Medicina Clínica y Social

Med. clín. soc. 2026;10(1):e610 · e-ISSN 2521-2281 · https://doi.org/10.52379/mcs.v10.610

ORIGINAL

Check for updates

Análisis bioinformático de compuestos naturales de tres especies de *Solanum* como potenciales inhibidores de la tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum*

Bioinformatic analysis of natural compounds from three species of Solanum as potential inhibitors of trypanothione reductase of Leishmania infantum

Cecilia Barrios-Villalba [1] Elvio Gayozo-Melgarejo [1]

[1] Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, San Lorenzo, Paraguay

MEDICINA CLINICA Y SOCIAL

ISSN 2521-2281 · en línea

HISTORIAL

Recibido 26/03/2025
Aceptado 20/11/2026
Publicado 27/11/2026

CORRESPONDENCIA

Elvio Gayozo-Melgarejo
Universidad Nacional de Asunción, San Lorenzo, Paraguay
elviologo@gmail.com

EDITOR RESPONSABLE

Iván Barrios, PhD
Universidad Nacional de Asunción, Santa Rosa del Aguaray, Paraguay

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no poseer conflictos de interés.

FINANCIAMIENTO

Los autores no recibieron apoyo financiero para la investigación, autoría y/o publicación de este artículo.

LICENCIA

CC BY 4.0

Publicado bajo licencia Creative Commons Attribution 4.0 International.

RESUMEN

Introducción: La leishmaniasis visceral es una de las enfermedades tropicales desatendidas que afectan particularmente a la población de escasos recursos. Los tratamientos actuales presentan desventajas como alta toxicidad y resistencia por parte del parásito. A raíz de esto surgen medidas alternativas como la búsqueda de compuestos naturales con potenciales actividades antiparasitarias. En este aspecto especies del género *Solanum* han demostrado propiedades leishmanicidas importantes. **Objetivo:** El presente estudio tiene por finalidad evaluar computacionalmente interacciones de fitoconstituyentes de las especies *Solanum lycocarpum*, *S. nigrum* y *S. seaforthianum* con la tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum* como potenciales inhibidores. **Métodos:** Para ello se realizó la evaluación exhaustiva de un panel de 29 compuestos en interacción con la enzima tripanotiona reductasa mediante pruebas de acoplamiento molecular empleando el algoritmo de Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno y simulaciones de dinámica molecular. **Resultados:** Los datos obtenidos demostraron que el lobofrutósido, liconósido II y khasianina presentaron valores significativamente favorables (p<0,001) de energía libre de interacción con respecto a los demás fitoconstituyentes con valores de -9,84±2,96, -10,46±0,89 y -9,91±0,74 kcal.mol^{-1}, respectivamente. Sin embargo, las simulaciones de dinámica molecular evidenciaron que khasianina demostró resultados favorables de unión y estabilidad de interacción con la enzima con un valor de ΔG de -6,17±2,70 kcal.mol^{-1}. Los residuos activos identificados fueron Tyr221, Arg228, Tyr198, Leu334, Asp327 y Met333. **Conclusión:** Estos hallazgos sugieren que la khasianina puede ser considerada como un potencial candidato inhibidor de la tripanotiona reductasa para estudios *in vitro* e *in vivo*.

PALABRAS CLAVE Biología computacional · fitoquímicos · leishmaniasis · oxidorreductasa

ABSTRACT

Introduction: Visceral leishmaniasis is one of neglected tropical diseases that particularly affect to poor population. Current treatments have disadvantages such as high toxicity and parasite resistance. As a result, alternative measures such as the search for natural compounds with potential antiparasitic activities have emerged. In this aspect, species of the genus *Solanum* have demonstrated important leishmanicidal properties. **Objective:** The present study aims to evaluate computationally interactions of phytoconstituents from the species *Solanum lycocarpum*, *S. nigrum* and *S. seaforthianum* with trypanothione reductase of *Leishmania infantum* as potential inhibitors. **Methods:** For this purpose, a comprehensive evaluation of a panel of 29 compounds interacting with the enzyme trypanothione reductase was performed by molecular docking tests using the Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno algorithm and molecular dynamics simulations. **Results:** Data obtained showed that lobofrutoside, lyconoside II and khasianin presented significantly favorable values (p<0.001) of free binding energy with respect to the other phytoconstituents with values of -9.84±2.96, -10.46±0.89 and -9.91±0.74 kcal.mol^{-1}, respectively. However, molecular dynamics simulations evidenced that khasianin demonstrated favorable binding and stability of interaction to the enzyme, with ΔG value of -6.17±2.70 kcal.mol^{-1}. The active residues identified were Tyr221, Arg228, Tyr198, Leu334, Asp327 and Met333. **Conclusion:** These findings suggest that khasianin could be considered as a potential inhibitor candidate of trypanothione reductase for *in vitro* and *in vivo* studies.

KEYWORDS Computational biology · phytochemicals · leishmaniasis · oxidoreductase

Cómo citar: Barrios-Villalba C, Gayozo-Melgarejo E. Análisis bioinformático de compuestos naturales de tres especies de *Solanum* como potenciales inhibidores de la tripanotiona reductasa de *Leishmania infantum*. Med Clin Soc. 2026;10(1):e610. https://doi.org/10.52379/mcs.v10.610

Introducción

La leishmaniasis visceral es una enfermedad parasitaria clasificada dentro del conjunto de enfermedades denominado leishmaniasis (1). Los agentes causales de esta enfermedad son *Leishmania donovani* y *L. infantum*, que difieren en cuanto a su distribución geográfica (2).

El tratamiento médico actual consiste en la utilización de dos tipos de fármacos, los antimoniales pentavalentes y los no antimoniales (3,4). Sin embargo, ambos generan efectos secundarios graves e incidentes de resistencia adquirida por parte del parásito, por esta razón se ha implementado la búsqueda de tratamientos alternativos que puedan mejorar estos aspectos; pudiendo implementarse el análisis de nuevas vías metabólicas del parásito, la mejora de fármacos existentes o la exploración de productos naturales (5,6).

El principal blanco farmacológico empleado para estas búsquedas es la enzima del parásito tripanotiona reductasa, una oxidorreductasa con dos dominios muy importantes, el sitio catalítico y el sitio de unión presente en todas las especies del género *Leishmania* y que emplea a la molécula de tripanotiona para proteger al parásito del ataque del hospedero mediante actividades antioxidantes (7). La presencia exclusiva de esta proteína en el parásito, hace del mismo una diana más que deseable para estudios *in silico* e *in vitro* en la bioprospección de potenciales inhibidores a partir de compuestos naturales y sintéticos (7).

En los últimos años, se han realizado diversas investigaciones con la finalidad de buscar compuestos naturales con actividades leishmanicidas, uno de los géneros más estudiados debido a la gran variedad de propiedades farmacológicas es el género *Solanum* (8).

La revisión de antecedentes respecto al potencial leishmanicida de especies de este género apunta al grupo de compuestos alcaloides, ya que estas exhiben resultados favorables en varios reportes (9,10). Sin embargo, los recursos existentes limitan la rápida prospección de la fitoquímica de las especies y sus potenciales leishmanicidas, en este aspecto el diseño de nuevos fármacos mediante estrategias computacionales se ha impuesto como una novedosa metodología en el área de la biomedicina y salud para la optimización en los procesos de prospección de nuevos compuestos con aplicaciones farmacológicas antiparasitarias, ya sean de origen natural o sintéticos (11).

Debido a esto, el presente trabajo tiene por objetivo principal evaluar computacionalmente interacciones de fitoconstituyentes de las especies *Solanum lycocarpum*, *S. nigrum* y *S. seaforthianum* con la enzima tripanotiona reductasa de *L. infantum* con la finalidad de identificar y caracterizar compuestos que demuestren afinidades de unión que sean favorables y estables con la tripanotiona reductasa utilizando para ello pruebas bioinformáticas de acoplamiento y simulaciones de dinámica molecular.

