



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS LICENCIATURA EN QUÍMICA

“Diseño *in silico* de antifúngicos esteroidales reguladores del citocromo P450 esterol 14 α - demetilasa”

Tesis para obtener el título de
LICENCIADO EN QUÍMICA

Presenta:

Liliana Dinorah Pérez Lima Ponce

Director de tesis:

Dr. Jesús Sandoval Ramírez

Codirector de tesis:

Dr. Alan Carrasco Carballo



Enero 2023



El presente trabajo se desarrolló en el área de bioinformática del Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica, bajo la dirección del Dr. Jesús Sandoval Ramírez y el Dr. Alan Carrasco Carballo.



“HUP, 50 años de enseñanza y salud”

OFICIO C.Q./CT 024A/2022

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis del alumno de la Licenciatura en Química

Liliana Dinorah Pérez Lima Ponce

realizada en el área de Química Orgánica, comunican a Usted la autorización para la publicación del Trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Jesús Sandoval Ramírez, con el siguiente título:
“Diseño in silico de antifúngicos estereoidales reguladores del citocromo P450 esterol 14 α -demetilasa”

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 11 de agosto de 2022.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”


H. Puebla de Z., a 12 de agosto de 2022



Dr. José Luis Vega Báez
PRESIDENTE



Dr. Jorge Organista Nava
SECRETARIO



Dra. María Laura Asunción Orea Flores
VOCAL

c.c.p. Archivo

Cadena digital: 4Uz!Vz/Xs"Qt"Ar%Cl&Ro-Lh"Tu"Td\$Hv!lq&Oc!Ee!Om,Fz\$Ue*TL-
Aj(Lr*Xk!Ff&Tg.Vs/Pw)Ov%Xy%Nm%Os"DD)Uq%Jg"EO(Eq"Cl\$Dy,Ug+Tz%Ue&Zp)Ya,Eu)Yn#Bb+Ky%Dp&Ij!Wg)Ni*Lt%Eh\$Kq*
Ly!Hn'Rr(Uk#Wj(Hl(Ks,Cj\$Ex\$Rb#Zm,Ty-
Wg+Hx/Zs&Od+Hq'Jv*Tk*Ja.Ce!Cy+Kq&Jc.Cd"Lx)Ja/Fw+Yv&Js)Dw*Ra,Cp/Ow,Sn%Lf/Mv\$Hh&Iv(Lp)

DEDICATORIA

A mis padres, quienes con tanto esfuerzo, amor y dedicación me han impulsado, apoyado, motivado y quienes siempre han creído en mi potencial. Gracias por ser mi más grande motivación, ya que con su ejemplo he podido elegir mi propia senda. Gracias por todo el conocimiento que me han brindado a través de su experiencia y por su amor incondicional.

A mi hermano, uno de mis ejemplos a seguir, quien con toda su sabiduría, amor y honestidad me ha guiado en el camino cuando lo necesito.

A los profesores, con quienes tuve la dicha de aprender, cuestionar, explorar y descubrir la ciencia a través de su conocimiento y de las destrezas que me regaló cada práctica realizada en los laboratorios que cursé bajo su supervisión durante mi carrera en la inigualable Facultad de Ciencias Químicas, BUAP.

A mis mejores amigos: Sebastián, Angélica, Alexa, David y Mara, quienes me han visto crecer académica y profesionalmente en lo que amo hacer, y quienes aplauden mis logros como yo aplaudo cada uno de los suyos. Agradezco su amistad, apoyo y cariño incondicional.

Agradecimientos

✚ A los distinguidos integrantes de la Comisión Revisora:

- Dra. María Laura Asunción Orea Flores
- Dr. José Luis Vega Báez
- Dr. Jorge Organista Nava

Por sus aportaciones durante la revisión de este trabajo.

✚ Al CONACYT, por su apoyo al proyecto PRONACES 317580.

✚ Al Dr. Jesús Sandoval Ramírez por su conocimiento impartido y por haberme permitido formar parte de este gran proyecto de investigación.

✚ Al Dr. Alan Carrasco Carballo, por el apoyo incondicional, la enseñanza constante y por las observaciones y comentarios asertivos a lo largo de este proyecto.

Índice

Índice	5
Símbolos y abreviaturas	7
Índice de esquemas	13
Índice de tablas	14
RESUMEN	15
1. ANTECEDENTES	17
1.1 Hongos	18
1.2 Citocromos P450	20
1.3 Esteroles	21
1.4 Fármacos antifúngicos azoles	23
1.5 Análisis estructural de los fármacos azoles	24
1.6 Glicoalcaloides esteroidales (SGA) y su actividad biológica	26
1.7 Análisis <i>in silico</i> para el descubrimiento de nuevos fármacos antifúngicos	30
2. OBJETIVOS	32
2.1 Objetivo general	32
2.2 Objetivos particulares	32
3. Metodología	33
3.1 Validación de targets	33
3.2 Preparación de ligandos	33
3.3 Docking Molecular	33
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	34
4.1 Análisis estructural de los derivados de diosgenina	35
4.2 Análisis estructural de los derivados pregnánicos	42
4.3 Rectas numéricas que muestran las energías de acoplamiento (kcal/mol) de los derivados de diosgenina y de pregnano	50
4.4 Recta numérica de los derivados de diosgenina y de pregnano que presentaron una mejor energía de acoplamiento que la del fluconazol	52
4.5 Análisis estructural del citocromo P450 estero 14 α -desmetilasa	54

4.6 Análisis de las interacciones entre la CYP51 y el antifúngico fluconazol (fármaco de referencia).....	60
4.7 Análisis de las interacciones entre la CYP51 y derivados pregnánicos y de diosgenina que presentaron una mejor energía de acoplamiento que la del fluconazol	62
4.8 Recta numérica de los derivados de diosgenina y de pregnano que presentaron una menor energía de acoplamiento a la del fluconazol	93
4.9 Análisis de las interacciones entre la CYP51 y los derivados tanto pregnánicos como de diosgenina que presentaron una peor energía de acoplamiento que la del fluconazol	94
4.9 Análisis tridimensional de las interacciones entre las moléculas 1P, 7P, 11P y la enzima CYP51, y resultados del radar de biodisponibilidad	114
5. CONCLUSIONES	117
6. BIBLIOGRAFÍA	119

Símbolos y abreviaturas

ARN	Ácido ribonucleico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
IFI	Infecciones Fúngicas Invasivas
CA	<i>Candida albicans</i>
CNA	<i>Candida no albicans</i>
CYP450	Citocromo P450
CYP51	Citocromo P450 esteroide 14 α -desmetilasa
FCZ	Fluconazol
ITC	Itraconazol
VOR	Voriconazol
PCZ	Posaconazol
SGA	Glicocalcoides esteroidales
Glc	D-glucosa
Gal	D-galactosa
Xyl	D-xilosa
Rha	L-ramnosa
BuChE	Butirilcolinesterasa
AChE	Acetilcolinesterasa
SBVS	Cribado Virtual Basado en Estructura
AMP	Péptidos antimicrobianos
AFP	Péptidos antimicóticos
PDB	Protein Data Bank
ADME	Absorción, distribución, metabolismo y excreción.
ALA (A)	Alanina

ARG (R)	Arginina
ASN (N)	Aspargina
ASP (D)	Ácido aspártico
CYS (C)	Cisteína
GLN (Q)	Glutamina
GLU (E)	Ácido glutámico
GLY (G)	Glicina
HIS (H)	Histidina
ILE (I)	Isoleucina
LEU (L)	Leucina
LYS (K)	Lisina
MET (M)	Metionina
PHE (F)	Fenilalanina
PRO (P)	Prolina
SER (S)	Serina
THR (T)	Treonina
TRP (W)	Triptófano
TYR (Y)	Tirosina
VAL (V)	Valina
P	Pregnano
D	Diosgenina
1P – 22P	Derivados 1 – 22 pregnánicos
1D – 22D	Derivados 1 – 22 de diosgenina
A	Cadena A de la enzima CYP51
B	Cadena B de la enzima CYP51

Índice de figuras

Figura 1. Tipos de hongos: a) Heterótrofos, b) biótrofos y c) saprótrofos.	19
Figura 2. Formas en las que los patógenos pueden dañar a los tejidos.	19
Figura 3. Estructuras del colesterol y de esteroides de hongos y bacterias.	22
Figura 4. Estructuras químicas de agentes antifúngicos.	23
Figura 5. Representación de la coordinación del grupo hemo con el átomo de nitrógeno de fármacos azoles.	24
Figura 6. Estructura de una saponina monoglicosilada.	26
Figura 7. Biosíntesis de alcaloides esteroidales a partir del colesterol en plantas solanáceas.	26
Figura 8. Estructuras de los esqueletos más comunes de los glicoalcaloides esteroidales (solanidano y espirosolano).	27
Figura 9. a) Planta <i>Solanum incanum</i> , b) flor de la planta.	28
Figura 10. Estructuras moleculares de α -solanina, α -chaconina y α -tomatina.	29
Figura 11. Mecanismo de disrupción de la membrana inducida por glicoalcaloides.	29
Figura 12. Estructuras diseñadas como posibles antifúngicos.	34
Figura 13. Estructuras moleculares de: 5β -espirostanol, diosgenina y progesterona.	34
Figura 14. Estructuras en 3D de las moléculas 1 y 2 (derivados de diosgenina).	39
Figura 15. Estructuras en 3D de las moléculas 3 y 4 (derivados de diosgenina).	39
Figura 16. Estructuras en 3D de las moléculas 5 y 6 (derivados de diosgenina).	39
Figura 17. Estructuras en 3D de las moléculas 7 , 8 y 9 , respectivamente (derivados de diosgenina).	40
Figura 18. Estructuras en 3D de las moléculas 10 , 11 y 12 (derivados de diosgenina).	40
Figura 19. Estructuras en 3D de las moléculas 13 y 14 (derivados de diosgenina).	41
Figura 20. Estructuras en 3D de las moléculas 15 , 16 y 17 (derivados de diosgenina).	41
Figura 21. Estructuras en 3D de las moléculas 18 , 19 y 20 (derivados de diosgenina).	41
Figura 22. Estructura en 3D de las moléculas 21 y 22 (derivados de diosgenina).	42
Figura 23. Estructuras en 3D de las moléculas 1 y 2 (derivados pregnánicos).	46
Figura 24. Estructuras en 3D de las moléculas 3 y 4 (derivados pregnánicos).	46
Figura 25. Estructuras en 3D de las moléculas 5 , 6 , 7 y 8 (derivados pregnánicos).	46
Figura 26. Estructuras en 3D de las moléculas 9 y 10 (derivados pregnánicos).	47
Figura 27. Estructuras en 3D de las moléculas 11 y 12 (derivados pregnánicos).	47
Figura 28. Estructuras en 3D de las moléculas 13 y 14 (derivados pregnánicos).	47
Figura 29. Estructuras en 3D de las moléculas 15 y 16 (derivados pregnánicos).	48
Figura 30. Estructuras en 3D de las moléculas 17 y 18 (derivados pregnánicos).	48
Figura 31. Estructuras en 3D de las moléculas 19 y 20 (derivados pregnánicos).	48
Figura 32. Estructuras en 3D de las moléculas 21 y 22 (derivados pregnánicos).	49
Figura 33. Recta numérica de energías de acoplamiento (kcal/mol) para los derivados de diosgenina, tomando como referencia al fluconazol.	50

Figura 34. Recta numérica de energías de acoplamiento (kcal/mol) para los derivados pregnánicos, tomando como referencia al fluconazol.	51
Figura 35. Recta numérica en donde se muestran los derivados pregnánicos y de diosgenina que resultaron tener mejores energías de acoplamiento (en kcal/mol) que el fluconazol. ...	52
Figura 36. Secuencia de aminoácidos de la esteroil 14 α -desmetilasa.	54
Figura 37. a) Estructura cuaternaria de la esteroil 14 α -desmetilasa, b) enzima con los dos sitios de unión más relevantes, c) enzima con el sitio de unión mayor volumen y superficie; y d) enzima con el pocket de menor volumen y superficie.	56
Figura 38. Interacciones entre la CYP51 y el fármaco (ligando) Fluconazol (FCZ).	60
Figura 39. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #1 de los derivados pregnánicos (1P en la Figura 38).	62
Figura 40. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #7 de los derivados pregnánicos (7P en la Figura 35).	63
Figura 41. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #11 de los derivados pregnánicos (11P en la Figura 35).	65
Figura 42. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #11 de los derivados pregnánicos (12P en la Figura 35).	66
Figura 43. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #14 de los derivados pregnánicos (14P en la Figura 35).	68
Figura 44. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructuras #2 y #17 de los derivados pregnánicos (2P y 17P en la Figura 35).	70
Figura 45. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #16 de los derivados pregnánicos (16P en la Figura 35).	71
Figura 46. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #6 de los derivados pregnánicos (6P en la Figura 35).	72
Figura 47. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #4 de los derivados pregnánicos (4P en la Figura 35).	74
Figura 48. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #10 de los derivados pregnánicos (10P en la Figura 35).	75
Figura 49. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #3 de los derivados pregnánicos (3P en la Figura 35).	76
Figura 50. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #9 de los derivados pregnánicos (9P en la Figura 35).	78
Figura 51. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #13 de los derivados pregnánicos (13P en la Figura 35).	79
Figura 52. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #5 de los derivados pregnánicos (5P en la Figura 35).	80
Figura 53. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #18 de los derivados pregnánicos (18P en la Figura 35).	81
Figura 54. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #18 de los derivados de diosgenina (18D en la Figura 35).	83

