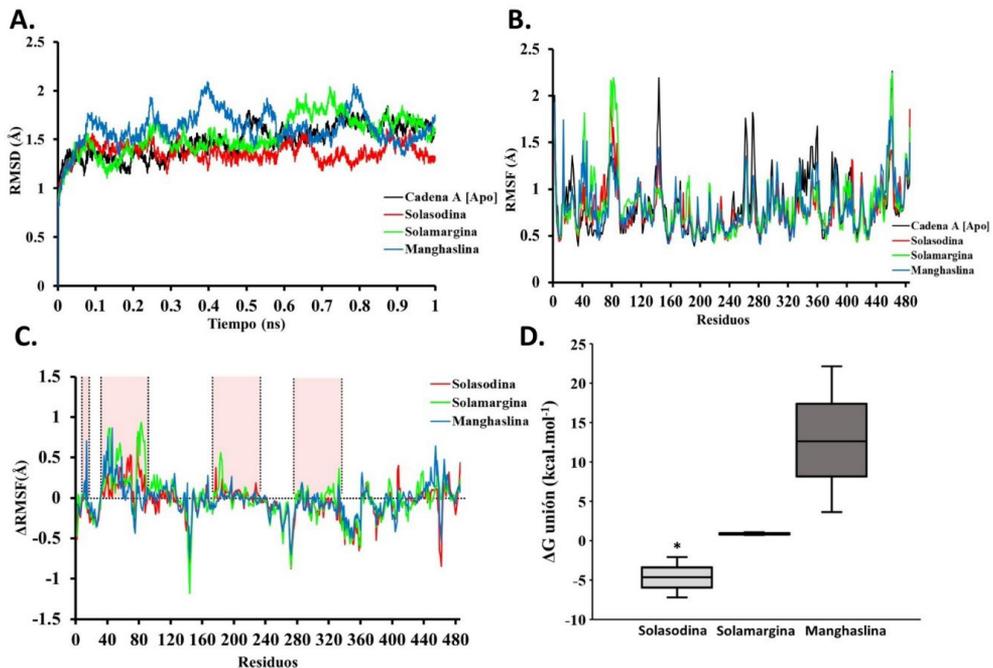
Debido al alto costo computacional que conlleva realizar las simulaciones de dinámica molecular, fueron seleccionadas aquellos ligandos que demostraron tener energías de interacción más favorables, estas fueron las moléculas de solasodina, solamargina y manghaslina.

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas con la solasodina evidenciaron un promedio de RMSD de  $1,367 \pm 0,095$  Å, la misma fue ligeramente menor en comparación a la observada en la forma "apo" de la cadena A de la TR, donde se registró un valor promedio de  $1,485 \pm 0,164$  Å, observándose valores semejantes durante los primeros 0,47 ns, sin embargo, los restantes 0,53 ns, se identifica un ligero aumento en los valores RMSD de la cadena A (Figura 4A). En primera instancia, es importante resaltar que los valores de RMSD nos dan informaciones sobre la estabilidad de los complejos durante el tiempo en el que se realiza la simulación, además de establecer el período de equilibrio y la calidad de las simulaciones biomoleculares realizadas (Sargsyan *et al.*, 2017;

Liang *et al.*, 2020).

Se registraron mayores fluctuaciones (RMSF) principalmente entre los residuos Thr39-Ser87, también en la Ser14, en la Thr177 y en el Glu185, en comparación a las fluctuaciones presentada por la cadena A en su forma apo, lo cual nos indica mayor flexibilidad en los residuos mencionados, cabe resaltar la notable disminución en las fluctuaciones de los residuos presentes en la cadena A de la TR, lo cual nos sugiere una estabilidad

al evidenciarse menor fluctuación (movilidad) (Liang *et al.*, 2020; Martínez, 2015) (Figura 4B). Los valores de RMSF nos dan las informaciones específicas acerca de las desviaciones de los átomos con respecto a la posición promedio del complejo a lo largo del tiempo que dura la simulación realizada, esto con el fin de evaluar las interacciones e inferir en la estabilidad de las mismas (Alvarez Rojas, 2018; Liang *et al.*, 2020).