Métodos

Caracterización de la drogabilidad del sitio de unión NADPH/FAD

La caracterización del sitio de unión NADPH/FAD de la tripanotiona reductasa de *L. infantum* se realizó en la estructura cristalizada de la enzima (PDB:2X50) disponible en la base de datos Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/), empleando un método basado en cuadrículas de filtros de diferencias de Gaussianas, para ello se utilizó la herramienta DoGSiteScorer (12). Se determinaron descriptores del sitio drogable como superficie, volumen, profundidad, grupos funcionales, composición de residuos, y el puntaje de drogabilidad.

Simulaciones de acoplamiento molecular

Se utilizaron las estructuras químicas de los compuestos naturales de *S. nigrum, S. lycocarpum y S. seaforthianum* descritos por Kaunda y Zhang (2019) (13) y por Ferrer-Hernández y colaboradores (2016) (14), las cuales fueron obtenidas de la base de datos PubChem (15) (Tabla 1). La estructura de la tripanotiona reductasa (PDB: 2X50) fue obtenida de la base de datos Protein Data Bank (16), posteriormente se procedió a eliminar las estructuras de FAD (estado oxidado), NADPH (estado reducido), las moléculas de agua, y los iones de plata y sulfatos presentes en la estructura cristalizada.

La minimización energética de las estructuras moleculares de los compuestos naturales se realizó con el algoritmo MMFF94 (Merck Molecular Force Field 94), utilizando el algoritmo de gradientes conjugados con 50 000 pasos y una convergencia de 0,001 $kcal.mol^{-1}.Å^{-1}$. Se procedió a ajustar los estados de protonación considerando condiciones fisiológicas (pH 7,4), para ello se utilizó el programa Avogadro v. 1 (17).

Las simulaciones computacionales se llevaron a cabo teniendo en cuenta principalmente el sitio de interacción NADPH/FAD, para ello se llevó a cabo un primer cribado virtual empleando el algoritmo Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno con el programa AutoDock Vina v. 1.2.7 (18), para ello se utilizó una grilla de acoplamiento con dimensiones de

31x26x41 Å^3 con coordenadas X, Y, Z de -6, 19 y -2 (19). Como ligando de referencia para comparación del ensayo se utilizó a la estructura del NADPH (estado reducido), el cual se encuentra co-cristalizado en la estructura de la enzima empleada (PDB: 2X50).

Los complejos resultantes seleccionados entre los fitoconstituyentes de *S. lycocarpum* fueron aquellos que demostraron menores valores de energía libre de unión ($\Delta G \leq$ -11 kcal.mol^{-1}), igualmente con los constituyentes de *S. nigrum* se seleccionaron aquellos con menores valores de energía libre de unión ($\Delta G \leq$ -10,2 kcal.mol^{-1}) y en cuanto a *S. seaforthianum* se seleccionó al único compuesto descrito para la especie (ΔG = -9,6 kcal.mol^{-1}). Este criterio de selección se empleó a modo de poder llevar a cabo las simulaciones de mayor costo computacional con fitomoléculas de mejor perfil computacional (mayor afinidad de unión) en comparación a los demás fitoconstituyentes evaluados. Posteriormente, estos compuestos fueron sometidos nuevamente a pruebas exhaustivas (*e*=20) e iterativas (*iteraciones*=50) de acoplamiento molecular a modo de mejorar la exploración conformacional y reproducibilidad de las simulaciones (19).

La visualización y el análisis de los complejos resultantes se realizó utilizando el programa UCSF ChimeraX v. 1.12 (20) y PoseView (21).

Simulaciones de dinámica molecular

Las simulaciones de dinámica molecular se llevaron a cabo con los complejos con valores de energía libre de interacción significativamente (p<0,05) favorables, es importante destacar que estas simulaciones se llevaron a cabo a modo exploratorio. Estas simulaciones se llevaron a cabo por triplicados empleando los programas NAnoscales Molecular Dynamics 2.14 (22) y los datos topológicos se realizaron empleando la herramienta CHARMM-GUI (23-26).

Los complejos proteína-ligando fueron solvatados con moléculas de H_2O TIP3P en caja periódica con dimensiones de 84,189 x 82,395 x 78,431 Å^3, utilizando condiciones periódicas de contorno, para neutralizar las cargas parciales del sistema se agregaron iones sodio (Na^+) y cloruro (Cl^-) (27). Primeramente, se realizó una minimización energética con el método del gradiente de descenso más pronunciado de 50 000 pasos (28). Posteriormente, fueron restringidos con un ensamble isotérmico-isobárico (NPT) por 100 ps. Las simulaciones de dinámica molecular se llevaron a cabo en sistemas isotérmicos e isobáricos a temperatura y presión constantes de 310 K y 1,02 bar, por un tiempo de 250 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 (29). Además, las interacciones electrostáticas se trataron mediante PME (ε = 1), empleando una distancia de conmutación de 9 Å, un punto de corte de 10 Å y una distancia de lista de pares de 11 Å (19).

Se determinaron los valores de RMSD (raíz de la desviación cuadrática media), RMSF (raíz de la fluctuación cuadrática media) y ΔRMSF (variación de la raíz de la fluctuación cuadrática media) de los sistemas en el tiempo simulado como medidas de estabilidad, para lo cual se empleó el programa Visual Molecular Dynamics 1.9.3 (30).

Los valores de energía libre de unión (ΔG) de los ligandos en los complejos formados fueron estimados utilizando el método LIE (Energía de Interacción Lineal) con los coeficientes α=0,18, β=0,5, γ=0 con el programa CAFE 1.0 (31-34).

Las predicciones de las propiedades farmacocinéticas y de biodisponibilidad de las moléculas seleccionadas para la dinámica molecular se realizaron ajustadas al procedimiento descrito por Cáceres y colaboradores (2025), teniendo en cuenta la regla de los cinco de Lipinski, las capacidades de absorción gastrointestinal y de inhibición de las isoformas de la citocromo P450, para ello se utilizó la herramienta SwissADME (35,36).

Análisis estadístico de datos

En el análisis estadístico de los valores de energía libre de unión (ΔG) obtenidas en las simulaciones de acoplamiento molecular y en las simulaciones de dinámica molecular se realizó utilizando el test de ANOVA con previa comprobación de supuestos, así como la prueba *post-hoc* de Tukey, en ambos casos con 5 % de nivel de significancia, para ello se empleó el programa PAST v. 5 (37).

Los gráficos estadísticos fueron realizados empleando los programas PAST v. 5 (37) y Excel (Microsoft Windows, USA).

Resultados

Caracterización de la drogabilidad del sitio de unión NADPH/FAD

El análisis estructural de la tripanotiona reductasa permitió identificar un sitio drogable en el dominio de unión NADPH/FAD, la cual presentó un volumen de 2577,62 Å^3, una superficie de 2981,11 Å^2, y una profundidad de 33 Å. El puntaje de drogabilidad fue de 0,81. De acuerdo con Volkamer y colaboradores (38), el puntaje va en un rango de 0 a 1, siendo 1 el puntaje máximo que indica una mayor capacidad de ser empleada como blanco para la búsqueda de inhibidores (Figura 1).