Figura 55. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #3 de los derivados de diosgenina (3D en la Figura 35).	84
Figura 56. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #10 de los derivados de diosgenina (10D en la Figura 35).	85
Figura 57. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #15 de los derivados pregnánicos (15P en la Figura 35).	86
Figura 58. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #8 de los derivados pregnánicos (8P en la Figura 35).	88
Figura 59. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #6 de los derivados de diosgenina (6D en la Figura 35).	89
Figura 60. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #11 de los derivados de diosgenina (11D en la Figura 35).	90
Figura 61. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #2 de los derivados de diosgenina (2D en la Figura 35).	91
Figura 62. Recta numérica en donde se muestran los derivados pregnánicos y de diosgenina que resultaron tener energías de acoplamiento (en kcal/mol) deficientes en comparación a la del fluconazol.	93
Figura 63. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #14 de los derivados de diosgenina (14D en Figura 62).	94
Figura 64. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #15 de los derivados de diosgenina (15D en Figura 62).	95
Figura 65. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #22 de los derivados de diosgenina (22D en Figura 62).	96
Figura 66. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #21 de los derivados de diosgenina (21D en Figura 62).	97
Figura 67. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #1 de los derivados de diosgenina (1D en Figura 62).	98
Figura 68. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #5 de los derivados de diosgenina (5D en Figura 62).	99
Figura 69. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #12 de los derivados de diosgenina (12D en Figura 62).	100
Figura 70. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #4 de los derivados de diosgenina (4D en Figura 62).	101
Figura 71. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #7 de los derivados de diosgenina (7D en Figura 62).	102
Figura 72. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #13 de los derivados de diosgenina (13D en Figura 62).	103
Figura 73. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #8 de los derivados de diosgenina (8D en Figura 62).	104
Figura 74. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #19 de los derivados de diosgenina (19D en Figura 62).	105

Figura 75. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #16 de los derivados de diosgenina (16D en Figura 62).	106
Figura 76. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #21 de los derivados pregnánicos (21P en Figura 62).	107
Figura 77. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #20 de los derivados pregnánicos (20P en Figura 62).	108
Figura 78. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #17 de los derivados de diosgenina (17D en Figura 62).	109
Figura 79. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #22 de los derivados pregnánicos (22P en Figura 62).	110
Figura 80. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #19 de los derivados pregnánicos (19P en Figura 62).	111
Figura 81. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #9 de los derivados de diosgenina (9D en Figura 62).	112
Figura 82. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #20 de los derivados de diosgenina (20D en Figura 62).	113
Figura 83. Modelo tridimensional de los acoplamientos moleculares entre a) CYP51-FCZ, b) CYP51- 1P , c) CYP51- 7P y d) CYP51- 11P .	114

Índice de esquemas

Esquema 1. Desmetilación catalítica de lanosterol 14 α -demetilasa por CYP51.....	21
Esquema 2. Síntesis de derivados pregnánicos a partir de la progesterona.....	42

Índice de tablas

Tabla 1. Microorganismos que causan enfermedades infecciosas.	17
Tabla 2. Estructuras derivadas de diosgenina.....	35
Tabla 3. Estructuras de algunos derivados pregnánicos.	43
Tabla 4. Regiones de unión (pockets) más relevantes del citocromo P450 α -desmetilasa. .	55
Tabla 5. Descriptores del sitio de unión principal (de color amarillo).	57
Tabla 6. Descriptores del sitio de unión secundario (de color lila).	57
Tabla 7. Tipos de aminoácidos presentes en los sitios de unión primario (amarillo) y secundario (lila).	58
Tabla 8. Resultados obtenidos en SwissADME.	116

RESUMEN

En la presente tesis se llevó a cabo el estudio de las interacciones moleculares presentadas entre la enzima CYP51, perteneciente al citocromo P450, y los ligandos derivados esteroidales de la diosgenina y progesterona, con el fin de proponer nuevas alternativas para inhibir la formación de ergosterol en hongos, dado que es un esteroles vital en ellos.

Las interacciones moleculares se realizaron a partir de estudios *in silico* con ayuda del programa Schrödinger y se midieron las energías de acoplamiento derivadas de cada uno de los derivados esteroidales.

Se hizo uso de herramientas bioinformáticas que permitieron realizar los acoplamientos ligando-proteína con cada una de las moléculas propuestas y la enzima CYP51, tomando como referencia el valor de la energía de acoplamiento fluconazol-CYP51, la cual tuvo un valor de -4.616 kcal/mol. Además, permitieron observar y analizar cada una de las interacciones formadas entre los ligandos y los aminoácidos que conforman dicha enzima.

ABSTRACT

Herein an analysis of the molecular interactions between enzyme CYP51 (belonging to the cytochrome P450 family) and steroid-derived ligands from diosgenin and progesterone is presented. The aim of this work is to propose new alternatives to inhibit the formation of ergosterol in fungi as this is vital for them.

Molecular interactions were performed from *in silico* studies using the Schrödinger program and the derived coupling energies were measured for each of the steroid derivatives.

Bioinformatic tools were used to study the ligand-protein interactions with each of the proposed molecules and the CYP51 enzyme. As reference, the value of the coupling energy fluconazole-CYP51, which had a value of -4.616 kcal/mol. In addition, such interactions allowed to observe and analyze each of the interactions between ligands and the enzyme amino acids.

1. ANTECEDENTES

Existen distintos agentes que pueden causar enfermedades infecciosas (Tabla 1); entre ellos se encuentran los virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos. Particularmente, estos dos últimos pueden clasificarse como un solo grupo de agentes conocidos generalmente como parásitos [1]. Cada uno de ellos presenta una gran cantidad de implicaciones médicas generando particularmente el área de enfermedades infecciosas. Este trabajo está enfocado en proponer nuevos tratamientos para las infecciones o enfermedades infecciosas causadas por los hongos. Para ello, es necesario conocer las propiedades de dichos patógenos.

Tabla 1. Microorganismos que causan enfermedades infecciosas [1].

Algunas causas comunes de enfermedades en humanos		
Tipo de microorganismo	Nombre	Enfermedades
Virus de DNA	Adenovirus	Adenovirus humano (e.g., tipos 3, 4 y 7)
	Herpesvirus	Herpes simple, varicela zóster, virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, sarcoma de Kaposi
	Poxvirus	Virus vaccinia
	Parvovirus	Parvovirus humano
	Papovavirus	Virus del papiloma
	Hepadnavirus	Virus de la hepatitis B
	Ortomixovirus	Virus de la influenza
	Paramixovirus	Paperas, sarampión, virus sincitial respiratorio
	Coronavirus	Virus del resfriado común
	Picornavirus	Polio, coxsackie, hepatitis A, rinovirus
Virus de ARN	Reovirus	Rotavirus, reovirus
	Togavirus	Rubéola, encefalitis transmitida por artrópodos
	Flavivirus	Virus transmitidos por artrópodos (fiebre amarilla, dengue)
	Arenavirus	Coriomeningitis linfocítica, fiebre de Lassa
	Rabdovirus	Rabia
	Retrovirus	Virus de la leucemia de células T humanas, VIH

Gram +ve cocos	Estafilococos	<i>Staphylococcus aureus</i>
Gram –ve cocos	Estreptococos	<i>Streptococcus pneumoniae, S. pyogenes</i>
Gram +ve bacilos	Neisseria	<i>Neisseria gonorrhoeae, N. meningitidis</i>
Gram –ve bacilos		<i>Corinebacterias, Bacillus anthracis, Listeria monocytogenes</i>
Bacteria anaeróbica		<i>Salmonella, Shigella, Campylobacter, Vibrio, Yersinia, Pasteurella, Pseudomonas, Brucella, Haemophilus, Legionella, Bordetella</i>
Espiroquetas		<i>Treponema pallidum, Borrelia burgdorferi, Leptospira interrogans</i>
Micobacterias		<i>Mycobacterium tuberculosis, M. leprae, M. avium</i>
Rickettsias		<i>Rickettsia prowazekii</i>
Clamidias		<i>Chlamydia trachomatis</i>
Micoplasmas		<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Hongos		<i>Candida albicans, Cyptococcus neoformans, Aspergillus, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis, Pneumocystis carinii</i>

1.1 Hongos

Los hongos son un grupo de organismos inmóviles, no fotosintéticos, principalmente multicelulares, además, digieren los alimentos externamente y absorben los nutrientes directamente a través de sus paredes celulares. La mayoría de los hongos se reproducen por esporas y contienen células tubulares microscópicas llamadas hifas. Los hongos son heterótrofos y, como los animales, obtienen su carbono y energía de otros organismos, algunos inclusive obtienen sus nutrientes de un hospedador vivo (ya sea planta o animal) y se denominan biótrofos; mientras que otros los obtienen de plantas o animales muertos, denominados saprótrofos. Pero también existen los que infectan a un huésped vivo, matando a las células del huésped para obtener sus nutrientes; llamados necrótrofos (Figura 1) [1].



Figura 1. Tipos de hongos: a) Heterótrofos, b) biótropos y c) saprótrofos.

Los hongos son considerados agentes infecciosos responsables de causar diversas enfermedades, por tanto, se sabe que existe una gran variedad de mecanismos por los cuales dichos agentes dañan los tejidos, dado que pueden infectar de manera extracelular e intracelular, los primeros causan enfermedades una vez que liberan toxinas que pueden inducir la producción de anticuerpos neutralizantes, por otro lado, los intracelulares causan enfermedades al dañar las células en las que se encuentran hospedados, aunque la respuesta inmune al agente infeccioso puede ser en sí misma una causa importante de patología en varias enfermedades. Sin embargo, la patología causada por un agente infeccioso particular también depende del sitio en el que prolifere (Figura 2) [2].

	Mecanismos directos de daño tisular por patógenos			Mecanismos indirectos de daño tisular por patógenos		
	Producción de exotoxinas	Endotoxinas	Efecto citopático directo	Complejos inmunes	Anticuerpo anti-huésped	Inmunidad mediada por células
Mecanismo patógeno						
Agente infeccioso	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Corynebacterium diphtheriae</i> <i>Clostridium tetani</i> <i>Vibrio cholerae</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Shigella</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Yersinia pestis</i>	Viruela, varicela-zoster, virus de la hepatitis B, virus de la poliomielitis, virus del sarampión, virus de la influenza, virus del herpes simple	Hepatitis B virus Malaria <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Treponema pallidum</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium leprae</i> Lymphocytic choriomeningitis virus <i>Borrelia burgdorferi</i> <i>Schistosoma mansoni</i> Herpes simplex virus
Enfermedad	Amigdalitis, escarlatina, furúnculos, síndrome de choque tóxico, intoxicación alimentaria, difteria, tétanos, cólera	Sepsis por gramnegativos, meningitis, neumonía, fiebre tifoidea, disentería bacilar, infección de heridas, peste	Viruela, varicela, culebrilla, hepatitis, poliomielitis, sarampión, esclerosante subaguda, panencefalitis, influenza, herpes labial	Enfermedad renal, depósitos vasculares, glomerulonefritis, daño renal en sífilis secundaria, depósitos renales transitorios	Fiebre reumática, anemia hemolítica	Tuberculosis, lepra, tuberculosis, meningitis aséptica, artritis de Lyme, esquistosomiasis, herpes estromal, queratitis

Figura 2. Formas en las que los patógenos pueden dañar a los tejidos [1].

Un grupo particular de infecciones causadas por hongos, son las denominadas “Infecciones fúngicas invasivas (IFIs)”, éstas son un problema emergente en todo el mundo principalmente debido al creciente número de personas con reducida capacidad para combatirlos, es decir, personas inmunodeprimidas, y a las escasas opciones de tratamiento para estas infecciones. Esto se debe principalmente a la adopción generalizada de terapia inmunosupresora agresiva (quimioterapia, trasplantes) a ciertas poblaciones de pacientes y al uso cada vez mayor de dispositivos invasivos como los catéteres venosos centrales (CVC). El uso de nuevos fármacos modificadores de la inmunidad también ha abierto un espectro completamente nuevo de pacientes con riesgo de IFIs [3].