**Figura 4:** A. Valores de desviaciones cuadráticas media de las posiciones atómicas (RMSD) de los complejos y la cadena A [Apo]. B. Valores de las fluctuaciones cuadráticas media (RMSF) de los complejos y la cadena A [Apo]. C. Valores de las variaciones de las fluctuaciones cuadráticas media ( $\Delta$ RMSF). D. Valores de energía libre de unión ( $\Delta G_u$ ) de las moléculas en unión con la TR. \* $p < 0,05$

Sin embargo, la variación de RMSF ( $\Delta$ RMSF) del complejo en relación a las fluctuaciones registradas en la forma apo de la cadena A nos da una mayor información acerca del movimiento que presentan los residuos en el tiempo simula-

do, la misma evidenció cuatro regiones en las que se observa una mayor fluctuación de los residuos la primera involucra a los residuos Leu10-Ser14, seguida de una región con altos valores de fluctuación entre los residuos Asp35-Trp92, la

## Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa*

siguiente región es de menor fluctuación y se encuentra comprendida entre los residuos Thr165, Thr177-Asp231, por último los residuos alojados entre la Leu283-Gln295 corresponden a los residuos activos que se encuentran en el sitio activo de unión con la solasodina (Figura 4C).

La dinámica molecular llevada a cabo con la solamargina evidenció un promedio de RMSD de  $1,536 \pm 0,192$  Å, el cual fue ligeramente mayor a lo observado en la forma apo de la cadena A, sin embargo, en la mayor parte del tiempo simulado no se detectaron grandes cambios en los valores de las desviaciones medias calculadas, solo entre los 0,6-0,78 ns se pudo registrar un aumento (Figura 4A). Se observaron mayores fluctuaciones (RMSF) entre los residuos Ala32-Asp71, Gly77-Cys89, Lys93-Gly127, Thr177-Val194, Ala204-Asp218, Met282-Gln292 y Gln210-Leu334, corresponden a residuos que se encuentran presentes en el sitio activo de la proteína (Figura 4B,C).

A su vez la dinámica molecular realizada con la manghaslina registró un promedio RMSD de  $1,613 \pm 0,177$  Å, el cual fue mayor en comparación a lo determinado con la forma apo de la cadena A, comportamiento observado en casi la totalidad del tiempo simulado (Figura 4A). Se observaron mayores movilizaciones en los residuos Leu10-Ser14, Ala32-Leu72, Phe79-Ala128, Glu141-Leu167, Leu184-Tyr210, Gly286, Ala293, Val332 y Val362, los cuales se encontraban también formando parte del sitio bolsillo de unión de esta molécula (Figura 4.B,C).

Los cálculos de la energía libre de

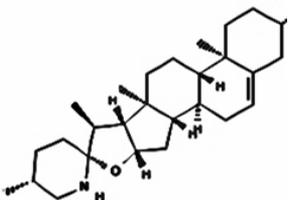
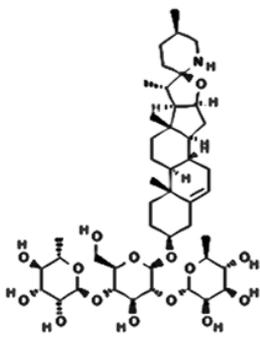
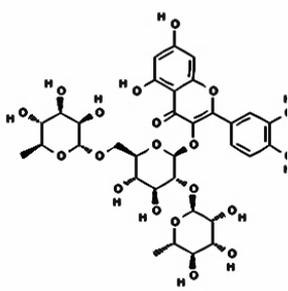
Gibbs de unión ( $\Delta G_u$ ) de las moléculas seleccionadas reveló que la interacción con la solasodina fue la que presentó valores significativamente favorables ( $\Delta G_u = -4,68 \pm 2,57$  kcal.mol<sup>-1</sup>;  $p < 0,05$ ). Sin embargo, los valores de energía  $\Delta G_u$  obtenidas en las simulaciones con la solamargina ( $\Delta G_u = 0,87 \pm 0,19$  kcal.mol<sup>-1</sup>) y la manghaslina ( $\Delta G_u = 12,79 \pm 9,25$  kcal.mol<sup>-1</sup>) demostraron que a pesar de presentar afinidades de interacción con la proteína TR estas fueron desfavorables e inestables en contraste a lo observado con la solasodina, lo cual se ajusta también a lo registrado en los valores de RMSD y RMSF de los complejos (Figura 4D).

El análisis de las propiedades de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de las moléculas seleccionadas, según la regla de los cinco de Lipinski (1995), ha demostrado que la molécula solasodina fue la que presentó mayores aptitudes para potencial desarrollo farmacológico (Tabla 2).