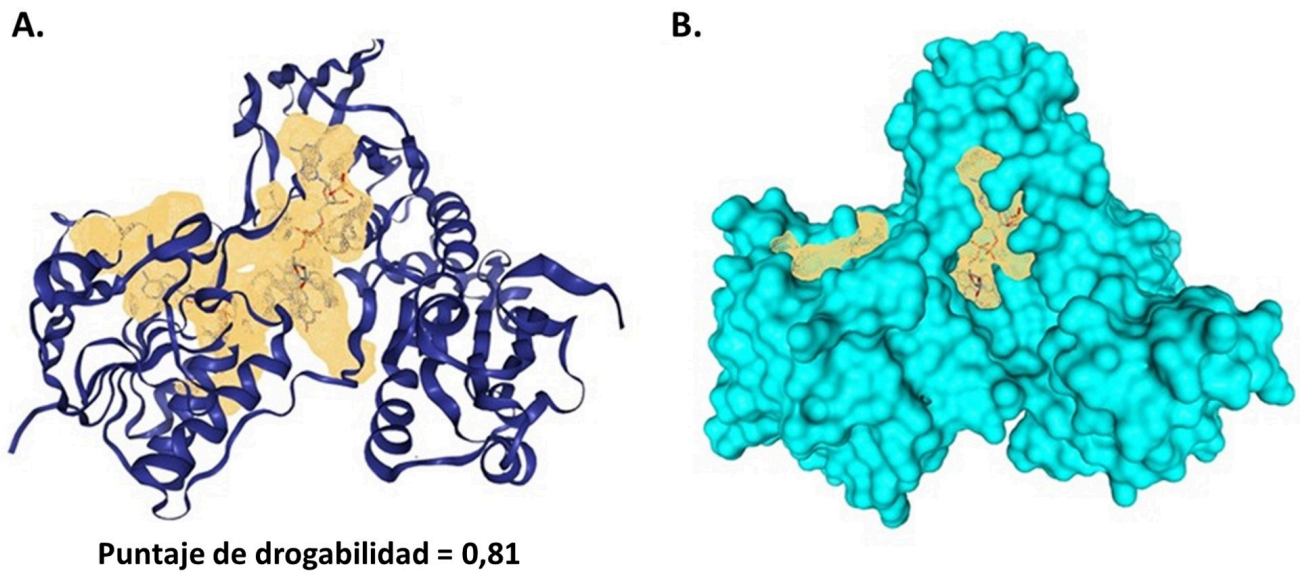


FIGURA 1
A. Sitio drogable (región amarilla) del dominio de unión a NADPH/FAD de la enzima Tripanotiona Reductasa. B. Modelo tridimensional del sitio drogable (región amarilla).

Este sitio está conformado por un total de 509 átomos de los cuales 342 son átomos de carbono (C), 83 átomos de nitrógeno (N), 80 átomos de oxígeno (O) y 4 átomos de sulfuro (S). En cuanto a los grupos funcionales, se registraron 78 involucrados en la formación de puentes de hidrógeno como donadores, 159 grupos con capacidades de actuar como receptores de puentes de hidrógeno y un total de 151 grupos que participan en interacciones hidrofóbicas.

Con respecto a la composición de residuos dicho sitio está conformado por aminoácidos apolares representando en un 47 % (Ala, Ile, Leu, Phe, Pro, Val, Met y Trp), residuos polares en un 38 % (Asn, Gln, Gly, Thr, Tyr, Ser, Cys), 7 % corresponde a aminoácidos básicos (Arg, Lys y His) mientras que el 7 % restante se encuentran representado por residuos ácidos (Asp y Glu).

Simulaciones de acoplamiento molecular

En cuanto a los resultados obtenidos en el cribado virtual se registraron valores de energía libre de unión de entre -11,2 kcal.mol^{-1} a -5,8 kcal.mol^{-1}, donde las moléculas lobofrutósido, liconósido II y liconósido IV de la especie *S. lycocarpum* fueron las que exhibieron los valores energéticos favorables de entre -11,2 kcal.mol^{-1} a -11,0 kcal.mol^{-1}. El solanigrósido P, la rutina y la khasianina, compuestos presentes en la especie *S. nigrum* registraron energías libres de interacción favorables de entre -10,2, a -11,1 kcal.mol^{-1}. En el caso de la solanocapsina de *S. seaforthianum*, este exhibió un valor de energía libre de unión favorable de -9,6 kcal.mol^{-1} (Tabla 1).

TABLA 1. RESULTADOS OBTENIDOS EN LAS SIMULACIONES DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR.

Especie	Compuesto	Órgano Vegetal	Código PubChem	ΔG (kcal.mol^{-1})
-	NADPH*	-	-	-8,7
S. lycocarpum	Robeneoide B	F	16109798	-8,5
	Soladonina	F	119247	-9,5
	12-Hidroxisolasonina	F	21573761	-9,3
	Solasodina	F	442985	-10,4
	Lobofrutósido	F	101868570	-11,2
	Ácido clorogénico	F	1794427	-9,3
	Ácido cafeico	F	689043	-7,0
	Robeneoide A	F	16109797	-9,7
	Liconósido Ib	F	101447945	-9,8
	Liconósido II	F	101868567	-11,0

Especie	Compuesto	Órgano Vegetal	Código PubChem	ΔG (kcal.mol^{-1})
	Liconósido III	F	101868568	-10,3
	Liconósido IV	F	101868569	-11,1
S. nigrum	Khasianina	PE	21573759	-11,1
	Solanigrósido P	PE	102492765	-10,2
	Inunigrósido A	F	102164240	-8,7
	Hipoglaucina H	PE	21582652	-9,3
	Quercetina	H	5280343	-9,0
	Rutina	H	5280805	-10,4
	Kaempferol	H	5280863	-9,0
	Siringaresinol	PE	100067	-7,7
	Pinoresinol	PE	73399	-9,5
	Pinoresinol-4-*O-β-D* glucósido	PE	486614	-9,2
	Medioresinol	PE	181681	-7,6
	Ácido protocatecuico	PE	72	-6,2
	Ácido vainillico	PE	8468	-6,4
	Ácido p-hidroxibenzoico	PE	135	-6,0
	3,5-Dietoxifenol	H	12652201	-5,8
	Escopoletina	PE	5280460	-7,1
S. seaforthianum	Solanocapsina	R, F, H	73419	-9,6

*: Control, PE: Planta Entera, R: raíces, F: Frutos, H: Hojas.

A partir de estos resultados fueron seleccionados los compuestos que presentaron menores valores de energía, los cuales fueron el lobofrutósido, el liconósido II y el liconósido IV en *S. lycocarpum*, la rutina, el solanigrósido P y la khasianina en *S. nigrum* y la solanocapsina en *S. seaforthianum* (Tabla 1).

Estas fueron sometidas a simulaciones exhaustivas e iterativas de acoplamiento molecular, donde el lobofrutósido, el liconósido II y la khasianina fueron los que presentaron valores significativamente favorables ($p<0,001$) de energía de interacción de -9,84±2,96 kcal.mol^{-1}, -10,46±0,89 kcal.mol^{-1} y -9,91±0,74 kcal.mol^{-1}, respectivamente, en comparación a las demás moléculas seleccionadas (Figura 2).

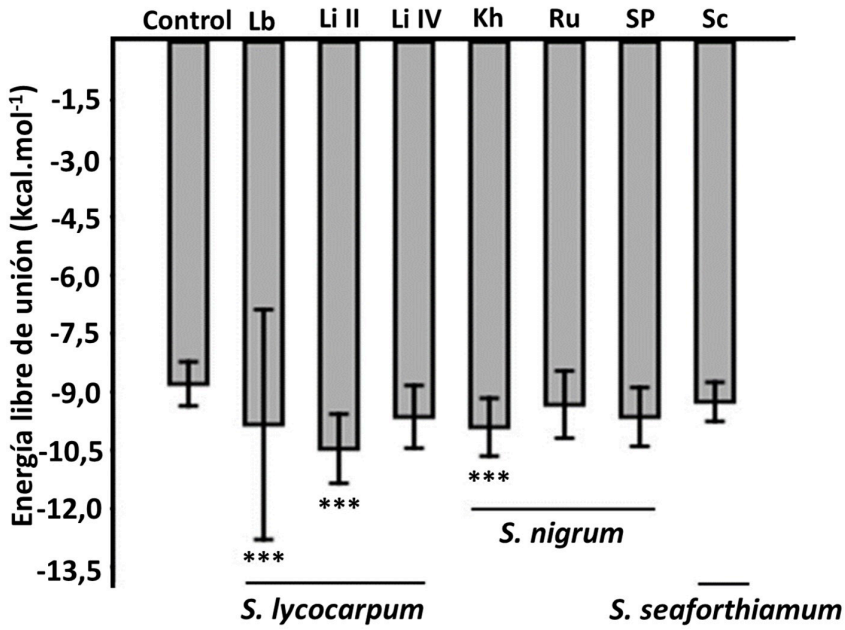


FIGURA 2

Energía libre de unión (ΔG) entre fitoconstituyentes seleccionados y la tripanotiona reductasa. Control: NADPH. Lb: Lobofrutósido, Li II: Liconósido II, Li IV: Liconósido IV, Kh: Khasianina, Ru: Rutina, SP: Solanigrósido P, Sc: Solanocapsina. Los asteriscos indican diferencias significativas (p<0,001) respecto a las demás moléculas seleccionadas.