Un ejemplo claro es la epidemiología de las infecciones por *Candida*, misma que ha cambiado en la última década, con un cambio gradual de *C. albicans* a cepas de *Candida no albicans* (NAC), que pueden ser menos susceptibles a los azoles, los cuales varían entre hospitales y regiones según el tipo de factores de riesgo poblacionales y uso de antifúngicos. En ciertas partes del mundo, la incidencia de IFIs está fuertemente ligada a la prevalencia de otras enfermedades y al nicho ecológico del organismo [4].

1.2 Citocromos P450

Las proteínas del citocromo P450 son enzimas prominentes con ortólogos que se encuentran en todos los reinos de la vida (plantas, animales, hongos, algunos protozoos y bacterias), en los eucariotas, dichas enzimas de esta importante familia de monooxigenasas pueden clasificarse en dos amplias categorías funcionales [5]:

1. Biodefensa: como la primera fase de desintoxicación de xenobióticos.
2. Metabolismo central: incluidas las reacciones en la biosíntesis de esteroides y oxidación de ácidos grasos.

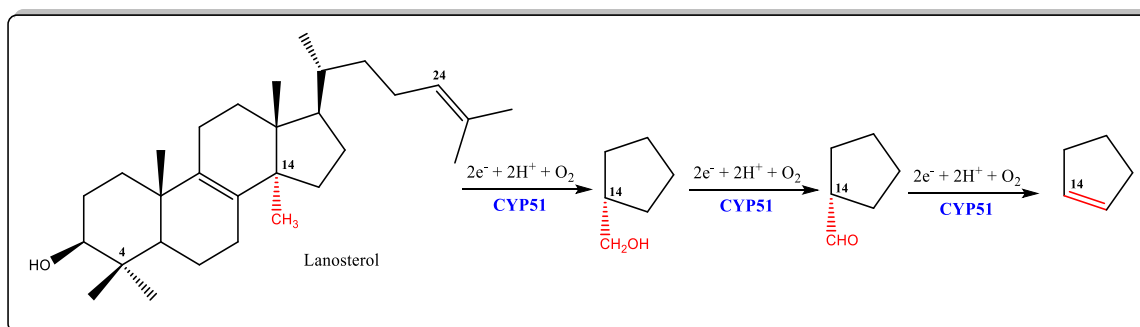
La lanosterol 14 α -desmetilasa o enzima CYP51, es probablemente la más antigua genéticamente de las familias de citocromo P450 y juega un papel central en la biosíntesis de esteroides al catalizar la eliminación oxidativa del grupo metilo en la posición 14 α del Lanosterol, el cual, es el precursor inicial en la biosíntesis de esteroides [6,7]. La CYP51 es una proteína de expansión única o proteína bitópica, ya que contiene solo una única hélice transmembranal [5].

A diferencia de otras enzimas CYP, CYP51 tiene una fuerte especificidad debido a que solo cataliza la eliminación del grupo metilo en la posición 14 α de una gama muy estrecha de sustratos, incluidos el lanosterol, obtusifoliol, 24,25-dihidrolanosterol, 24-metilendihidrolanosterol y 4- β -desmetilanosterol, todos ellos precursores de esteroides.

En la reacción catalítica de tres pasos involucrada en CYP51, se consumen en total tres moléculas de oxígeno, seis protones y seis equivalentes reductores suministrados por la citocromo P450-reductasa dependiente de NADPH.

El primero paso es la unión del sustrato de esteroide en el sitio activo de la enzima, en donde se transfieren los 2 electrones, 1 molécula de oxígeno y 2 protones catalíticos para liberar

una molécula de agua. Después de transferir dos protones catalíticos y liberar una molécula de agua, solo uno de los oxígenos que conforman la molécula de oxígeno (O_2), se introduce en el grupo metilo del esteroil para formar el intermedio 14-(hidroximetil)esteroil, y éste se oxida a un grupo 14-formilo en el segundo ciclo de catálisis por CYP51. Finalmente, el tercer proceso de oxidación ocurre en el grupo 14-formilo y da como resultado la liberación de ácido fórmico y la formación del doble enlace Δ^{14} en el anillo D de esteroil, (esquema 1) [6,8,9].



Esquema 1. Desmetilación catalítica de lanosterol 14 α -demetilasa por CYP51 [8,9].

1.3 Esteroles

Existe una vía metabólica que resulta esencial en la mayoría de los organismos de todos los reinos biológicos, esta vía es la *biosíntesis de esteroles* y por medio de ella se produce colesterol en animales, ergosterol en hongos, así como una gran variedad de esteroles modificados en distintas plantas, algas y protozoos [10].

- Esterol de animales: El colesterol se encuentra en muchas membranas biológicas y es el principal esteroil de los animales. Tiene una estructura tetracíclica con el grupo hidroxilo en posición 3β ecuatorial en el anillo A, y posee una cadena alifática de 8 átomos de carbono colocada en la posición 17 del anillo D, de cinco miembros. El sistema de anillos fusionados es casi rígido [11].
- Esteroles de hongos: El esteroil principal en los hongos es el ergosterol, cuya estructura difiere de la del colesterol por la presencia de dobles enlaces adicionales al del anillo B y en la cadena alifática. Un grupo metilo también está presente en C24. Este esteroil tiene propiedades de interacción peculiares con antibióticos que actúan contra hongos, como los antibióticos poliénicos [11].
- Esteroles bacterianos: Los esteroles primitivos como los hopanoides son producidos por bacterias que se desarrollan en condiciones muy extremas (temperatura, acidez, presión, fuerza iónica) y se consideran buenos marcadores de muestras geológicas que contienen materia orgánica. Poseen una estructura de anillo condensado pentacíclico con cuatro grupos OH (bacteriohopanetetrol) o tres hidroxilos y un grupo NH_2 (bacteriohopaneaminotriol, BHAT) en la cadena alifática ramificada. No existen grupos OH en el anillo A, como en el colesterol, lo que confiere a estas moléculas una especie de polaridad invertida, al comparar con el colesterol, es decir, la parte hidrofílica de la

molécula ya no se encuentra en el sistema de anillos fusionados sino al final del mismo, la cola alifática corta [11].

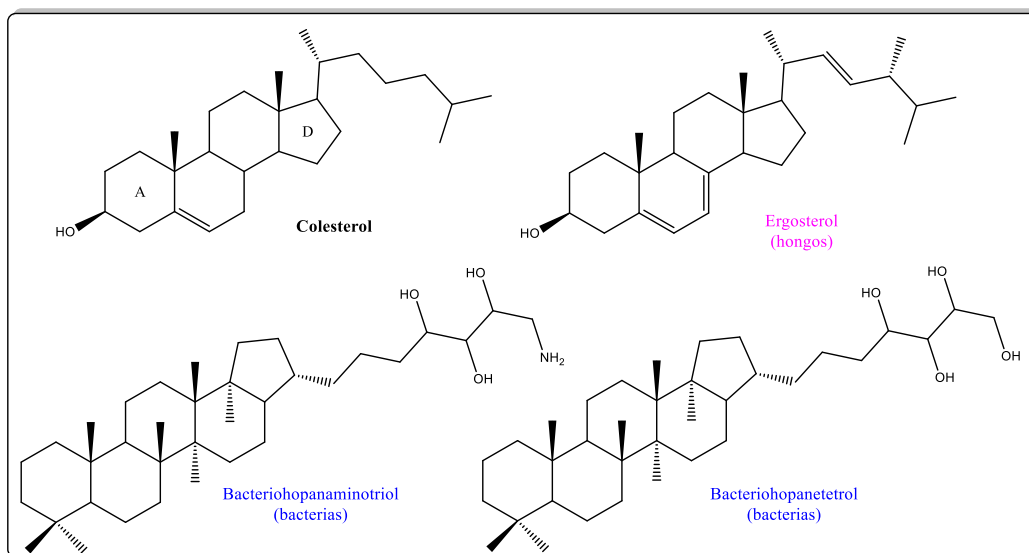


Figura 3. Estructuras del colesterol y de esteroides de hongos y bacterias [11].

Los esteroides se han considerado históricamente como reforzadores de la membrana porque inducen un orden molecular en ella, pudiendo denominarlos como "reguladores dinámicos de membrana", ya que mantienen la membrana en un estado de microfluidez adecuado para la función celular en grandes escalas de temperatura, debido a que la naturaleza autoensamblada de la bicapa lipídica de membrana la convierte en un sistema complejo y dinámico, que muestra un comportamiento y propiedades que dependen fuertemente de la composición y la temperatura.

A bajas temperaturas, la bicapa lipídica que conforma la membrana celular se encuentra en una fase de orden sólido, esto es porque las cadenas laterales de acilo de los fosfolípidos que conforman la bicapa se encuentran bien empaquetadas debido a las interacciones, generalmente por fuerzas de tipo Van der Waals, que hay entre ellas. Esto le confiere a la membrana lipídica una baja movilidad y buen empaquetamiento. De lo contrario, a altas temperaturas, este ordenamiento de los fosfolípidos de la membrana baja drásticamente debido a la perturbación en las interacciones que había entre las cadenas de acilo, formando una fase líquida cristalina, mejor conocida como "fase de desorden líquido". Esta fase presenta altos niveles de fluidez y desordenamiento, impidiendo que la membrana realice sus funciones adecuadamente. No obstante, en presencia de esteroides, dicho desorden que se produce a altas temperaturas disminuye notablemente, ya que se forma una tercera fase llamada "fase líquida ordenada", debido a que las moléculas de esteroide se orientan en la bicapa con sus grupos hidroxilo cerca de los grupos polares de las moléculas de fosfolípidos, lo que disminuye la movilidad de la cadena hidrocarbonada en esta región. En consecuencia, la fase líquida ordenada es menos fluida que la fase líquida desordenada, pero no tan bien empaquetada como la fase de orden sólido [11].

Por tanto, los esteroides son moléculas clave en la regulación de la dinámica de las membranas.

Además, los esteroides son precursores de hormonas como la vitamina D y los ácidos biliares, por tanto, la naturaleza de la biosíntesis de esteroides implica que CYP51 es una diana farmacológica importante.

1.4 Fármacos antifúngicos azoles

Durante las últimas décadas, se han utilizado los antifúngicos azoles para tratar las infecciones fúngicas. Éstos se dirigen selectivamente al sitio catalítico de la CYP51 mediante la coordinación del átomo de nitrógeno (N_3 o N_4 en el anillo de imidazol o triazol, respectivamente) con el hierro hemo de la enzima, como el sexto ligando axial [12]. La inhibición de CYP51 en hongos da como resultado la acumulación de precursores de ergosterol de esteroides metilados que alteran las membranas y evitan el crecimiento fúngico. Por ello, la lanosterol 14α -desmetilasa (CYP51) es un objetivo de los agentes antifúngicos azólicos como fluconazol (FLZ), itraconazol (ITC), voriconazol (VOR) y posaconazol (PCZ) (Figura 4), debido a que los azoles bloquean la biosíntesis de ergosterol en las membranas celulares fúngicas al inhibir CYP51 y ejercer actividad fungistática [13]. Además, han sido los principales agentes utilizados para tratar infecciones fúngicas de plantas, animales y humanos, inclusive existen reportes de que también interfieren con la biosíntesis de esteroides de algunos protozoos patógenos [15].

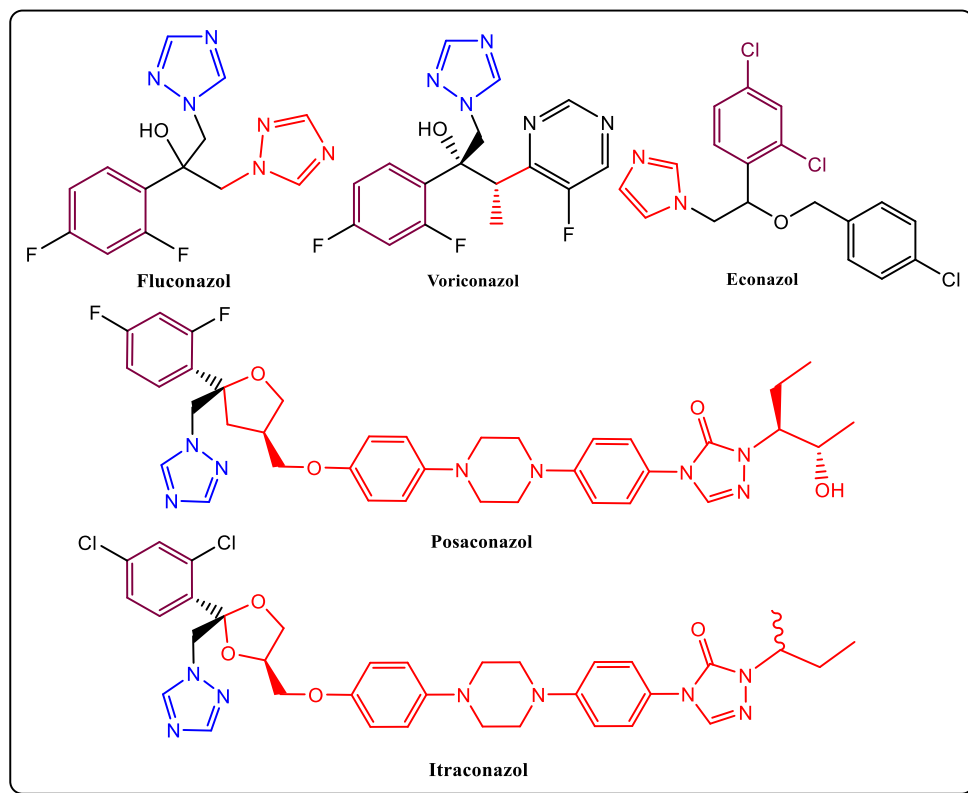


Figura 4. Estructuras químicas de agentes antifúngicos [13,14].