La regla de los cinco de Lipinski requiere que la molécula evaluada posea peso molecular menor a los 500 Da, un coeficiente de partición agua-octanol (LogP) no mayor a un valor de cinco, este coeficiente nos da una idea acerca de la lipofiliidad de la molécula, también es un requisito de la regla que no presente un número mayor de cinco grupos funcionales donadores de puentes de hidrógeno y no mayor de diez grupos funcionales aceptores de puentes de hidrógeno (Butina *et al.*, 2002; Chandel *et al.*, 2020; Daina *et al.*, 2014; Selick *et al.*, 2002).

La solasodina no evidenció infracciones a esta regla, sin embargo, las

**Tabla 2:** Propiedades ADME de los fitoconstituyentes seleccionados para este estudio.

Fitoconstituyente	Propiedades ADME			
	Propiedades‡	Valor	Farmacocinética	
 <p>Solasodina</p>	Fórmula Molecular	C <sub>27</sub> H <sub>43</sub> NO <sub>2</sub>	Absorción GI*	A
	Peso Molecular (<500 Da)	412,64	Inhibidor CYP1A2	No
	LogP‡ (<5)	4,25	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H† (5)	3	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptores de P-H (<10)	2	Inhibidor CYP2D6	No
Número de Infracciones	0	Inhibidor CYP3A4	No	
 <p>Solamargina</p>	Fórmula Molecular	C <sub>45</sub> H <sub>73</sub> NO <sub>15</sub>	Absorción GI	B
	Peso Molecular (<500 Da)	868,06	Inhibidor CYP1A2	No
	LogP (<5)	5,31	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H† (5)	9	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptores de P-H (<10)	16	Inhibidor CYP2D6	No
Número de Infracciones	4	Inhibidor CYP3A4	No	
 <p>Manghaslina</p>	Fórmula Molecular	C <sub>33</sub> H <sub>40</sub> O <sub>20</sub>	Absorción GI	B
	Peso Molecular (<500 Da)	756,66	Inhibidor CYP1A2	No
	LogP (<5)	2,79	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H† (5)	12	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptores de P-H (<10)	20	Inhibidor CYP2D6	No
Número de Infracciones	3	Inhibidor CYP3A4	No	

‡Regla de los 5 de Lipinski, †Coeficiente de partición octanol-agua, †Puentes de Hidrógeno, \*Gastrointestinal, A: Alto, B: Bajo.

moléculas solamargina y manghaslina presentaron un total de cuatro y tres infracciones respectivamente, lo cual hace que estas moléculas, además de presen-

tar interacciones inestables y desfavorables con la proteína TR, no presenten aptitudes para su potencial uso farmacológico por una baja absorción (Tabla 2).

## Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa*

Además, el análisis de las propiedades farmacocinéticas de la solasodina, demostró otra ventaja por sobre la solamargina y la manghaslina que es la alta absorción gastrointestinal. También es importante destacar que ninguna de las moléculas seleccionadas presentaron afinidades de interacción por las proteínas Citocromo P450 (CYP), por las que pueden no ser consideradas como potenciales inhibidores de las CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 y CYP3A4, proteínas claves en el metabolismo de drogas o xenobióticos (Chandel *et al.*, 2020; Guengerich, 2008; Guengerich *et al.*, 2005) (Tabla 2).

Numerosos estudios han demostrado que varias especies del género *Solanum* y moléculas bioactivas extraídas de las mismas presentan actividades leishmanicidas. Anwar (2018) reportó que el extracto metanólico de *S. incanum* L. posee actividades leishmanicidas contra *L. infantum* con  $IC_{50}$  de 27,3  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ .

También Okba *et al.* (2018) han demostrado que el extracto metanólico de la especie *S. villosum* presenta actividades leishmanicidas importantes contra *L. infantum* ( $IC_{50} = 2,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) con una selectividad relevante.

Clementino *et al.* (2018) demostraron la actividad leishmanicida del extracto etanólico de *S. lycocarpum* y de sus alcaloides (solasodina, solasonina, solamargina), siendo la solasodina la de mayor efectividad contra *L. infantum*, pero con un menor índice de selectividad.

De igual manera, Martins *et al.*, (2014) empleando diferentes fracciones obtenidas de *S. lycocarpum* evidenciaron que presentan importantes activi-

dades antiparasíticas y que la molécula solamargina junto con la solasonina presentan efectos sinérgicos contra la *L. infantum*. También Mans *et al.* (2016) destaca que el extracto obtenido de *S. lycocarpum* presenta efectos leishmanicidas contra promastigotes de *L. guyanensis*, *L. mayor* y *L. donovani* con una  $IC_{50}$  promedio de 51, 61 y  $<16 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  respectivamente.