Las moléculas lobofrutósido, liconósido II y liconósido IV presentaron mayores afinidades de interacción al dominio de unión de la NADPH con valores de energía libre de interacción de -9,84±2,96 kcal.mol^{-1}, -10,46±0,89 kcal.mol^{-1} y -9,64±0,81 kcal.mol^{-1}, respectivamente. Los residuos activos identificados en el complejo lobofrutósido-tripanotiona reductasa que se encuentran formando puentes de hidrógenos fueron Tyr221, Arg228, Asn330, Arg287 y Thr165, así también se registraron interacciones de van der Waals con los residuos Tyr198, Leu334, Phe367, Cys57 y Met333 (Figura 3.A).

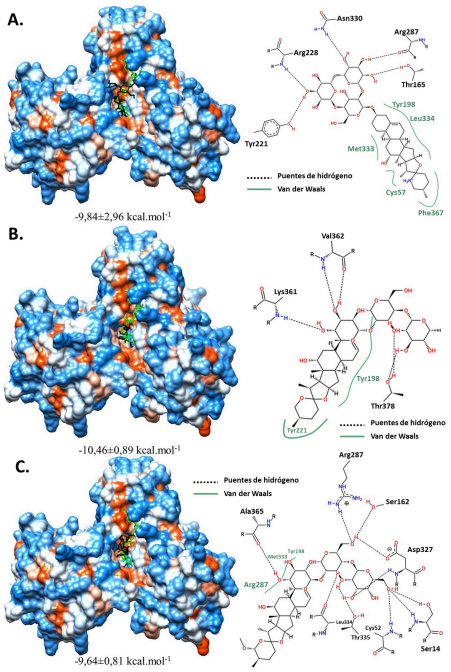


FIGURA 3

Complejo receptor-ligando. Modelos tridimensionales e interacciones moleculares con las moléculas seleccionadas, regiones hidrofílicas (azul), regiones hidrofóbicas (rojo). A. Lobofrutósido. B. Liconósido II. C. Liconósido IV. NADPH (verde), ligandos (modelo negro).

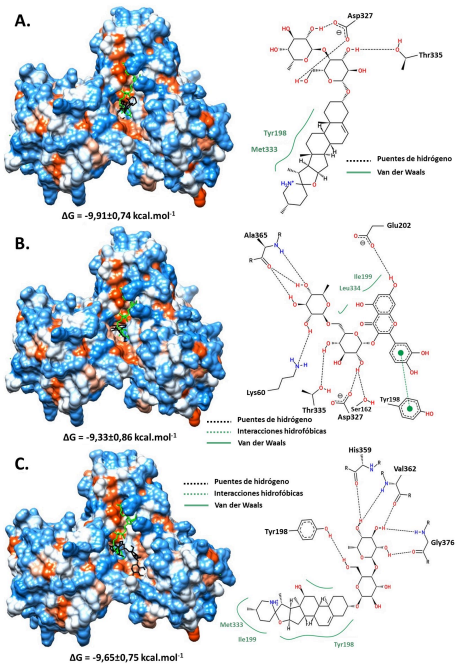


FIGURA 4

Complejo receptor-ligando. Modelos tridimensionales e interacciones moleculares con las moléculas seleccionadas, regiones hidrofílicas (azul), regiones hidrofóbicas (rojo). A. Khasianina. B. Rutina. C. Solanigrósido P. NADPH (verde), ligandos (modelo negro).

El complejo liconósido II-tripanotiona reductasa evidenció que los residuos Lys361, Val362 y Thr378 interactuaban con el compuesto mediante puentes de hidrógeno, también se registró la formación de uniones de van der Waals con los residuos Tyr221 y Tyr198 (Figura 3.B).

Los residuos activos presentes en el complejo formado entre el liconósido IV y la enzima, se identificaron que los residuos de Ala365, Arg287, Ser162, Asp327, Ser14, Cys52, Thr335 y Leu334 participan activamente en la formación de puentes de hidrógeno, también se registraron interacciones de van der Waals con los residuos Met333, Tyr198 y Arg287 (Figura 3.C).

Los residuos activos registrados que interactuaban con la khasianina mediante puentes de hidrógeno fueron el Asp327 y la Thr335, también se detectó la formación de interacciones de van der Waals con la Tyr198 y la Met333 (Figura 4.A).

Las moléculas rutina y solanigrósido P, presentaron también afinidades de interacción por el sitio de unión a la molécula NADPH, los valores de energía libre de interacción registrados para la rutina fueron de -9,33±0,86 kcal.mol^{-1}, mientras que el valor de ΔG para el solanigrósido P fue de -9,65±0,75 kcal.mol^{-1}.

Los residuos involucrados en la formación del complejo rutina-tripanotiona reductasa fueron la Ala365, Lys60, Thr335, Asp327, Ser162, Tyr198 y Glu202, los cuales interaccionaban con el compuesto mediante puentes de hidrógeno. Además, se identificaron interacciones de van der Waals con los residuos Leu334 e Ile199 (Figura 4.B).

En el complejo solanigrósido P-tripanotiona reductasa se registraron puentes de hidrógeno con los residuos Tyr198, His359, Val362 y Gly376, y uniones de van der Waals con los residuos Tyr198, Ile199 y Met333 (Figura 4.C).

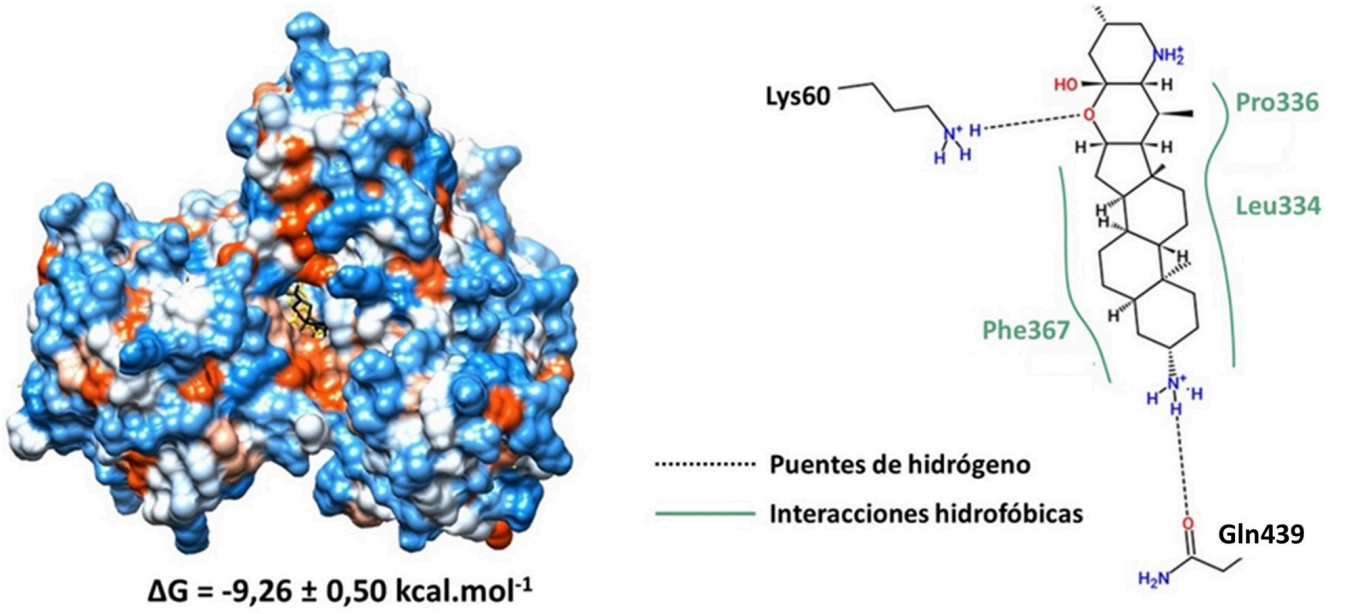


FIGURA 5

Complejo receptor-ligando. Modelos tridimensionales e interacciones moleculares con la solanocapsina, regiones hidrofílicas (azul), regiones hidrofóbicas (rojo), FAD (modelo amarillo), ligando (modelo negro).