Estos fármacos actúan como inhibidores competitivos de CYP51 que ocupan el sitio activo de P450, impidiendo la unión y por ende oxidación del sustrato. El nitrógeno heterocíclico básico se coordina con el hierro del grupo hemo de P450, compartiendo su único par de electrones y bloqueando la unión del oxígeno molecular (Figura 5), mientras que la porción no ligada de la molécula inhibidora forma múltiples contactos con el resto de la proteína, dando forma a la superficie de interfaz proteína-ligando que define en gran medida la fuerza de la inhibición [16].

El efecto adverso de la terapia antimicótica con azoles es la inhibición cruzada del CYP51 humano y otros P450 [10], ya que se ha reportado que los agentes antifúngicos de triazol causan daño colestásico y hepatocelular esto debido a que la mayoría son metabolizados por el hígado [3]. Asimismo, el uso a largo plazo (>4 semanas) de agentes antimicóticos ha suscitado preocupaciones con respecto al costo, el desarrollo de resistencia y el riesgo de toxicidades relacionadas con el tratamiento [17].

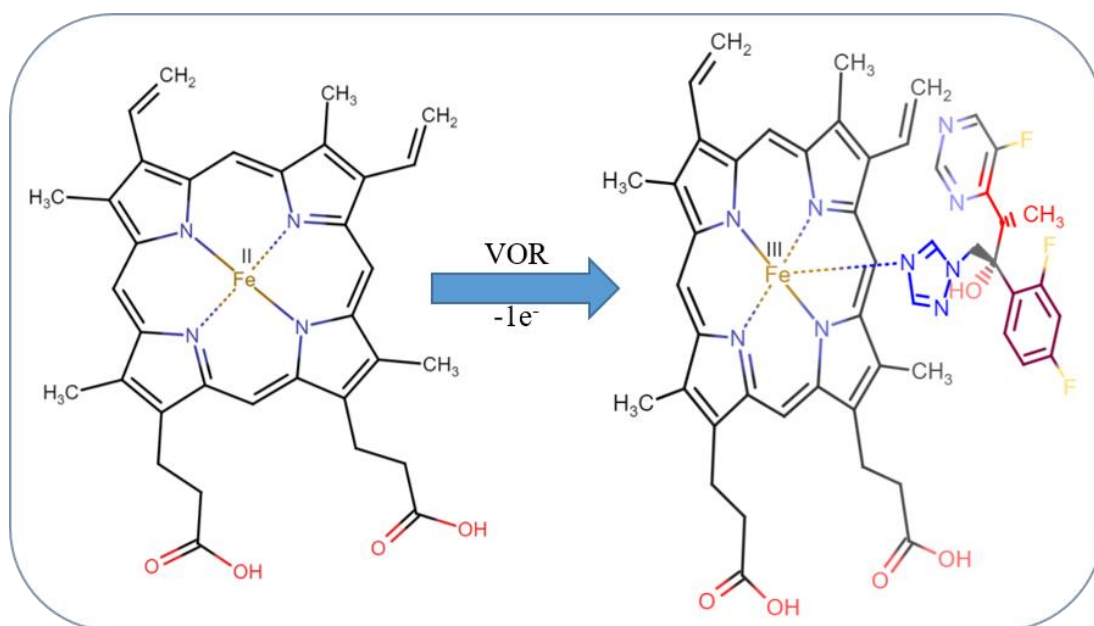


Figura 5. Representación de la coordinación del grupo hemo con el átomo de nitrógeno de fármacos azoles.

1.5 Análisis estructural de los fármacos azoles

Los agentes antifúngicos azólicos son una clase de medicamentos que contienen un anillo de azol e inhiben el crecimiento de una amplia variedad de hongos. Estos fármacos pueden clasificarse en dos grupos: a) imidazoles: los cuales contienen dos nitrógenos en el anillo de azol (p. ej. econazol, ketoconazol, miconazol y tioconazol) y b) triazoles: contienen tres nitrógenos en el anillo de azol (p. ej. fluconazol, itraconazol, posaconazol y voriconazol), además, contienen uno o más centros quirales, a excepción del fluconazol (FLZ) ya que éste no presenta centros quirales al tener dos triazoles (con tres nitrógenos cada uno) unidos a los carbonos 1 y 3 respectivamente, un grupo fenilo 2,4-disustituido por átomos de flúor, así

como un grupo hidroxilo unido al carbono 2. Por el contrario, el voriconazol (VOR) contiene dos centros quirales en las posiciones 1 y 2 debido a que en la posición 1, además de contener un metilo, también tiene unido a él una fluoropirimidina, y en la posición 2 contiene al grupo alcohol. El itraconazol (ITC) contiene tres centros quirales y su estructura consta de dos anillos azólicos, en donde uno de ellos es una triazolona, es decir, un anillo azólico con un grupo cetona que forma parte de este, una cadena formada por dos fenilos y una piperazina entre estos dos. Dicha cadena se encuentra entre la triazolona y el dioxolano, el cual consiste en un ciclo de cinco eslabones con dos átomos de oxígeno en las posiciones 1 y 3, que, a su vez, tiene un centro quiral en el carbono 2. Por otra parte, el posaconazol (PCZ) tiene una estructura molecular muy similar a la del ITC, sin embargo, en éste se incluye un cuarto centro quiral en la cadena alifática que está unida a la triazolona, al que se encuentra unido un grupo hidroxilo. En contraste, el econazol, que se encuentra en el grupo de los imidazoles presenta un solo centro quiral y en su estructura contiene anillo azólico, dos fenilos mono- y disustituidos por átomos de cloro, respectivamente (ver Figura 4).

Los fármacos azoles existentes presentan efectividades clínicas insatisfactorias a causa de los efectos secundarios que se manifiestan de: la interacción fármaco-fármaco, los perfiles farmacocinéticos perjudiciales y por la aparición de especies de hongos resistentes a dichos fármacos [18], de modo que el desarrollo de antifúngicos con un nuevo mecanismo es un tema inaplazable. Las infecciones fúngicas invasivas (IFIs), causadas principalmente por especies de *Aspergillus* (como: *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* y *A. terreus*), especies de *Candida* (como: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*) y especies de *Cryptococcus* (como: *Cryptococcus neoformans* y *C. gattii*) son infecciones potencialmente mortales [19]. El aumento de las infecciones asociadas a *Aspergillus* potencialmente mortales y el desarrollo de resistencia a los agentes antifúngicos actuales ha hecho necesaria la búsqueda de agentes anti-*Aspergillus* nuevos, efectivos y más seguros, especialmente aquellos derivados de plantas medicinales [20].

Sin embargo, existen algunos mecanismos moleculares de la resistencia a los azoles que incluyen la sobreexpresión de CYP51, mutaciones en la estructura de CYP51, la regulación al alza de las bombas de expulsión y la formación de biopelícula fúngica [11]. Por esta razón se necesita el desarrollo continuo de nuevos agentes anti-CYP51 para abordar dicho problema lo antes posible, así como un número creciente de infecciones fúngicas.

La eficacia de los pesticidas ha sido limitada por el desarrollo de resistencia a los fungicidas y la aparición de nuevas cepas [21], sin embargo, se ha demostrado que tanto las saponinas esteroidales como los glicoalcaloides esteroideos que se encuentran presentes de forma constitutiva en los tejidos vegetales, desempeñan un papel en la defensa del huésped en varias especies de plantas [22].

1.6 Glicoalcaloides esteroidales (SGA) y su actividad biológica

Las saponinas esteroidales son metabolitos secundarios que constituyen una gran familia de compuestos estructuralmente constituidos por un esqueleto de tipo esteroide o terpenoide conocidos como aglicona o sapogenina, que a su vez están unidos glucosídicamente a restos de azúcar, los cuales les confieren un carácter anfifílico (Figura 6). De acuerdo con el número de sustituciones, se pueden encontrar agliconas mono-, di- o triglicosiladas. Las monodesmosídicas tienen un oligosacárido unido al C-3; las bidesmosídicas tienen dos cadenas de carbohidratos, uno de ellos unido mediante un enlace éter al C-3, y el otro unido a través de un enlace éster al C-28, en el caso de las saponinas triterpénicas; y las tridesmosídicas que contienen tres cadenas de azúcares. Los oligosacáridos enlazados principalmente son pentosas, hexosas o ácidos urónicos [23,24].

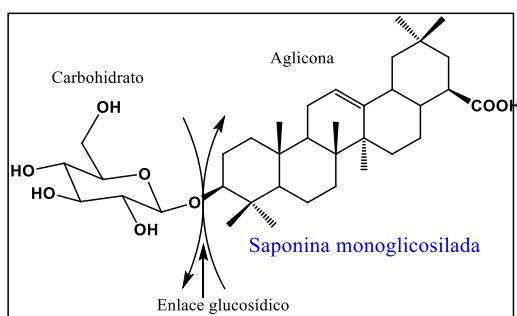


Figura 6. Estructura de una saponina monoglicosilada [24].

Por otra parte, los alcaloides esteroidales derivan de los esteroides y pueden, a su vez, glicosilarse específicamente a los glicoalcaloides esteroides de sabor amargo [21]. Estos alcaloides esteroidales se biosintetizan a partir del colesterol (Figura 7) a través de la oxidación-aminación de C-26, la oxidación de C-22, la oxidación de C-16 y la glicosilación del grupo hidroxilo en C-3 [26,27].

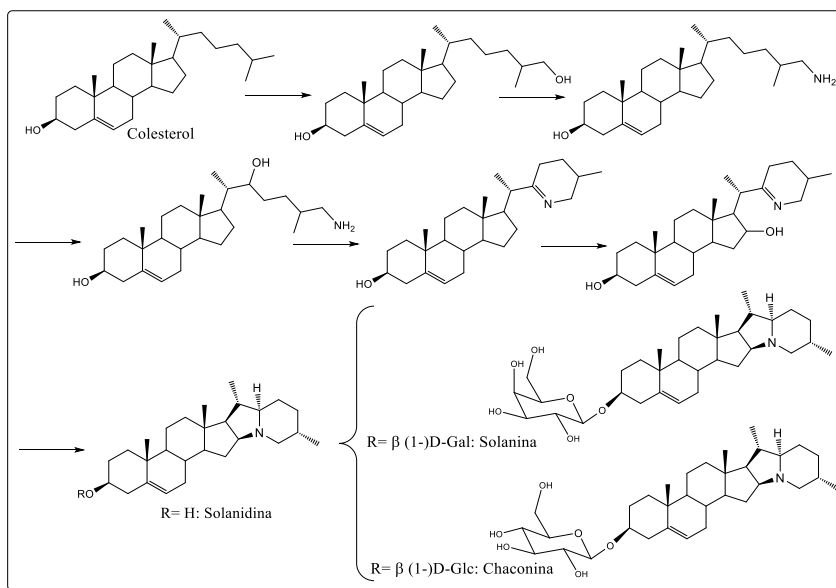


Figura 7. Biosíntesis de alcaloides esteroidales a partir del colesterol en plantas solanáceas [25,26].

Ahora bien, los glicoalcaloides esteroidales (SGA), aunque tienen una estructura similar a la de las saponinas esteroidales, se diferencian de éstas porque contienen un nitrógeno en la aglicona esteroidal (Figura 8). Estos glicoalcaloides comúnmente existen como glucósidos e inmediatamente después de su formación, las enzimas glucosiltransferasa glucosilan las agliconas; los sacáridos unidos a la posición 3-OH de las agliconas consisten en diferentes combinaciones de D-glucosa (Glc), D-galactosa (Gal), D-xilosa (Xyl) y L-ramnosa (Rha) en forma de tri- o tetrasacáridos [25].

Las agliconas se dividen en diferentes categorías según su estructura: solanidanos (con anillos de indolizidina fusionados) o espirosolanos (con una porción de alcaloide oxazaspirodecano) (Figura 8). La unidad de aglicona consiste en un esqueleto hidrofóbico de esteroide de colestano (27 carbonos) con átomos de oxígeno y/o nitrógenos incorporados en su estructura. La segunda unidad es una cadena lateral hidrofílica de carbohidrato unida en la posición 3-OH. La solasodina es un alcaloide esteroideo insoluble en agua, el cual es considerado como materia prima potencial para la fabricación de fármacos esteroidales, un principio activo con notable actividad anticancerígena y con propiedad insecticida [28]. De hecho, la solasodina y la diosgenina son los principales materiales de partida para la síntesis comercial de fármacos esteroides [29].