A su vez, Mothana *et al.* (2014) han demostrado también que el extracto metanólico de *S. glabratum* demuestra actividades leishmanicidas contra *L. infantum* ( $IC_{50} = 8,1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Recientemente, Alvarenga *et al.* (2020) empleando el extracto metanólico de *S. americanum* y sus fracciones obtenidas en cloroformo y acetato de etilo, evidenciaron que también presentan actividades leishmanicidas contra *L. infantum*.

Así también, Argüelles *et al.* (2016) llevando a cabo pruebas de acoplamiento molecular entre alcaloides vegetales y la estructura de la enzima TR de *T. cruzi*, evidenciaron que varios compuestos alcaloides presentan afinidades de interacción por la TR, entre los cuales se encuentra la (22R,25R)-solasodina quien presentó energía de interacción favorable con valores de entre -9,78 a 10,54  $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ . Venkatesan *et al.* (2011) en un estudio *in silico* demostraron que alcaloides como solasodina y presentaron afinidades de interacción por la proteína TR de *L. infantum* con un valor de energía de interacción de -11,51  $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

En otro estudio Lezama-Dávila *et al.* (2016) demostraron que el alcaloide solamargina también presenta actividad antileishmanicidal *in vitro* contra *L. mexicana*, demostró mayor efecto sobre

amastigotes son una  $IC_{50}$  de 6,03-13,4  $\mu$ M en comparación a lo registrado con promastigotes ( $IC_{50} = 35,1 \mu$ M). También Chataing *et al.*, (1998) destaca la acción tripanocida del alcaloide  $\alpha$ -solamargina con una inhibición del crecimiento del parásito de entre 17,7-87,2%.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este estudio *in silico* revelaron que varios fitoconstituyentes demuestran poseer afinidades de interacción con la proteína tripanotona reductasa de la *L. infantum*. Entre los fitoconstituyentes analizados, los que presentaron mayores afinidades de interacción en las pruebas de acoplamiento molecular fueron la solasodina, la solamargina y la manghaslina ( $\Delta G_u = -9,70 \pm 0,62$ ,  $-11,50 \pm 1,01$  y  $-10,11 \pm 0,46$  kcal.mol<sup>-1</sup> respectivamente).

Sin embargo, las simulaciones de dinámica molecular demostraron que solo la interacción entre la tripanotona reductasa y la solasodina fue significativamente favorable ( $\Delta G_u = -4,68 \pm 2,57$  kcal.mol<sup>-1</sup>,  $p < 0,05$ ), en comparación a lo observado con las demás moléculas ( $\Delta G_u = 0,87 \pm 0,19$  y  $12,79 \pm 9,25$  kcal.mol<sup>-1</sup> respectivamente). El análisis ADME realizado evidenció solo a la solasodina con aptitudes farmacológicas en comparación a la solamargina y la manghaslina quienes violan la regla de Lipinski. Se recomienda realizar ensayos *in vitro* de inhibición enzimática con la TR y el alcaloide a modo de confirmar su potencial actividad inhibitoria.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu Miranda, M., Tioosi, R. F. J., da Silva, M. R., Rodrigues, K. C., Kuehn, C. C., Rodrigues Oliveira, L. G., Albuquerque, S., McChesney, J. D., Lezama-Davila, C. M., Isaac-Marquez, A. P., & Kenupp Bastos, J. (2013). *In vitro* Leishmanicidal and Cytotoxic Activities of the Glycoalkaloids from *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) Fruits. *Chemistry & Biodiversity*, 10(4), 642-648. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200063>.
- Alvarenga, E., Yaluff, G., Alvarenga, N., Portillo, N. y amp; Laterza, E. (2020). Evaluación *in vitro* de la actividad antiprotozoaria sobre *Leishmania infantum* del extracto metanólico y las fracciones de *Solanum americanum*. Libro de Resúmenes del V Encuentro de Investigadores. 202 pp.
- Alvarez Rojas, O. (2018). La contaminación industrial de aguas, una mirada microbiológica y molecular. Universidad Santiago de Cali.
- Antwi, C. A., Amisigo, C. M., Adjimani, J. P., & Gwira, T. M. (2019). *In vitro* activity and mode of action of phenolic compounds on *Leishmania donovani*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(2), e0007206. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007206>.
- Anwar, S. (2018). Pharmacological Investigation of *Solanum incanum* Against *P. falciparum*, *L. infantum*, *T. cruzi* and *T. brucei*: A Role of Antioxidant Effect and Clinical overview. *Biomedical and Phar-*

**Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa***

- macology Journal, 11(2), 653-660.
- Åqvist, J., Medina, C., & Samuelsson, J.-E. (1994). A new method for predicting binding affinity in computer-aided drug design. *Protein Engineering, Design and Selection*, 7(3), 385-391. <https://doi.org/10.1093/protein/7.3.385>
- Argüelles, A. J., Cordell, G. A., & Maruenda, H. (2016). Molecular Docking and Binding Mode Analysis of Plant Alkaloids as in vitro and in silico Inhibitors of Trypanothione Reductase from *Trypanosoma cruzi*. *Natural Product Communications*, 11(1), 934578X1601100118. <https://doi.org/10.1177/1934578X1601100118>
- Baiocco, P., Colotti, G., Franceschini, S., & Ilari, A. (2009). Molecular Basis of Antimony Treatment in Leishmaniasis. *Journal of Medicinal Chemistry*, 52(8), 2603-2612. <https://doi.org/10.1021/jm900185q>
- Baiocco, P., Ilari, A., Ceci, P., Orsini, S., Gramiccia, M., Di Muccio, T., & Colotti, G. (2011). Inhibitory Effect of Silver Nanoparticles on Trypanothione Reductase Activity and *Leishmania infantum* Proliferation. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2(3), 230-233. <https://doi.org/10.1021/ml1002629>
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research*, 28(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Brooks, B. R., Brooks, C. L., Mackerell, A. D., Nilsson, L., Petrella, R. J., Roux, B., Won, Y., Archontis, G., Bartels, C., Boresch, S., Caflisch, A., Caves, L., Cui, Q., Dinner, A. R., Feig, M., Fischer, S., Gao, J., Hodoscek, M., Im, W., Lazaridis, T., Ma, J., Ovchinnikov, V., Paci, E., Pastor, R. W., Post, C. B., Pu, J. Z., Schaefer, M., Tidor, B., Venable, R. W., Woodcock, H. L., Wu, X., Yang, W., York, D. M., & Karplus, M. (2009). CHARMM: The biomolecular simulation program. *Journal of Computational Chemistry*, 30(10), 1545-1614. <https://doi.org/10.1002/jcc.21287>
- Butina, D., Segall, M. D., & Frankcombe, K. (2002). Predicting ADME properties in silico: Methods and models. *Drug Discovery Today*, 7(11), S83-S88. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(02\)02288-2](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(02)02288-2)
- Cham, B. E., & Daunter, B. (1990). Solasodine glycosides. Selective cytotoxicity for cancer cells and inhibition of cytotoxicity by rhamnose in mice with sarcoma 180. *Cancer Letters*, 55(3), 221-225. [https://doi.org/10.1016/0304-3835\(90\)90122-E](https://doi.org/10.1016/0304-3835(90)90122-E)
- Chandel, V., Raj, S., Rathi, B., & Kumar, D. (2020). In silico identification of potent FDA approved drugs against Coronavirus COVID-19 main protease: A drug repurposing approach. *Chemical Biology Letters*, 7(3), 166-175.
- Chataing, B., Concepción, J. L., Lobatón, R., & Usabillaga, A. (1998). Inhibition of *Trypanosoma cruzi*

- Growth in vitro by Solanum Alkaloids: A Comparison with Ketoconazole. *Planta Medica*, 64(1), 31-36. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957361>
- Clementino, L. da C., Velásquez, A. M. A., Passalacqua, T. G., Almeida, L. de, Graminha, M. A. S., Martins, G. Z., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Sousa, M. do C., & Moreira, R. R. D. (2018). In vitro activities of glycoalkaloids from the *Solanum lycocarpum* against *Leishmania infantum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28, 673-677. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.07.008>
- Colotti, G., Baiocco, P., Fiorillo, A., Boffi, A., Poser, E., Chiaro, F. D., & Ilari, A. (2013). Structural insights into the enzymes of the trypanothione pathway: Targets for antileishmaniasis drugs. *Future Medicinal Chemistry*, 5(15), 1861-1875. <https://doi.org/10.4155/fmc.13.146>
- Dassault Systèmes BIOVIA. (2019). *Discovery Studio Visualizer*, version 20.1, San Diego: Dassault Systèmes.
- da Silva, E. R., Brogi, S., Grillo, A., Campiani, G., Gemma, S., Vieira, P. C., & Maquiaveli, C. do C. (2019). Cinnamic acids derived compounds with antileishmanial activity target *Leishmania amazonensis* arginase. *Chemical Biology & Drug Design*, 93(2), 139-146. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13391>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2014). iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n-Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/SA Approach. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(12), 3284-3301. <https://doi.org/10.1021/ci500467k>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(1), 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Daina, A., & Zoete, V. (2016). A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. *ChemMedChem*, 11(11), 1117-1121. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>
- Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx. In J. E. Hempel, C. H. Williams, & C. C. Hong (Eds.), *Chemical Biology: Methods and Protocols* (pp. 243-250). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7\\_19](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19)
- Dhorajiwala, T. M., Halder, S. T., & Samant, L. (2019). Comparative In Silico Molecular Docking Analysis of L-Threonine-3-Dehydrogenase, a Protein Target Against African Trypanosomiasis Using Selected Phytochemicals. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(3), 101-108. <https://doi.org/10.29252/JABR.06.03.04>
- Dunn, O. J. (1964). Multiple Compari-

**Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa***

- sons Using Rank Sums. *Technometrics*, 6(3), 241-252. <https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>
- Frearson, J. A., Wyatt, P. G., Gilbert, I. H., & Fairlamb, A. H. (2007). Target assessment for antiparasitic drug discovery. *Trends in Parasitology*, 23(12), 589-595. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2007.08.019>
- Garcia, A. R., Oliveira, D. M. P., Claudia F. Amaral, A., Jesus, J. B., Rennó Soderó, A. C., Souza, A. M. T., Supuran, C. T., Vermelho, A. B., Rodrigues, I. A., & Pinheiro, A. S. (2019). *Leishmania infantum* arginase: Biochemical characterization and inhibition by naturally occurring phenolic substances. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 1100-1109. <https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1616182>
- Gómez-Jeria, J. S., Robles-Navarro, A., Kpotin, G. A., & Gatica-Díaz, N. (2020). Some remarks about the relationships between the common skeleton concept within the Klopman-Peradejordi-Gómez QSAR method and the weak molecule-site interactions. *Chemistry Research Journal*, 5(2), 32-52.
- Guengerich, F. P. (2008). Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. *Chemical Research in Toxicology*, 21(1), 70-83. <https://doi.org/10.1021/tx700079z>
- Guengerich, F. P., Wu, Z.-L., & Bartleson, C. J. (2005). Function of human cytochrome P450s: Characterization of the orphans. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338(1), 465-469. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.08.079>
- Hammer, O., Harper, D. A. T., & Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1), 9.
- Hansson, T., Marelius, J., & Åqvist, J. (1998). Ligand binding affinity prediction by linear interaction energy methods. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 12(1), 27-35. <https://doi.org/10.1023/A:1007930623000>
- Hubert, D. J., Céline, N., Michel, N., Gogulamudi, V. R., Florence, N. T., Johnson, B. N., Bonaventure, N. T., Singh, I. P., & Sehgal, R. (2013). In vitro leishmanicidal activity of some Cameroonian medicinal plants. *Experimental Parasitology*, 134(3), 304-308. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.03.023>
- Humphrey, W., Dalke, A., & Schulten, K. (1996). VMD: Visual molecular dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 14(1), 33-38. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
- Jo, S., Kim, T., Iyer, V. G., & Im, W. (2008). CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. *Journal of Computational Chemistry*, 29(11), 1859-1865. <https://doi.org/10.1002/jcc.20945>
- Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., & Klein, M. L. (1983). Compa-