A diferencia de las moléculas mencionadas anteriormente, la solanocapsina demostró mayores afinidades de interacción por el sitio de unión a la molécula FAD, con un valor de energía libre de interacción igual a -9,26±0,50 kcal.mol^{-1}. En el complejo se registraron a los residuos Lys60 y Gln439 en interacción mediante puentes de hidrógeno con la solanocapsina, también se detectó la formación de interacciones de van der Waals con los residuos Pro336, Leu334 y Phe367 (Figura *5*).

Simulaciones de dinámica molecular

Los complejos que fueron seleccionados para llevar a cabo las simulaciones de dinámica molecular fueron los conformados por los compuestos lobofrutósido, liconósido II y la khasianina, los cuales demostraron los menores valores de ΔG, así también se consideró a la molécula solanocapsina al ser el único fitoconstituyente evaluado de la especie *S. seaforthianum*.

La evaluación de la estabilidad estructural de los complejos se llevó a cabo mediante el cálculo de la raíz de la desviación cuadrática media (RMSD), el complejo formado por la khasianina demostró un valor promedio de 1,25±0,11 Å, en cuanto a la solanocapsina se registró un promedio de RMSD equivalente a 1,33±0,19 Å, con la molécula de liconósido II se evidenció un valor promedio de 1,13±0,15 Å, con el lobofrutósido, los resultados de RMSD indicaron un promedio de 1,13±0,097 Å, todos los complejos se mantuvieron en rangos similares de RMSD en comparación al protómero A, la enzima en su forma Apo (1,16±0,10 Å) (Figura 6.A).

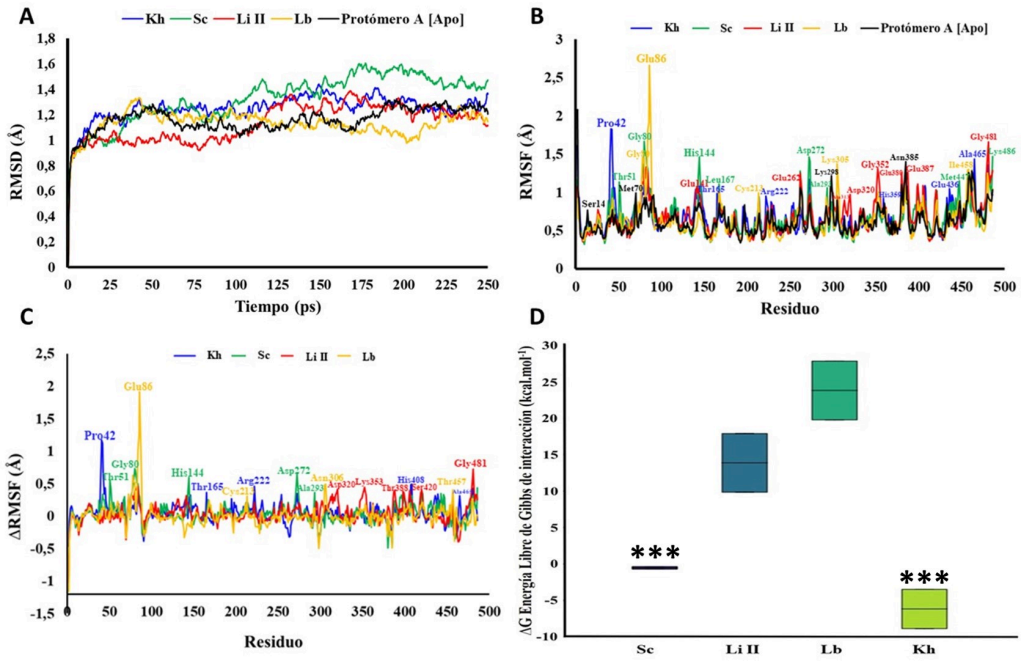


FIGURA 6

Estimadores estructurales de la dinámica molecular. A. RMSD. B. RMSF. C. ΔRMSF. D. Energía libre de Gibbs de interacción. Kh: Khasianina. Sc: Solanocapsina. Li II: Liconósido II. Lb: Lobofrutósido. Los asteriscos indican diferencias significativas (p<0,001).

También se evaluaron las fluctuaciones de los residuos en los complejos mediante la estimación de la raíz de la fluctuación cuadrática media (RMSF) y de la variación de la raíz de la fluctuación cuadrática media (ΔRMSF), los resultados respecto a los residuos del complejo junto con el ligando khasianina exhibieron diferencias en comparación a lo registrado en el protómero A, siendo los residuos con mayores fluctuaciones la Pro42, Ala465, Thr165, Arg222, His359, His408 y Glu436.

En el complejo solanocapsina-tripanotiona reductasa evidenciaron mayores fluctuaciones los residuos Gly80, His144, Asp272, Thr51 y Lys486. Los valores de RMSF reportados para el complejo liconósido II-tripanotiona reductasa demostraron que los residuos con mayores fluctuaciones fueron el Glu141, Asp320, Lys353, Gly352, Ser420, Gly481 y Thr388. Así también, el complejo lobofrutósido-tripanotiona reductasa exhibió que los residuos Glu86, Lys305, Cys213 y Thr457 presentaron mayores fluctuaciones en comparación a las fluctuaciones detectadas en el protómero A (Figura 6.B, Figura 6.C).

TABLA 2. PREDICCIONES DE LAS PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS Y DE BIODISPONIBILIDAD DE LOS COMPUESTOS SELECCIONADOS.

Compuestos	Regla Lipinski		Farmacocinética	
Lobofrutósido	Fórmula molecular	$C_{45}H_{73}NO_{16}$	Absorción GI	B
	PM g.mol^{-1} (<500)	884,06	Inhibidor CYP1A2	No
	Log P (<5)*	4,93	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H (<5)	17	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptadores de P-H (<10)	10	Inhibidor CYP2D6	No
	Infracciones	2	Inhibidor CYP3A4	No
Liconósido II	Fórmula molecular	$C_{45}H_{72}O_{17}$	Absorción GI	B
	PM g.mol^{-1} (<500)	885,04	Inhibidor CYP1A2	No
	Log P (<5)*	4,03	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H (<5)	17	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptadores de P-H (<10)	9	Inhibidor CYP2D6	No
	Infracciones	2	Inhibidor CYP3A4	No
Khasianina	Fórmula molecular	$C_{39}H_{63}NO_{11}$	Absorción GI	B
	PM g.mol^{-1} (<500)	721,92	Inhibidor CYP1A2	No

Compuestos	Regla Lipinski		Farmacocinética	
	Log P (<5)*	4,63	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H (<5)	12	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptadores de P-H (<10)	7	Inhibidor CYP2D6	No
	Infracciones	2	Inhibidor CYP3A4	No
Solanocapsina	Fórmula molecular	$C_{27}H_{46}N_2O_2$	Absorción GI	A
	PM g.mol^{-1} (<500)	430,67	Inhibidor CYP1A2	No
	Log P (<5)*	4,13	Inhibidor CYP2C19	No
	Donadores de P-H (<5)	4	Inhibidor CYP2C9	No
	Aceptadores de P-H (<10)	3	Inhibidor CYP2D6	No
	Infracciones	0	Inhibidor CYP3A4	No

*Coeficiente de partición octanol-agua, P-H: Puentes de hidrógeno, GI: Absorción Gastrointestinal, A: alto, B: bajo.