Es importante mencionar que los SGA son metabolitos secundarios naturales de gran interés desde las perspectivas ecológica y de salud humana; se encuentran en todos los órganos de las plantas de *Solanaceae* (familia de las solanáceas) (Figura 9) con las concentraciones más altas en flores, hojas jóvenes o brotes (partes metabólicamente activas). Estos SGA se denominan glicoalcaloides de *Solanum*. Asimismo, se consideran aleloquímicos defensivos contra una serie de patógenos y depredadores, incluidos hongos, virus, bacterias, insectos y gusanos [30].

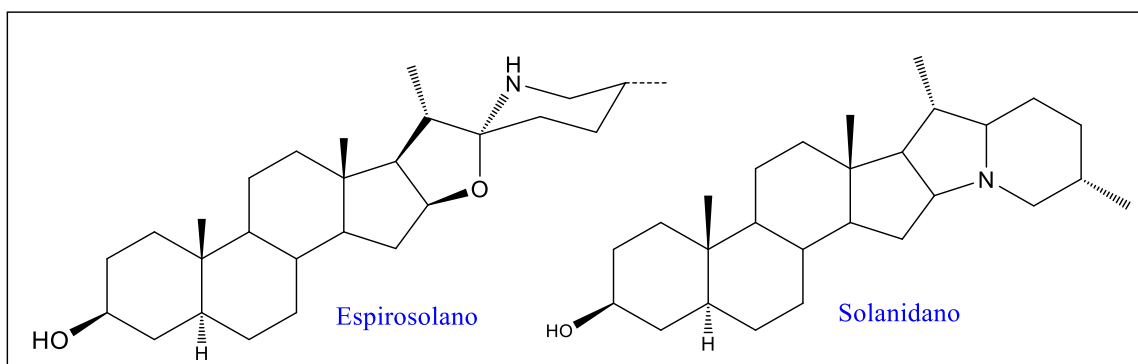


Figura 8. Estructuras de los esqueletos más comunes de los glicoalcaloides esteroidales (solanidano y espirosolano) [24,25].



Figura 9. a) Planta *Solanum incanum*, b) flor de la planta.

La actividad biológica de los glicoalcaloides de la especie *Solanum* se deriva principalmente de dos propiedades [31]:

- i. La inhibición de butirilcolinesterasa (BuChE) y de la acetilcolinesterasa (AChE), la cual es responsable de finalizar la transmisión colinérgica en la unión neuromuscular y el sistema nervioso central.
- ii. La formación de complejos con 3β -hidroxiesteroides de membrana, lo que provoca la ruptura de la membrana y la pérdida de integridad de la misma.

La inhibición de AChE y BuChE es un efecto muy importante y, aunque la unidad de azúcar de los glicoalcaloides se requiere para la actividad inhibitoria, la estructura de la unidad de aglicona es la que determina el grado de inhibición. Además, la inacción de los esteroides que no poseen un átomo de nitrógeno en la aglicona enfatiza el requisito de un nitrógeno heterocíclico para la actividad [32]. A diferencia de la lisis de membrana, se ha reportado que la inhibición de AChE y BuChE es independiente del pH, y no hay evidencia de sinergismo en la inhibición de estas enzimas por los glicoalcaloides [31].

El segundo mecanismo principal de acción de los glicoalcaloides es la ruptura de las membranas biológicas, donde el grado de pérdida de la integridad de la membrana se correlaciona con la concentración de esteroides en la membrana. A diferencia de la inhibición de la acetilcolinesterasa, en este mecanismo existe un evidente efecto sinérgico entre los glicoalcaloides de la papa (Figura 10) y la desestabilización de las membranas celulares: se observó sinergismo con α -solanina y α -chaconina; aunque cuando se combinaron α -chaconina y α -tomatina (glicoalcaloide del tomate) (Figura 10), no se observó ningún efecto sinérgico [31].

Toda la actividad se atribuye a la unión de 3β -hidroxiesteroides en la membrana y por la aglicona liberada por las glucosidasas de superficie; de igual manera, otro factor determinante

de la actividad es el requerimiento de un esteroide de estructura plana, especialmente para el caso de la α -chaconina, ya que la α -tomatina (Figura 10) es mucho menos susceptible a la planaridad del esteroide debido a que se trata de un espirosolano y no tiene el doble enlace en C-5. Los azúcares hidrolizados de α -Chaconina y α -Tomatina se examinaron en cuanto a sus propiedades líticas de membrana y, en todos los casos, los azúcares tri- y tetrasacáridos de α -chaconina y α -tomatina, respectivamente, fueron necesarios para su actividad [31].

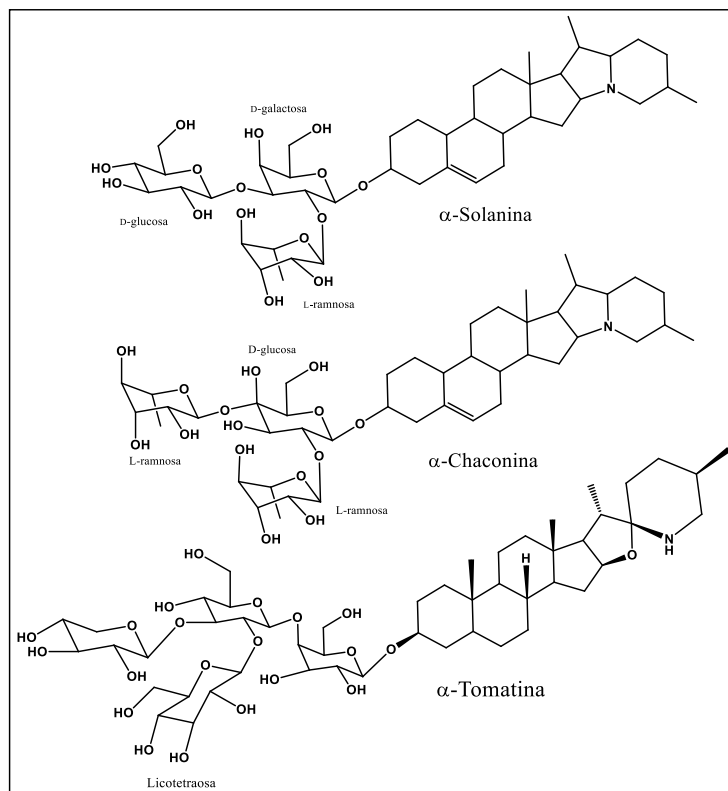


Figura 10. Estructuras moleculares de α -solanina, α -chaconina y α -tomatina [31].

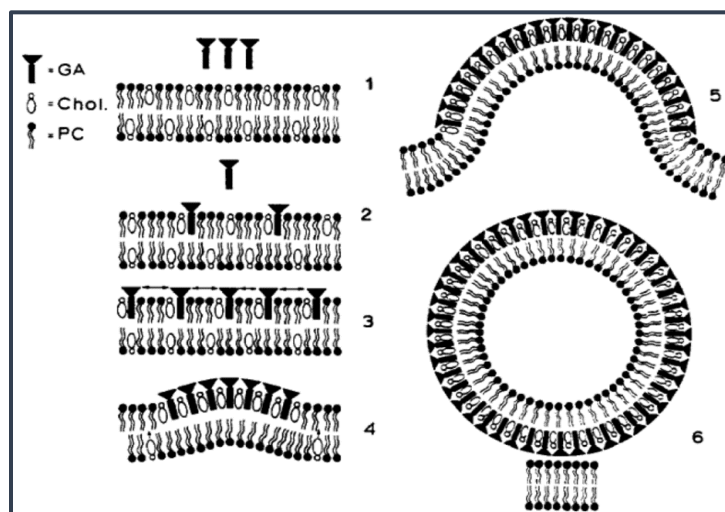


Figura 11. Mecanismo de disrupción de la membrana inducida por glicoalcaloides [31, 33].

El mecanismo de ruptura de la membrana para α -chaconina ocurre de la siguiente manera (Figura 11) [31,33]:

1. Los glicoalcaloides se acercan a la membrana.
2. Ocurre la inserción de los glicoalcaloides y a partir de este paso el resto de aglicona se une de manera reversible a los esteroides que se encuentran en la membrana en una proporción de 50:50.
3. Los complejos glicoalcaloides-esteroides alcanzan cierta densidad en la bicapa de fosfolípidos.
4. Las interacciones electrostáticas intermoleculares entre los residuos glucosídicos de los glicoalcaloides catalizan el desarrollo de una matriz irreversible de complejos glicoalcaloides-esteroides.
5. A su vez, los esteroides de la membrana externa se inmovilizan debido a la complejación. Los esteroides de la cara interna invertirán y sustituirán la capa de glicoalcaloides de esteroides inmovilizados.
6. La gemación de la membrana surgirá debido al hecho de que el complejo glicoalcaloide-esterol, que posee un grupo de cabeza polar relativamente grande, no tiene forma cilíndrica. Los fosfolípidos de la cara interna de la membrana se encapsulan en la estructura final durante la separación de la membrana y forman una monocapa.

Esta hipótesis está respaldada por la sinergia entre la α -solanina y la α -chaconina y la pérdida de actividad después de escindir los monosacáridos del resto glucosídico de los glicoalcaloides [34]. Las estructuras tubulares se forman debido a la estructura tridimensional del resto de azúcar, lo que provoca un crecimiento más rápido de la matriz en una dirección en comparación con la otra [31,33].

1.7 Análisis *in silico* para el descubrimiento de nuevos fármacos antifúngicos

Los métodos computacionales o *in silico* ayudan a tomar decisiones y simular prácticamente todas las facetas del descubrimiento y desarrollo de fármacos. El cribado virtual basado en estructura (SBVS) utiliza una técnica computacional llamada “acoplamiento molecular” para predecir cómo los ligandos (generalmente moléculas pequeñas similares a los fármacos) interactuarán con el sitio de unión de un receptor objetivo, generalmente una estructura de proteína, ya que es una técnica computacional para descubrir, mejorar o estudiar fármacos y moléculas biológicamente activas relacionadas.

Una de las principales clases de terapéuticos basados en péptidos proviene de los péptidos antimicrobianos (AMP), éstos se pueden clasificar en diferentes tipos de péptidos: antibacterianos, antivirales, antifúngicos, antiparasitarios, entre otros. Sin embargo, aunque los AMP se pueden usar para tratar las infecciones por hongos, la falta de especificidad reduce su potencial. Por lo tanto, existe una gran necesidad de diseñar péptidos antimicóticos (AFP) para tratar infecciones fúngicas ya que los medicamentos existentes (por ejemplo, voriconazol, fluconazol, itraconazol, posaconazol) fallan debido a la resistencia a los

medicamentos. Las AFP tienen la capacidad de matar hongos ya que alteran la fisiología de la membrana celular del hongo [36].

Son distintos los parámetros que afectan la actividad de los péptidos antifúngicos, incluida la secuencia, el tamaño, la carga, el grado de formación de la estructura, la cationicidad, la hidrofobicidad y la anfipaticidad. Por esta razón, mediante el análisis de numerosas secuencias de péptidos antifúngicos, se investigan las funciones de dichos parámetros en la estructura de los péptidos antifúngicos y, mediante el análisis *in silico* de los residuos existentes, ocupando cada posición de la secuencia se define una secuencia molde para generar potentes y péptidos antifúngicos de plomo eficientes [37].

A partir de un gran conjunto de ligandos potenciales de una base de datos de productos químicos, se seleccionará un pequeño subconjunto de la base de datos para el ensayo biológico basado en los resultados de los cálculos de acoplamiento molecular. El objetivo más fundamental es predecir si una molécula determinada se unirá a un objetivo y, de ser así, con qué fuerza. Para ello, las moléculas propuestas deberán inspeccionarse para determinar la forma, el tamaño, la estructura química y las interacciones clave complementarias en el sitio de unión de la proteína correspondiente.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Proponer nuevos inhibidores de la CYP51 a partir de esteroides que presenten actividad fungistática con una mayor energía de acoplamiento con la enzima CYP51, con respecto a la del antifúngico fluconazol.

2.2 Objetivos particulares

- Diseñar una serie de moléculas derivadas de esteroides como la diosgenina y la progesterona y analizar su estructura.
- Hacer uso de herramientas bioinformáticas para el estudio de las interacciones proteína-ligando, así como para medir las energías de acoplamiento de cada uno de los derivados moleculares diseñados.
- Proponer al menos tres compuestos con las mejores energías de acoplamiento y estudiar sus propiedades farmacológicas para saber si pueden ser utilizados como fármacos antifúngicos.