- ri-son of simple potential func-tions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 79(2), 926-935. <https://doi.org/10.1063/1.445869>
- Kaunda, J. S., & Zhang, Y. J. (2019). The Genus *Solanum*: An Ethnophar-macological, Phytochemical and Biological Properties Review. *Natural Products and Biopros-pecting*, 9(2), 77-137. <https://doi.org/10.1007/s13659-019-0201-6>
- Kim, S., Lee, J., Jo, S., Brooks, C. L., Lee, H. S., & Im, W. (2017). CHARMM-GUI ligand reader and modeler for CHARMM force field generation of small mole-cules. *Journal of Computational Chemistry*, 38(21), 1879-1886. <https://doi.org/10.1002/jcc.24829>
- Kim, S., Thiessen, P. A., Bolton, E. E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B. A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., & Bryant, S. H. (2016). PubChem Substance and Compound data-bases. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D1202-D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>
- Kruskal, W. H., & Wallis, W. A. (1952). Use of Ranks in One-Criterion Variance Analysis. *Journal of the American Statistical Association*, 47(260), 583-621. <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>
- Kumar, R., Khan, M. I., Prasad, M., & Badruddeen. (2019). Solasodi-ne: A Perspective on their roles in Health and Disease. *Research Journal of Pharmacy and Tech-nology*, 12(5), 2571-2576. [tps://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00432.3](https://doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00432.3)
- Lee, J., Cheng, X., Swails, J. M., Yeom, M. S., Eastman, P. K., Lemkul, J. A., Wei, S., Buckner, J., Jeong, J. C., Qi, Y., Jo, S., Pande, V. S., Case, D. A., Brooks, C. L., Mac-Kerell, A. D., Klauda, J. B., & Im, W. (2016). CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GRO-MACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM Simula-tions Using the CHARMM36 Additive Force Field. *Journal of Chemical Theory and Computa-tion*, 12(1), 405-413. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935>
- Lezama-Dávila, C. M., McChesney, J. D., Bastos, J. K., Miranda, M. A., Tiozzi, R. F., da Costa, J. de C., Bentley, M. V., Gaitan-Puch, S. E., & Isaac-Márquez, A. P. (2016). A New Antileishmanial Preparation of Combined Sola-margine and Solasonine Heals Cutaneous Leishmaniasis throu-gh Different Immunochemical Pathways. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(5), 2732-2738. <https://doi.org/10.1128/AAC.02804-15>
- Liang, J., Pitsillou, E., Karagiannis, C., Darmawan, K. K., Ng, K., Hung, A., & Karagiannis, T. C. (2020). Interaction of the prototypical  $\alpha$ -ketoamide inhibitor with the SARS-CoV-2 main protease ac-tive site in silico: Molecular dy-namic simulations highlight the stability of the ligand-protein complex. *Computational Biology and Chemistry*, 87, 107292. <https://doi.org/10.1016/j.cbc.2020.107292>

**Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Tripanotia reductasa***

- [tps://doi.org/10.1016/j.compbiol-chem.2020.107292](https://doi.org/10.1016/j.compbiol-chem.2020.107292)
- Lipinski, C. A. (1995). Computational alerts for potential absorption problems: profiles of clinically tested drugs. En: Tools for Oral Absorption. Part Two. Predicting Human Absorption. BIOTEC, PDD symposium, AAPS, Miami.
- Liu, H., & Hou, T. (2016). CaFE: A tool for binding affinity prediction using end-point free energy methods. *Bioinformatics*, 32(14), 2216-2218. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw215>
- Mann, J. D. (1979). Production of Solasodine for the Pharmaceutical Industry. En N. C. Brady (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 30, pp. 207-245). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2113\(08\)60707-5](https://doi.org/10.1016/S0065-2113(08)60707-5)
- Mans, D. R. A., Beerens, T., Magali, I., Soekhoe, R. C., Schoone, G. J., Oedairadsingh, K., Hasrat, J. A., van den Bogaart, E., & Schallig, H. D. F. H. (2016). In vitro evaluation of traditionally used Surinamese medicinal plants for their potential anti-leishmanial efficacy. *Journal of Ethnopharmacology*, 180, 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.012>
- Martínez, L. (2015). Automatic Identification of Mobile and Rigid Substructures in Molecular Dynamics Simulations and Fractional Structural Fluctuation Analysis. *PLOS ONE*, 10(3), e0119264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119264>
- Martins, G. Z., Souza, M. do C. R., Cicarelli, R. M. B., Planeta, C. S., & Moreira, R. R. D. (2014). Evaluation of the antiparasitic activities of extracts and glycoalkaloids isolated of the fruit of the *Solanum lycocarpum*. *Planta Medica*, 80(16), P1L84. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1394741>
- Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social (MSPBS). (2018). *Informes Anuales: Reporte de Casos de Leishmaniasis Visceral en humanos y caninos notificados al Programa Nacional de Control de Zoonosis y Centro Antirrábico Nacional Paraguay, Período 2016 al 2018*.
- Montrieux, E., Perera, W. H., García, M., Maes, L., Cos, P., & Monzote, L. (2014). In vitro and in vivo activity of major constituents from *Pluchea carolinensis* against *Leishmania amazonensis*. *Parasitology Research*, 113(8), 2925-2932. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3954-1>
- Mothana, R. A., Al-Musayeib, N. M., Al-Ajmi, M. F., Cos, P., & Maes, L. (2014). Evaluation of the In Vitro Antiplasmodial, Antileishmanial, and Antitrypanosomal Activity of Medicinal Plants Used in Saudi and Yemeni Traditional Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, e905639. <https://doi.org/10.1155/2014/905639>
- Musfiroh, I., Azura, A. R., & Rahayu, D. (2020). Prediction of Asiatic Acid Derivatives Affinity Against SARS-CoV-2 Main