La energía libre de Gibbs de interacción (ΔG) estimado para cada una de las simulaciones de dinámica molecular que fueron llevados a cabo de los complejos exhibió para la khasianina-tripanotiona reductasa un valor promedio de -6,17±2,70 kcal.mol^{-1}, para el complejo solanocapsina-tripanotiona reductasa un valor de -0,53±0,17 kcal.mol^{-1}, para el complejo liconósido II-tripanotiona reductasa un promedio de 13,88±4,02 kcal.mol^{-1} y para el complejo lobofrutósido-tripanotiona reductasa un valor promedio de 23,81±4,04 kcal.mol^{-1} (Figura 6.D).

En la Tabla 2 se encuentran registradas las predicciones farmacocinéticas y las predicciones de biodisponibilidad oral (Regla de los cinco de Lipinski) de los compuestos. Los datos obtenidos evidencian que la solanocapsina fue la molécula que presentó resultados favorables sin infracciones a la regla de Lipinski, mientras que los compuestos lobofrutósido, liconósido II y khasianina demostraron dos infracciones a la regla generalmente en el número de grupos donadores de hidrógenos siendo mayor al permitido y en el peso molecular siendo mayor a 500 g.mol^{-1}.

Los datos obtenidos de las propiedades farmacocinéticas evidenciaron que en cuanto a la absorción gastrointestinal fue solo la molécula de solanocapsina la que presentó un alto nivel de absorción, sin embargo, los demás compuestos demostraron bajo nivel de absorción. Así también, no se registraron actividades inhibitorias de las isoformas del citocromo P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4).

Discusión

Entre las moléculas seleccionadas, los compuestos lobofrutósido, khasianina y solanigrósido P, corresponden a glicoalcaloides esteroidales de tipo espirosolano, los cuales se caracterizan por presentar un núcleo estructural relacionado con la solasodina. Estos compuestos forman parte de un amplio grupo de fitoconstituyentes presentes en especies del género *Solanum* (13,39). En particular, el lobofrutósido ha sido identificado en frutos de *S. lycocarpum*, mientras que la khasianina y el solanigrósido P se han reportado en diferentes órganos de *S. nigrum* (13). Por otra parte, la solanocapsina corresponde a un alcaloide esteroidal estructuralmente diferenciado, distribuido en diversas estructuras vegetales de *S. seaforthianum* (14).

Los alcaloides han demostrado diversas actividades biológicas, incluyendo efectos frente a parásitos del género *Leishmania*, tripanosomátidos y otros organismos que son considerados de importancia biomédica (13). A su vez, las moléculas de liconósido II y liconósido IV son saponinas esteroidales, que se encuentran presentes en los frutos de la especie *S. lycocarpum* (13).

La molécula de rutina pertenece al grupo de los flavonoles, y es considerado como una fuente potencial para productos farmacéuticos (13,40). Chauhan y colaboradores (2018) (41) concluyeron que este compuesto posee actividades leishmanicidas contra cepas sensibles y resistentes de *L. donovani*, dado que tiene la capacidad de controlar la carga de parásitos en el huésped. Este trabajo menciona que la administración oral de la rutina dentro del margen de la dosis de 25 mg.kg^{-1} implicaría una dificultad en el desarrollo de los parásitos y eliminaría la infección sin el registro de efectos tóxicos (41).

Así también, Mehwish y colaboradores en el año 2019 evaluaron *in vitro* e *in silico* las actividades leishmanicidas de cuatro compuestos naturales, incluido la molécula rutina, demostrando resultados favorables con una concentración inhibitoria (IC_{50}) de 91,2 µg.mL^{-1} contra los promastigotes de *L. tropica*, en el estudio *in silico* demostraron una alta afinidad con los residuos catalíticos de la tripanotiona reductasa con energía de unión de -6,19 kcal.mol^{-1} (42).

En el sitio de unión a la NADPH/FAD los residuos Arg222, Arg228 y Tyr221 interactúan con el grupo 2'-fosfato del NADPH por medio de sus átomos de oxígeno. En este aspecto la Tyr221 juega un rol fundamental en la discriminación entre NADP y NADPH. Los residuos Tyr198 e Ile199, interactúan con la molécula NADPH, el anillo aromático de la Tyr198 e Ile199 interaccionan con el grupo pirofosfato mediante puentes de hidrógeno (43,44).

Con relación a los residuos que interactúan en el sitio de unión a la molécula FAD, se ven implicados Gly127 y Arg290 que se unen por medio átomos de hidrógeno a la adenina. El residuo Asp35 interactúa con el anillo de ribosa, mientras que el pirofosfato está unido mediante puentes de hidrógeno con los residuos Thr51 y Ser14, mientras que el anillo de flavina se une a la Lys61, otros residuos también implicados son Ala47, Asp327 y Leu334 (43).

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas han demostrado que las moléculas lobofrutósido y el liconósido II no presentaron valores favorables de energía libre de interacción, a pesar de lo observado en las pruebas de acoplamiento molecular. Sin embargo, es importante señalar que el acoplamiento molecular permite estimar la afinidad de unión de un ligando hacia una proteína receptora y predecir posibles modos de interacción en una estructura proteica determinada, a su vez, las simulaciones de dinámica molecular proporcionan una información más detallada del comportamiento y la estabilidad del complejo ligando-proteína a lo largo del tiempo simulado, al considerar la flexibilidad de ambos componentes y las interacciones con el entorno, generalmente mediante un sistema solvatado e ionizado. Por ello, las diferencias observadas entre los resultados de acoplamiento molecular y dinámica molecular pueden atribuirse, en parte, a que ambas metodologías examinan aspectos complementarios de la interacción ligando-proteína (45).

Las simulaciones evidenciaron que los complejos formados por la solanocapsina (ΔG = -0,53±0,17 kcal.mol^{-1}) y la khasianina (ΔG = -6,17±2,70 kcal.mol^{-1}) fueron los que demostraron resultados de valores de ΔG negativos. La khasianina demostró una interacción favorable a la estructura de la tripanotiona reductasa de *L. infantum*, debido al valor significativamente menor de ΔG que se presenta. Sin embargo, la solanocapsina demostró una interacción débil y poco favorable con la estructura de la tripanotiona reductasa, esto debido al valor de ΔG muy cercano a "0" registrado. En las simulaciones del complejo khasianina-tripanotiona reductasa se registró mayores fluctuaciones en el residuo Arg222, este aminoácido está íntimamente relacionado en la unión con el NADPH interactuando con el grupo 2'-fosfato por medio de sus átomos de oxígeno, lo que favorecería la estabilidad del complejo (43).

A pesar de que no existen muchos registros de las actividades leishmanicidas de la khasianina, se reportaron pocas actividades citotóxicas del compuesto en cultivo de líneas celulares de hepatoma humano, y actividades hepatoprotectoras (46,47). Se conoce que este compuesto deriva químicamente de la solasodina, un metabolito que sí demostró actividades antileishmania contra la *L. infantum,* presentando un valor de IC_{50} de 4,7 µg.mL^{-1} frente a los promastigotes y un valor de IC_{50} de 10,8 µg.mL^{-1} frente a amastigotes (10).

En este aspecto, en un estudio computacional reciente llevado a cabo por Gayozo y Rojas (2020) se ha reportado que el glicoalcaloide solasodina presenta aptitudes como potencial ligando de unión a la tripanotiona reductasa de *L. infantum*, según los autores este compuesto se comporta de manera estable en su unión a dicha oxidorreductasa (19).

Numerosos estudios se han llevado a cabo con especies del género *Solanum* para evaluar sus actividades como leishmanicidas empleando para ello diferentes especies de *Leishmania* spp. En este contexto, en la investigación llevada a cabo por Venkatesan y Dubey (2012) (48) se han reportado potenciales actividades inhibitorias de otro alcaloide (tomatidina/tomatina) presente en las especies del género *Solanum* sobre la enzima tripanotiona reductasa de *L. infantum* (48,49).