3. Metodología

3.1 Validación de targets

A partir de los cristales obtenidos en el PDBank, se limitó a una resolución de 2 Å para garantizar su definición. El código en PDB de la proteína seleccionada es 5TZ1; se determinaron únicamente moléculas de agua con interacción reportada o menor a 3.0 Å en el sitio catalítico de la proteína CYP51 (5TZ1), en el módulo “Protein preparation wizard” utilizando como parámetro pH=7.4 (considerado como medio fisiológico). Se revisó la estabilidad del modelo con su diagrama de Ramachandran para proceder a minimizar con el campo de fuerza OPLS4 con un gradiente de RMSD <0.3 Å [38]. Finalmente, se utilizó el cocrystal para el proceso de re-docking con el módulo Glide [39] y la aceptación se definió a RMSD<2.0 Å.

3.2 Preparación de ligandos

Los ligandos de referencia (fluconazol, y derivados de diosgenina y progesterona) se obtuvieron como cocrystal en las proteínas. Los derivados complejos previamente obtenidos de cristal minimización con nivel OPLS4 y PRCG en el módulo Macromodel [40]. Para el acoplamiento molecular, los ligandos se prepararon utilizando LigPrep de Schrödinger Suite [41], mediante el campo de fuerza OPLS4. Todos los posibles centros protonados y estados de ionización se calcularon para cada estructura usando Ionizer a pH de 7.4. Los estereoisómeros se retuvieron de acuerdo con sus estructuras originales limitadas a 32 isómeros para cada ligando. Se generaron estados tautoméricos para cada grupo y se seleccionaron los conformadores con la energía más baja para cada ligando [41].

3.3 Docking Molecular

El acoplamiento molecular entre los sitios de unión del receptor y los ligandos se realizó usando el módulo Glide [39] de Maestro 12.7 y la rejilla del receptor para cada diana se preparó usando el OPLS4. Cada cuadro de cuadrícula se construyó sobre la base de inhibidores o ligandos de referencia cocrystalizados. El softening de las partes no polares de los receptores se llevó a cabo escalando los radios de Van der Waals en un factor de 0.08. Los átomos se consideraron no polares si se determinaba que su carga atómica parcial absoluta era <0.25. En flexibilidad, se permitieron rotaciones de ligando adicionales para los grupos hidroxilo en Ser, Thr y Tyr, y el grupo tiol en los residuos Cys. Además, se mantuvo la posición de unión de energía más baja de cada ligando. Las puntuaciones de acoplamiento de deslizamiento se realizaron en tres modos de detección virtual de alto rendimiento (HTVS), precisión estándar (SP) y precisión adicional (XP). En primer lugar, se realizó el acoplamiento con moléculas de referencia de las respectivas proteínas dianas para validar el protocolo de acoplamiento.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El diseño de nuevos antifúngicos es de vital importancia dado el creciente número de infecciones, así como los mecanismos de resistencia que presenta este reino, por lo que al estudiar su metabolismo y proceso de replicación, motivo por el cual se decidió diseñar nuevas opciones de inhibidores de la CYP51, asociada a la formación del ergosterol para la pared celular, utilizando como modelo a la diosgenina y la progesterona (Figura 12). Todos los derivados pregnánicos y de diosgenina, se formaron a partir de productos seco ceto-ácidos.

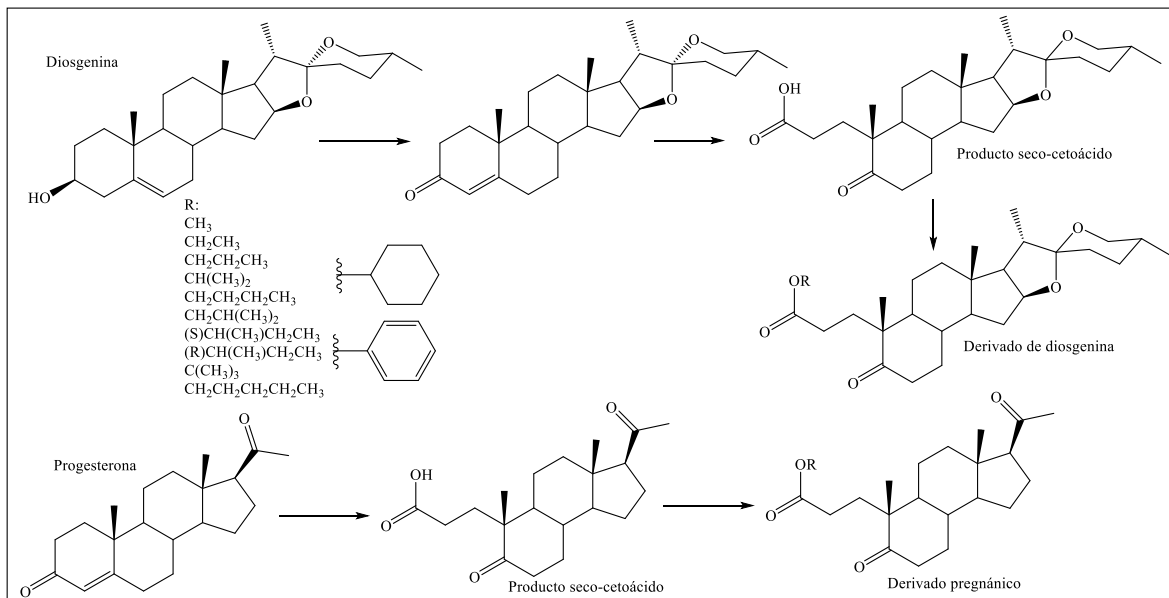


Figura 12. Estructuras diseñadas como posibles antifúngicos.

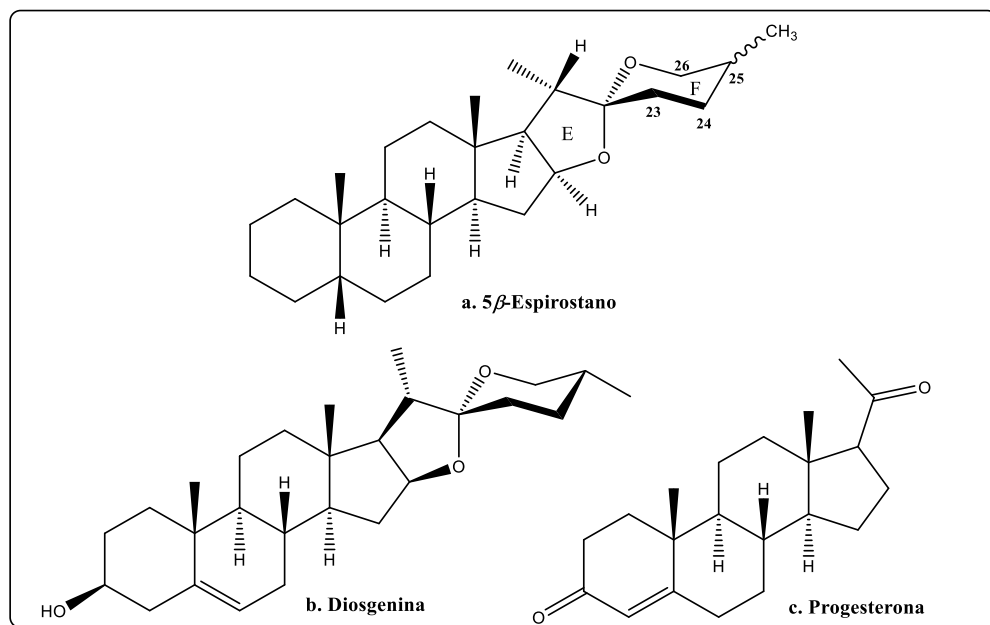


Figura 13. Estructuras moleculares de: 5β-espirostano, diosgenina y progesterona.

La estructura de la diosgenina se muestra en la Figura 13a. La diosgenina es un Δ^5 -espirostano por la presencia de un doble enlace en la posición 5 (Figura 13b) Consiste de cinco anillos contiguos y un carbono espiro (dos anillos unidos entre sí, por un solo átomo) en la posición 22. Además, también contiene un grupo alcohol (OH) en la posición 3β , y el metilo en 25 está en posición α (ecuatorial). En total, la diosgenina está formada por 27 átomos de carbono, 42 de hidrógeno y 3 de oxígeno ($C_{27}H_{42}O_3$).

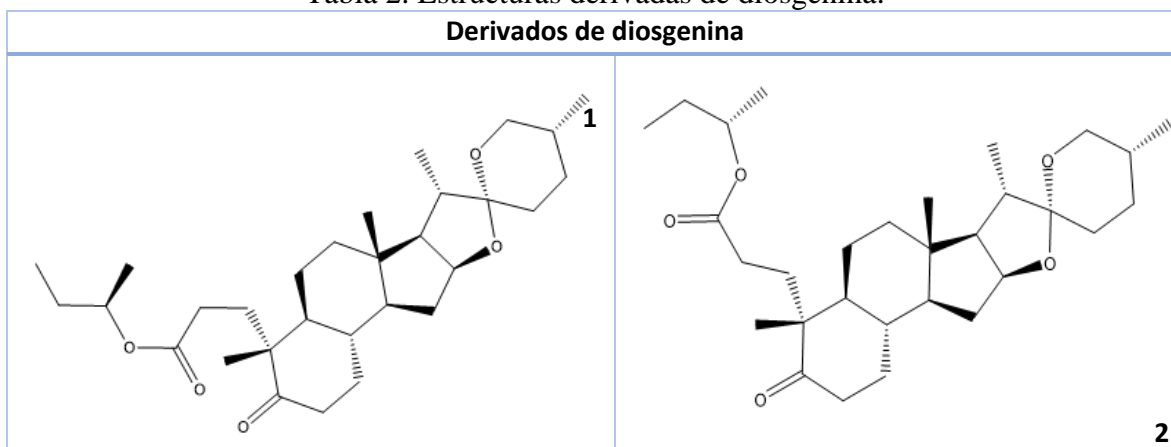
Por otra parte, la progesterona tiene en su esqueleto los cuatro anillos contiguos (Figura 13c) típicos de los esteroides. Sin embargo, el anillo A corresponde a una ciclohexenona debido a la presencia de una cetona en la posición 3 y un doble enlace en C4. En la posición 20 (anillo D) también contiene una cetona, dando resultado a una molécula con 21 átomos de carbono, 30 de hidrógeno y 2 de oxígeno ($C_{21}H_{30}O_2$).

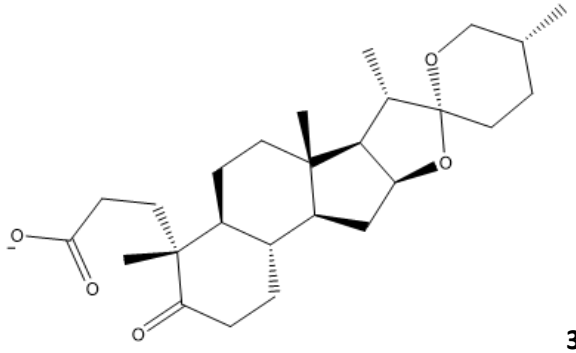
4.1 Análisis estructural de los derivados de diosgenina

Con la finalidad de analizar el efecto de la esterificación de diversos alcoholes se seleccionaron desde cadenas de 1 carbono hasta 6, incluyendo al fenol, como referente aromático. A continuación, se presentan las tablas que muestran las estructuras moleculares de cada uno de los derivados, tanto de diosgenina como de progesterona, que se utilizaron durante este estudio.

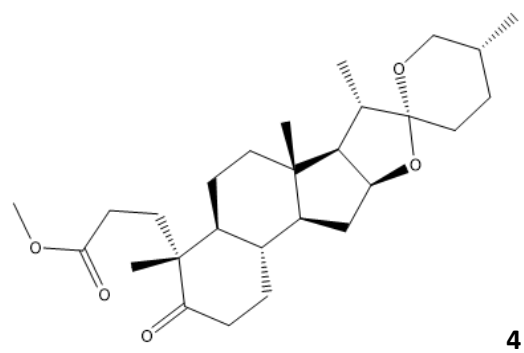
En la Tabla 2 se pueden observar veintidós estructuras distintas que se derivan de la diosgenina, cada una de ellas tiene el mismo esqueleto en su estructura y la misma configuración absoluta de los centros asimétricos presentes en él, sin embargo, difieren en la cadena alifática que se encuentra unida al éster en C-3, que correspondía al del anillo A.

Tabla 2. Estructuras derivadas de diosgenina.