- Protease Using Molecular Docking. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 7(4). <https://doi.org/10.7454/psr.v7i4.1086>
- Ndjakou Lenta, B., Vonthron-Sénécheau, C., Fongang Soh, R., Tantangmo, F., Ngouela, S., Kaiser, M., Tsamo, E., Anton, R., & Weniger, B. (2007). In vitro antiprotozoal activities and cytotoxicity of some selected Cameroonian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.10.036>
- Organización Panamericana de la Salud. (2013). *Leishmaniasis visceral en las Américas Recomendaciones para el Tratamiento*. Washington. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=22226&Itemid](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=22226&Itemid)
- Okba, M. M., Sabry, O. M., Matheussen, A., & Abdel-Sattar, E. (2018). In vitro antiprotozoal activity of some medicinal plants against sleeping sickness, Chagas disease and leishmaniasis. *Future Medicinal Chemistry*, 10(22), 2607-2617. <https://doi.org/10.4155/fmc-2018-0180>
- Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R. D., Kalé, L., & Schulten, K. (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16), 1781-1802. <https://doi.org/10.1002/jcc.20289>
- Rungsung, W., Ratha, K., Dutta, S., Dixit, A. K., & Hazra, J. (2015). Secondary metabolites of plants in drugs discovery. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4, 604-613.
- Salem, M. M., & Werbovets, K. A. (2006). Natural Products from Plants as Drug Candidates and Lead Compounds Against Leishmaniasis and Trypanosomiasis. *Current Medicinal Chemistry*, 13(21), 2571-2598. <https://doi.org/10.2174/092986706778201611>
- Sargsyan, K., Grauffel, C., & Lim, C. (2017). How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 13(4), 1518-1524. <https://doi.org/10.1021/acs.jctc.7b00028>
- Selick, H. E., Beresford, A. P., & Tarbit, M. H. (2002). The emerging importance of predictive ADME simulation in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 7(2), 109-116. [https://doi.org/10.1016/S1359-6446\(01\)02100-6](https://doi.org/10.1016/S1359-6446(01)02100-6)
- Tiuman, T. S., Santos, A. O., Ueda-Nakamura, T., Filho, B. P. D., & Nakamura, C. V. (2011). Recent advances in leishmaniasis treatment. *International Journal of Infectious Diseases*, 15(8), e525-e532. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021>
- Tiwari, N., Tanwar, N., & Munde, M. (2018). Molecular insights into trypanothione reductase-inhibitor interaction: A structure-based review. *Archiv Der Pharmazie*, 351(6), 1700373. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021>

**Gayozo, E. & Rojas, L. Interacciones entre compuestos de *Solanum* y *Trypanotonia reductasa***

- org/10.1002/ardp.201700373.
- Tovar, C., y Yasnot, M. (2017). Leishmaniasis visceral en América Latina y perspectivas terapéuticas. *Revista MVZ Córdoba*, 22(supl), 6075-6088.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Turcano, L., Torrente, E., Missineo, A., Andreini, M., Gramiccia, M., Muccio, T. D., Genovese, I., Fiorillo, A., Harper, S., Bresciani, A., Colotti, G., & Ilari, A. (2018). Identification and bindingmode of a novel *Leishmania* Trypanothione reductase inhibitor from high throughput screening. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(11), e0006969. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006969>
- Vanommeslaeghe, K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., Darian, E., Guvench, O., Lopes, P., Vorobyov, I., & Mackerell, A. D. (2010). CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *Journal of Computational Chemistry*, 31(4), 671-690. <https://doi.org/10.1002/jcc.21367>
- Venkatesan, S. K., Saudagar, P., Shukla, A. K., & Dubey, V. K. (2011). Screening natural products database for identification of potential antileishmanial chemotherapeutic agents. *Interdisciplinary Sciences: Computational Life Sciences*, 3(3), 217. <https://doi.org/10.1007/s12539-011-0101-x>
- Volkamer, A., Kuhn, D., Grombacher, T., Rippmann, F., & Rarey, M. (2012). Combining Global and Local Measures for Structure-Based Druggability Predictions. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(2), 360-372. <https://doi.org/10.1021/ci200454v>