Igualmente, Cos y colaboradores (2018) (50) evaluaron los extractos de *S. havanense*, *S. myriacanthum*, *S. nudum* y *S. seaforthianum*, obteniendo actividades leishmanicidas con todos los extractos con una reducción de lesiones de entre 30-75 % y un decremento de la carga parasitaria de entre 49-94 % (50). Así también se ha reportado actividades leishmanicidas importantes del extracto de frutos de *S. lycocarpum*, reportándose una IC_{50} en promastigotes de 16,7±1,3 µg.mL^{-1}, los autores destacan como potenciales responsables a los glicoalcaloides (9,10).

Laban y colaboradores (2015) (51), también reportaron actividades leishmanicidas del extracto metanólico de *S. aculeastrum* en promastigotes de *L. major* con una IC_{50} de 78,62 µg.mL^{-1} (51).

Los resultados obtenidos en el análisis de las propiedades farmacocinéticas indican que solo la solanocapsina presenta alta absorción gastrointestinal y no ha demostrado infracciones a la regla de los cinco de Lipinski, en comparación a los demás compuestos seleccionados, dicha regla solo nos da una idea de las capacidades farmacológicas de los compuestos como droga de administración oral y acerca de su biodisponibilidad al ser empleado de esta forma, sin embargo, podrían proponerse otros métodos de aplicación para la khasianina (52). Tampoco se registraron actividades inhibitorias de algunas de las isoformas del citocromo P450.

Los hallazgos obtenidos en las simulaciones de acoplamiento molecular sugieren que las moléculas lobofrutósido, khasianina, solanocapsina y el liconósido II fueron los que demostraron mayores afinidades de interacción con la tripanotiona reductasa de *L. infantum*. Sin embargo, las simulaciones de dinámica molecular demuestran que solo la khasianina presentó interacciones significativamente favorables y estables con la enzima en el tiempo simulado, demostrando mejores perfil energético y parámetros de estabilidad en la formación del complejo, pudiendo ser considerado como compuesto natural candidato para futuros estudios *in vitro*, así como en modelos de bioensayos *in vivo*.

Nota editorial

Las opiniones expresadas en este artículo, así como el enfoque metodológico y los resultados presentados, son responsabilidad exclusiva de los autores. Este trabajo fue revisado y aprobado por revisores externos en el marco del proceso editorial, pero no refleja necesariamente la postura oficial de la revista, de su comité editorial ni de su editor jefe.

Contribución de los autores

CBV y EGM participaron en la concepción de la idea de investigación, CBV participó en la recolección de datos, análisis de datos e interpretación de datos. EGM participó en el análisis de datos e interpretación de datos. CBV y EGM participaron en la redacción y revisión del manuscrito.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Sistema Nacional de Investigadores (SISNI) del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) del Paraguay y al Grupo de Investigación en Biología Computacional y Bioinformática Estructural (GIBCBE) de la FACEN-UNA por su apoyo a esta investigación.

Disponibilidad de datos

Los datos obtenidos en esta investigación están disponibles previa solicitud al autor de correspondencia, Elvio Gayozo-Melgarejo (correo: elviologo@gmail.com).

Comentarios de revisores

Los comentarios y recomendaciones emitidos durante el proceso de evaluación por pares se encuentran disponibles en el siguiente enlace: Dictamen 610

Referencias

1. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. PLoS One. 2012;7(5):e35671. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671
2. Murray HW, Berman JD, Davies CR, Saravia NG. Advances in leishmaniasis. Lancet. 2005;366(9496):1561-1577. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67629-5
3. Demicheli C, Frézard F, Lecouvey M, Garnier-Suillerot A. Antimony(V) complex formation with adenine nucleosides in aqueous solution. Biochim Biophys Acta. 2002;1570(3):192-198. https://doi.org/10.1016/S0304-4165(02)00198-8
4. Sereno D, Holzmuller P, Lemesre JL. Efficacy of second line drugs on antimonyl-resistant amastigotes of Leishmania infantum. Acta Trop. 2000;74(1):25-31. https://doi.org/10.1016/S0001-706X(99)00048-0
5. Tiuman TS, Santos AO, Ueda-Nakamura T, Dias Filho BP, Nakamura CV. Recent advances in leishmaniasis treatment. Int J Infect Dis. 2011;15(8):e525-e532. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2011.03.021
6. Mukhopadhyay R, Mukherjee S, Mukherjee B, Naskar K, Mondal D, Decuypere S, et al. Characterisation of antimony-resistant Leishmania donovani isolates: biochemical and biophysical studies and interaction with host cells. Int J Parasitol. 2011;41(13-14):1311-1321. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.07.013
7. Beig M, Oellien F, Krauth-Siegel RL, Selzer PM. Screening approaches towards trypanothione reductase. In: Jäger T, Koch O, Flohé L, editors. Trypanosomatid diseases: molecular routes to drug discovery. Weinheim: Wiley-VCH; 2013. p. 383-404. https://doi.org/10.1002/9783527670383.ch21
8. Barros RPC, Cunha EVL da, Catão RMR, Scotti L, Souza MSR, Brás AAQ, et al. Virtual screening of secondary metabolites of the genus Solanum with potential antimicrobial activity. Rev Bras Farmacogn. 2018;28(6):686-691. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.08.003
9. Abreu Miranda M, Tiossi RF, da Silva MR, Rodrigues KC, Kuehn CC, Rodrigues Oliveira LG, et al. In vitro leishmanicidal and cytotoxic activities of the glycoalkaloids from Solanum lycocarpum (Solanaceae) fruits. Chem Biodivers. 2013;10(4):642-648. https://doi.org/10.1002/cbdv.201200063

10. Clementino L da C, Velásquez AMA, Passalacqua TG, de Almeida L, Graminha MAS, Martins GZ, et al. In vitro activities of glycoalkaloids from the Solanum lycocarpum against Leishmania infantum. Rev Bras Farmacogn. 2018;28(6):673-677. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.07.008

11. Müller J, Hemphill A. Drug target identification in protozoan parasites. Expert Opin Drug Discov. 2016;11(8):815-824. https://doi.org/10.1080/17460441.2016.1195945

12. Volkamer A, Kuhn D, Rippmann F, Rarey M. DoGSiteScorer: a web server for automatic binding site prediction, analysis and druggability assessment. Bioinformatics. 2012;28(15):2074-2075. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts310

13. Kaunda JS, Zhang YJ. The genus Solanum: an ethnopharmacological, phytochemical and biological properties review. Nat Prod Bioprospect. 2019;9(2):77-137. https://doi.org/10.1007/s13659-019-0201-6

14. Ferrer-Hernández AE, Pérez-Martínez C, Ortiz-del-Toro P, Fuentes-Fiallo V, Teixeira-de Souza P Jr, Dall-Oglio EL, et al. O-23 metil solanocapsina, un nuevo alcaloide esteroidal del Solanum seaforthianum Andr. Revista Cubana de Química. 2016;28(3):890-901. URL

15. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, et al. PubChem Substance and Compound databases. Nucleic Acids Res. 2016;44(D1):D1202-D1213. https://doi.org/10.1093/nar/gkv951

16. Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, et al. The Protein Data Bank. Nucleic Acids Res. 2000;28(1):235-242. https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235

17. Hanwell MD, Curtis DE, Lonie DC, Vandermeersch T, Zurek E, Hutchison GR. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. J Cheminform. 2012;4(1):17. https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17

18. Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. J Comput Chem. 2010;31(2):455-461. https://doi.org/10.1002/jcc.21334

19. Gayozo E, Rojas L. Análisis estructural de interacciones in silico de fitoconstituyentes de Solanum americanum, Solanum guaraniticum y Solanum lycopersicum con la proteína tripanotiona reductasa de Leishmania infantum. Steviana. 2020;12(2):31-54. https://doi.org/10.56152/StevianaFacenV12N2A2_2020