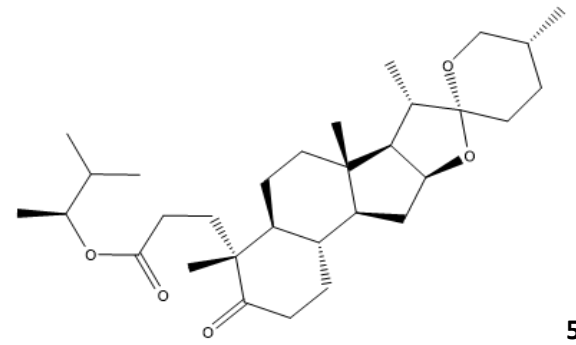




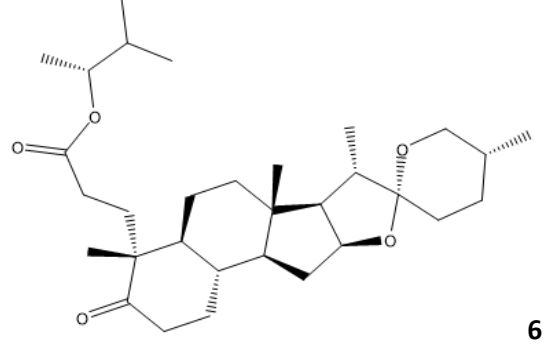
3



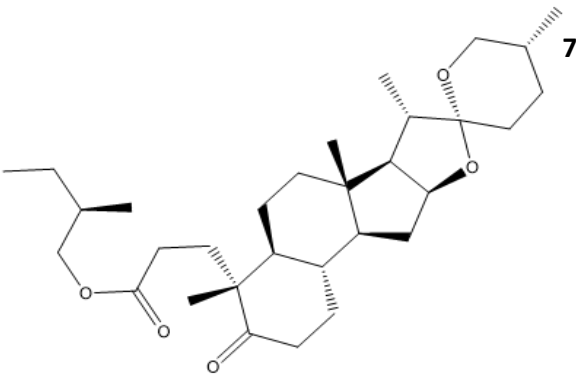
4



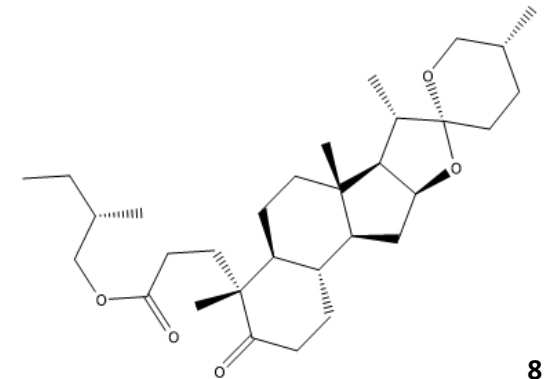
5



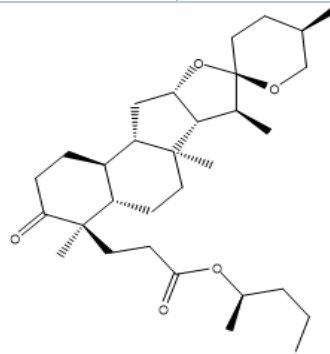
6



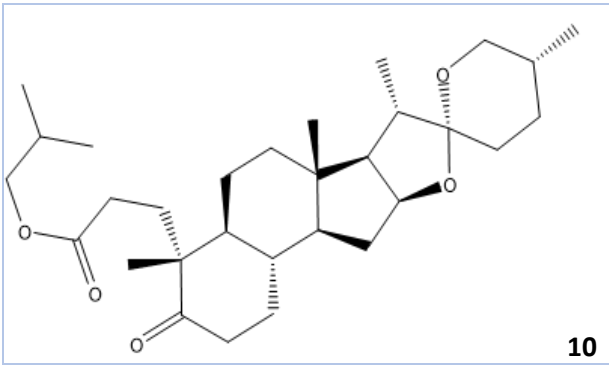
7



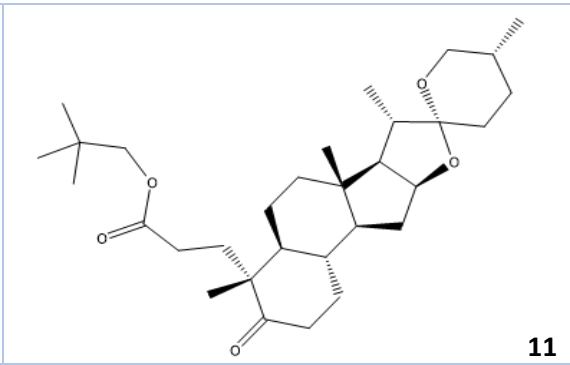
8



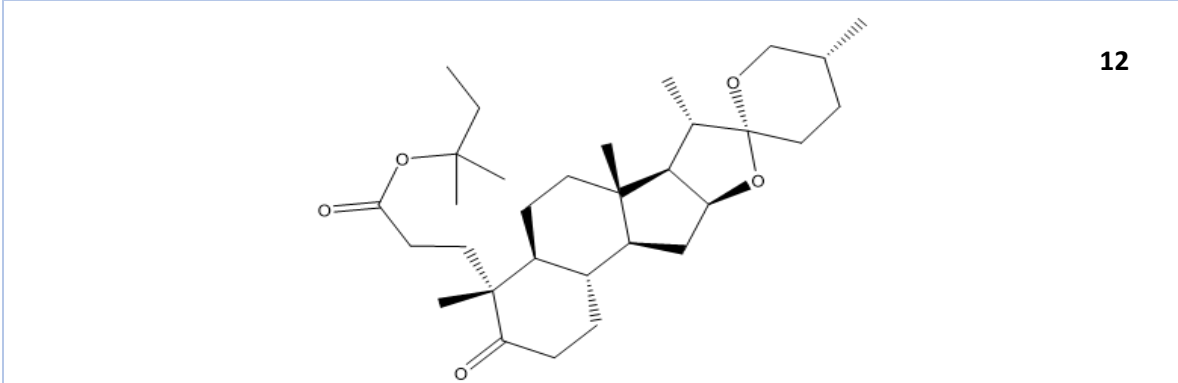
9



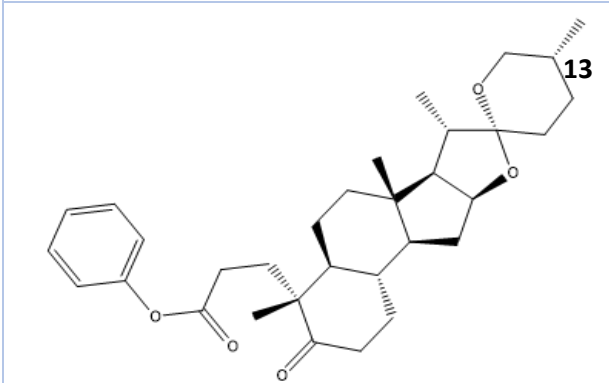
10



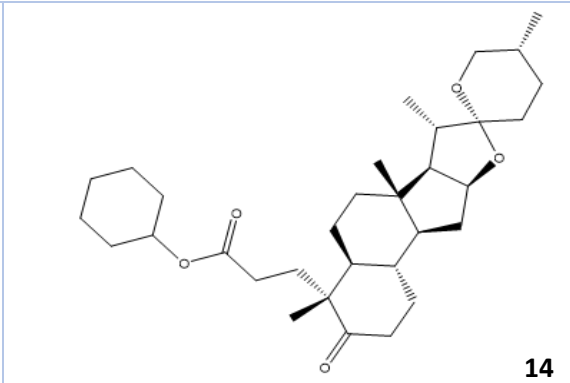
11



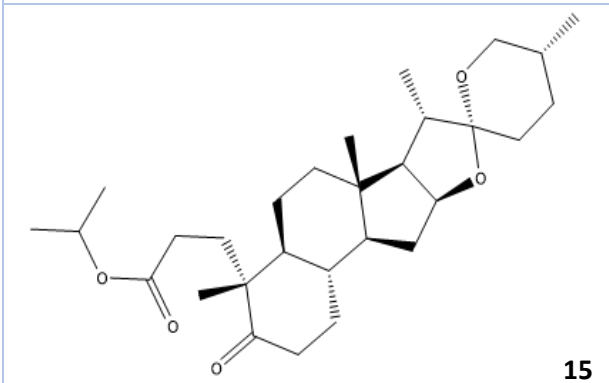
12



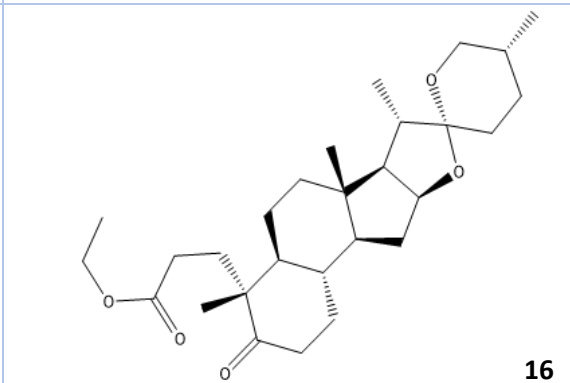
13



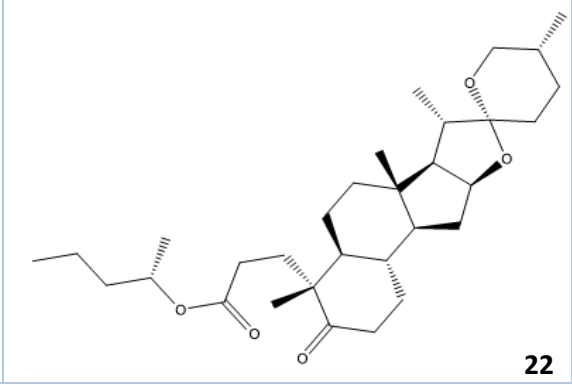
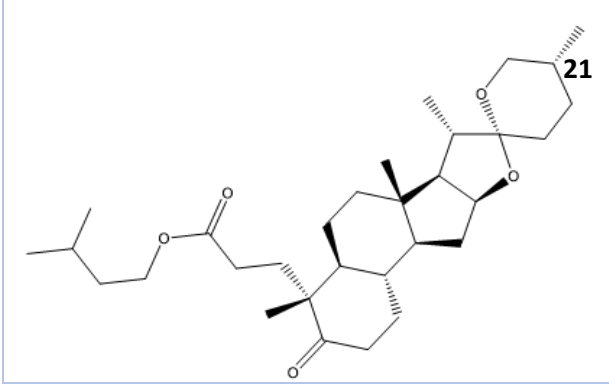
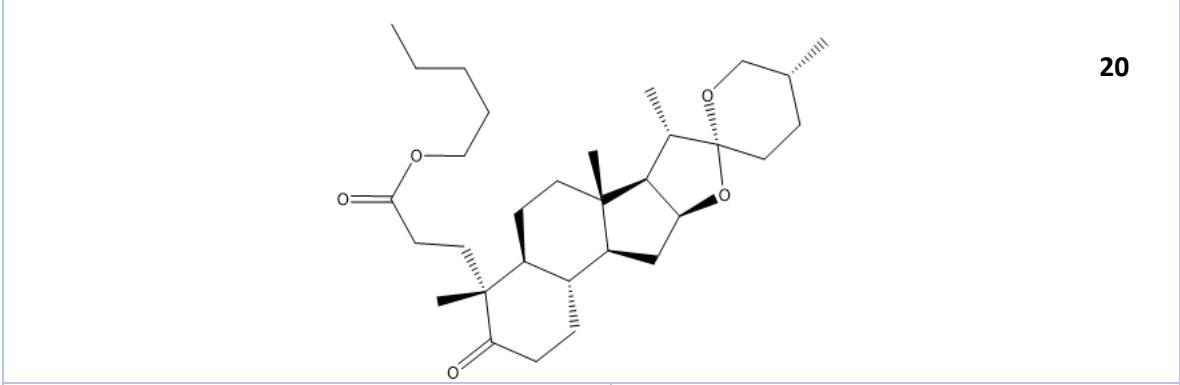
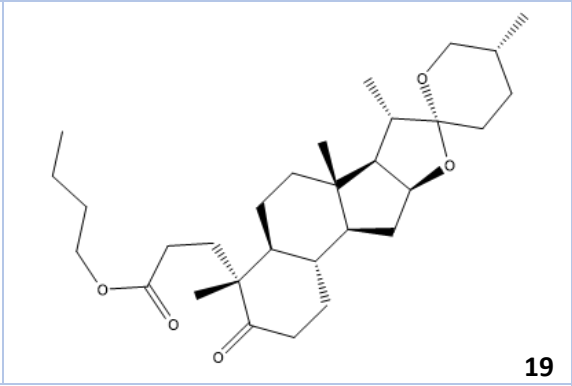
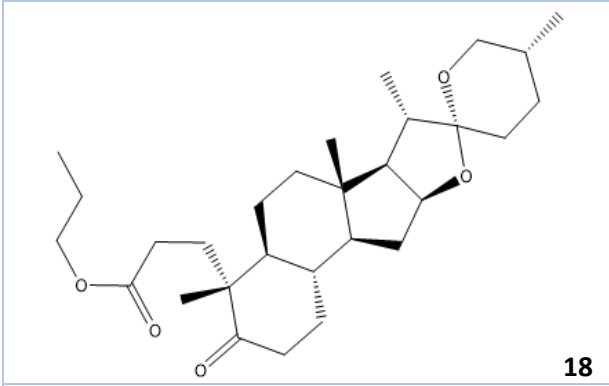
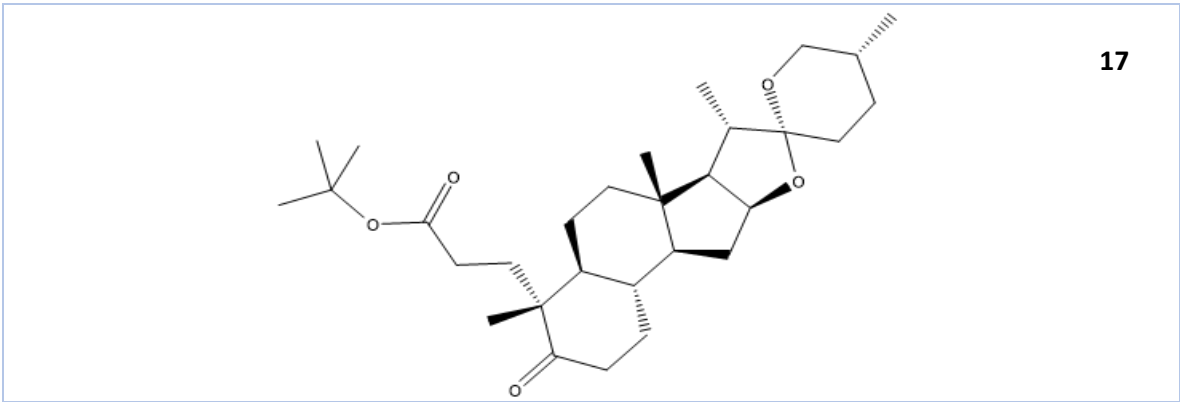
14