20. Goddard TD, Huang CC, Meng EC, Pettersen EF, Couch GS, Morris JH, et al. UCSF ChimeraX: meeting modern challenges in visualization and analysis. Protein Sci. 2018;27(1):14-25. https://doi.org/10.1002/pro.3235

21. Stierand K, Rarey M. Drawing the PDB: protein-ligand complexes in two dimensions. ACS Med Chem Lett. 2010;1(9):540-545. https://doi.org/10.1021/ml100164p

22. Phillips JC, Braun R, Wang W, Gumbart J, Tajkhorshid E, Villa E, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD. J Comput Chem. 2005;26(16):1781-1802. https://doi.org/10.1002/jcc.20289

23. Brooks BR, Brooks CL 3rd, Mackerell AD Jr, Nilsson L, Petrella RJ, Roux B, et al. CHARMM: the biomolecular simulation program. J Comput Chem. 2009;30(10):1545-1614. https://doi.org/10.1002/jcc.21287

24. Jo S, Kim T, Iyer VG, Im W. CHARMM-GUI: a web-based graphical user interface for CHARMM. J Comput Chem. 2008;29(11):1859-1865. https://doi.org/10.1002/jcc.20945

25. Kim S, Lee J, Jo S, Brooks CL 3rd, Lee HS, Im W. CHARMM-GUI ligand reader and modeler for CHARMM force field generation of small molecules. J Comput Chem. 2017;38(21):1879-1886. https://doi.org/10.1002/jcc.24829

26. Lee J, Cheng X, Swails JM, Yeom MS, Eastman PK, Lemkul JA, et al. CHARMM-GUI Input Generator for NAMD, GROMACS, AMBER, OpenMM, and CHARMM/OpenMM simulations using the CHARMM36 additive force field. J Chem Theory Comput. 2016;12(1):405-413. https://doi.org/10.1021/acs.jctc.5b00935

27. Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. J Chem Phys. 1983;79(2):926-935. https://doi.org/10.1063/1.445869

28. Gayozo-Melgarejo E, Rojas-Aguadé L. Evaluación computacional de las interacciones de compuestos naturales y el dominio unión al ARN de las nucleolinas utilizando acoplamiento molecular y simulaciones de dinámica molecular. Rev Acad Colomb Cienc Exactas Fis Nat. 2023;47(183):385-399. https://doi.org/10.18257/raccefyn.1830

29. Liang J, Pitsillou E, Karagiannis C, Darmawan KK, Ng K, Hung A, et al. Interaction of the prototypical α-ketoamide inhibitor with the SARS-CoV-2 main protease active site in silico: molecular dynamic simulations highlight the stability of the ligand-protein complex. Comput Biol Chem. 2020;87:107292. https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2020.107292

30. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: visual molecular dynamics. J Mol Graph. 1996;14(1):33-38. https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5

31. Åqvist J, Medina C, Samuelsson JE. A new method for predicting binding affinity in computer-aided drug design. Protein Eng. 1994;7(3):385-391. https://doi.org/10.1093/protein/7.3.385

32. Hansson T, Marelius J, Åqvist J. Ligand binding affinity prediction by linear interaction energy methods. J Comput Aided Mol Des. 1998;12(1):27-35. https://doi.org/10.1023/A:1007930623000

33. de Amorim HL, Caceres RA, Netz PA. Linear interaction energy (LIE) method in lead discovery and optimization. Curr Drug Targets. 2008;9(12):1100-1105. https://doi.org/10.2174/138945008786949360

34. Liu H, Hou T. CaFE: a tool for binding affinity prediction using end-point free energy methods. Bioinformatics. 2016;32(14):2216-2218. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw215

35. Cáceres AL, Gayoso E, Guillen R, Alvarenga NL. In vitro anthelmintic activity and in silico analysis of monoterpenes, sesquiterpenes, and semisynthetic derivatives against Eisenia foetida. J Appl Pharm Sci. 2025;15(1):196-205. https://doi.org/10.7324/japs.2024.192648

36. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci Rep. 2017;7:42717. https://doi.org/10.1038/srep42717

37. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontol Electronica. 2001;4(1):1-9. URL

38. Volkamer A, Kuhn D, Grombacher T, Rippmann F, Rarey M. Combining global and local measures for structure-based druggability predictions. J Chem Inf Model. 2012;52(2):360-372. https://doi.org/10.1021/ci200454v

39. Morillo M, Rojas J, Lequart V, Lamarti A, Martin P. Natural and synthetic derivatives of the steroidal glycoalkaloids of Solanum genus and biological activity. Nat Prod Chem Res. 2020;8(1):1-14. URL

40. Chua LS. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. J Ethnopharmacol. 2013;150(3):805-817. https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.10.036

41. Chauhan K, Kaur G, Kaur S. Activity of rutin, a potent flavonoid against SSG-sensitive and -resistant Leishmania donovani parasites in experimental leishmaniasis. Int Immunopharmacol. 2018;64:372-385. https://doi.org/10.1016/j.intimp.2018.09.026

42. Mehwish S, Khan H, Rehman AU, Khan AU, Khan MA, Hayat O, et al. Natural compounds from plants controlling leishmanial growth via DNA damage and inhibiting trypanothione reductase and trypanothione synthetase: an in vitro and in silico approach. 3 Biotech. 2019;9(8):303. https://doi.org/10.1007/s13205-019-1826-1

43. Baiocco P, Colotti G, Franceschini S, Ilari A. Molecular basis of antimony treatment in leishmaniasis. J Med Chem. 2009;52(8):2603-2612. https://doi.org/10.1021/jm900185q

44. Colotti G, Baiocco P, Fiorillo A, Boffi A, Poser E, Di Chiaro F, et al. Structural insights into the enzymes of the trypanothione pathway: targets for antileishmaniasis drugs. Future Med Chem. 2013;5(15):1861-1875. https://doi.org/10.4155/fmc.13.146

45. Iribarne F, Paulino M, Aguilera S, Murphy M, Tapia O. Docking and molecular dynamics studies at trypanothione reductase and glutathione reductase active sites. J Mol Model. 2002;8(5):173-183. https://doi.org/10.1007/s00894-002-0082-0

46. Jayakumar K, Murugan K. Solanum alkaloids and their pharmaceutical roles: a review. J Anal Pharm Res. 2016;3(6):00075. https://doi.org/10.15406/japlr.2016.03.00075

47. Manoharan R, Nair CS, Eissa N, Cheng H, Ge P, Ren M, et al. Therapeutic potential of Solanum alkaloids with special emphasis on cancer: a comprehensive review. Drug Des Devel Ther. 2024;18:3063-3074. https://doi.org/10.2147/DDDT.S470925

48. Venkatesan SK, Dubey VK. Footprinting of inhibitor interactions of in silico identified inhibitors of trypanothione reductase of Leishmania parasite. ScientificWorldJournal. 2012;2012:963658. https://doi.org/10.1100/2012/963658

49. Ogungbe IV, Setzer WN. The potential of secondary metabolites from plants as drugs or leads against protozoan neglected diseases-part III: in-silico molecular docking investigations. Molecules. 2016;21(10):1389. https://doi.org/10.3390/molecules21101389

50. Cos P, Janssens J, Piñón A, Cuesta-Rubio O, Yglesias-Rivera A, Díaz-García A, et al. Efficacy of four Solanum spp. extracts in an animal model of cutaneous leishmaniasis. Medicines (Basel). 2018;5(2):49. https://doi.org/10.3390/medicines5020049

51. Laban LT, Anjili CO, Mutiso JM, Ingonga J, Kiige SG, Ngedzo MM, et al. Experimental therapeutic studies of Solanum aculeastrum Dunal. on Leishmania major infection in BALB/c mice. Iran J Basic Med Sci. 2015;18(1):64-71. https://doi.org/10.22038/ijbms.2015.3891

52. Roskoski R Jr. Rule of five violations among the FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors. Pharmacol Res. 2023;191:106774. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106774