15



16



En las estructuras **1** y **2** se aprecia que el anillo A está fusionado entre C3 y C4, y que además perdieron el átomo de carbono C4. El átomo de carbono C3 contiene un grupo éster. El grupo alcohol esterificado corresponde al (*R*)- o (*S*)-2-metil-2-butanol, por lo cual las moléculas **1** y **2** son diastereoisómeros (Figura 14). Debido a dichas observaciones, se espera que las energías de acoplamiento sean distintas en cada una de estas dos estructuras.

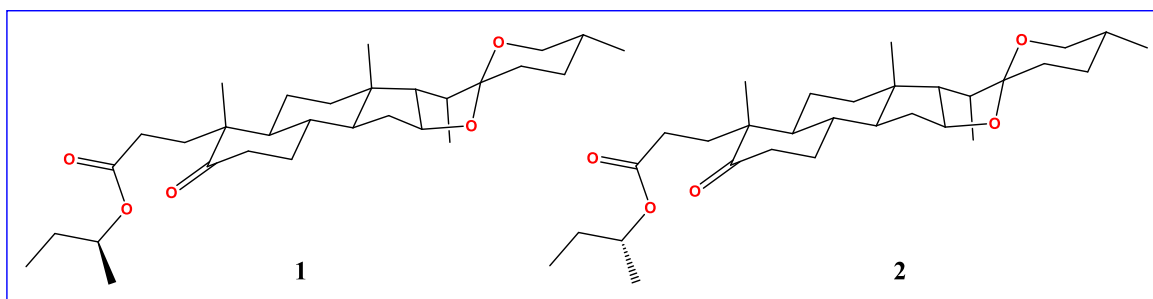


Figura 14. Estructuras en 3D de las moléculas **1** y **2** (derivados de diosgenina).

Las moléculas **3** y **4**, difieren entre sí, solo por la presencia de un carboxilato ($-\text{COO}^-$) en una, y un éster metílico ($-\text{CO}_2\text{Me}$) en la otra (Figura 15).

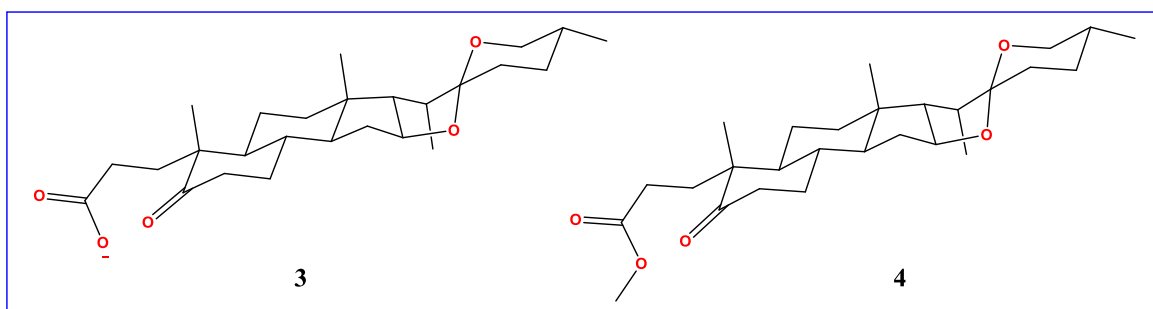


Figura 15. Estructuras en 3D de las moléculas **3** y **4** (derivados de diosgenina).

Las estructuras **5** y **6**, son igualmente diastereoisómeros. La molécula de alcohol formando parte del grupo éster es el (*S*)- o (*R*)-2-metil-2-butanol. (Figura 16).

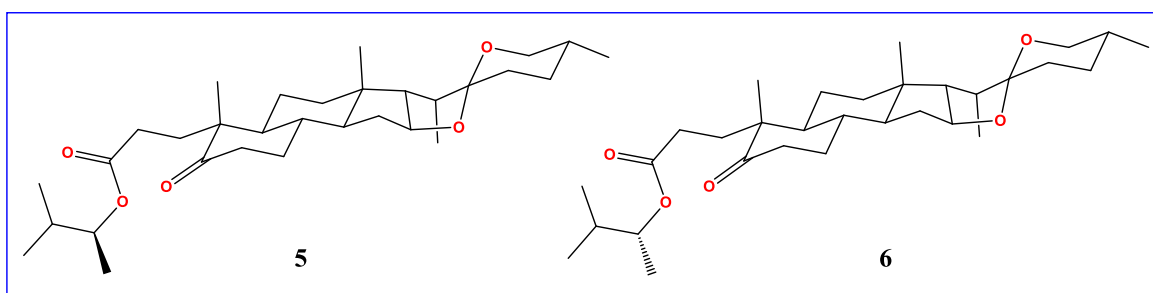


Figura 16. Estructuras en 3D de las moléculas **5** y **6** (derivados de diosgenina).

Las moléculas **7**, **8** y **9**, presentan un sustituyente de metilbutilo unido al éster, sin embargo, lo que las diferencia entre sí es tanto la posición del metilo como la configuración absoluta que presentan en dicho centro asimétrico, ya que en la molécula **7** hay un (*R*)-2-metilbutilo, en **8** un (*S*)-2-metilbutilo y, por último, en la molécula **9** hay un (*R*)-1-metilbutilo (Figura 17).

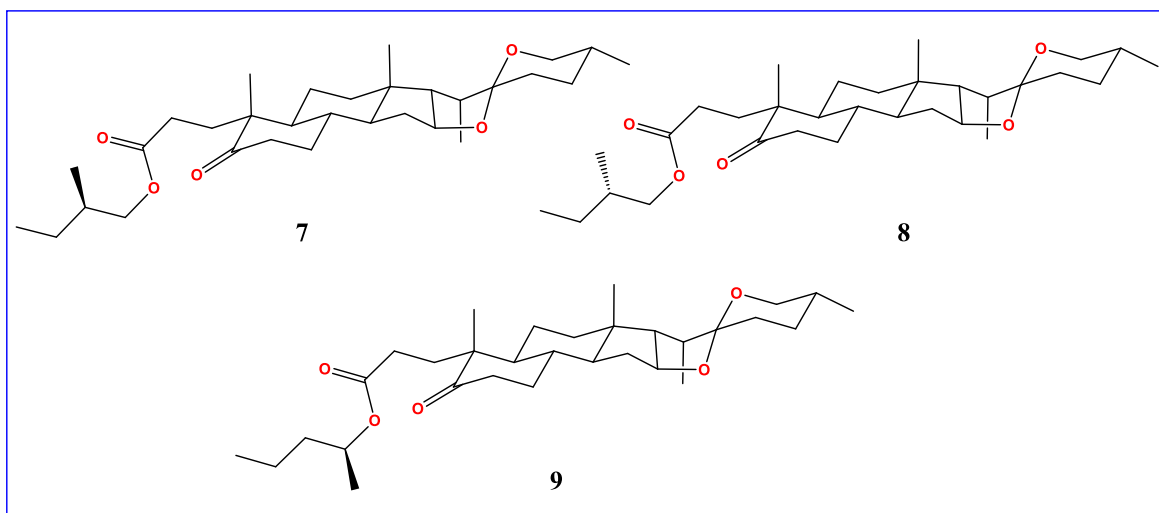


Figura 17. Estructuras en 3D de las moléculas **7**, **8** y **9**, respectivamente (derivados de diosgenina).

Las estructuras **10**, **11** y **12**, contienen el mismo número de carbonos en su cadena alifática unida al éster, siendo en todas un propilo, no obstante, unas de las características que las diferencia entre sí, es tanto el número de sustituyentes como la posición donde éstos se encuentran a lo largo de la cadena. Por ejemplo, **10** presenta un 2-metilpropilo (o isobutilo); **11** un 2,2-dimetilpropilo y, finalmente, **12** presenta un 1,1-dimetilpropilo (Figura 18).

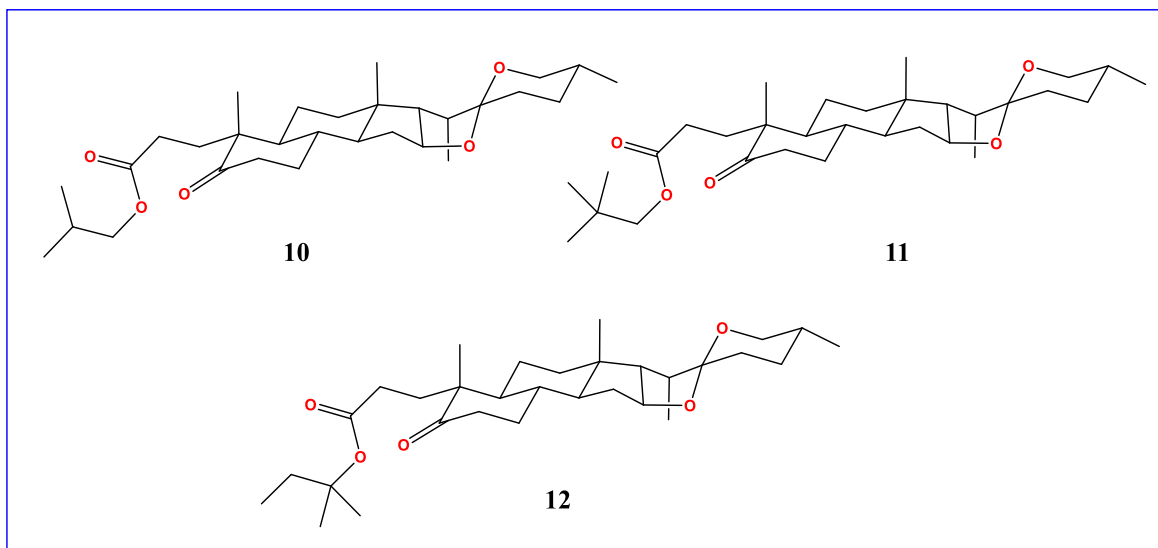


Figura 18. Estructuras en 3D de las moléculas **10**, **11** y **12** (derivados de diosgenina).

En las estructuras **13** y **14**, lo que las diferencia entre sí es el tipo de sustituyente que está unido al éster, en **13** se trata de un fenilo, mientras que en **14** es un ciclohexano (Figura 19).

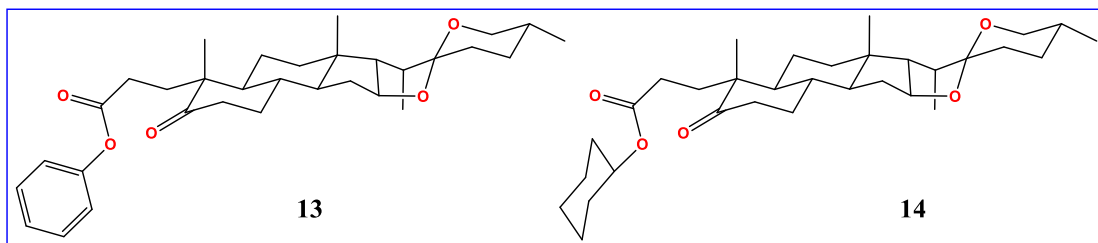


Figura 19. Estructuras en 3D de las moléculas **13** y **14** (derivados de diosgenina).

Por otra parte, la única diferencia que hay entre las moléculas **15**, **16** y **17**, es que en **15** hay un sustituyente de isopropilo unido al éster, mientras que en **16** se trata de un etilo y, por último, en **17** hay un 1,1-dimetiletilo unido a dicho éster, ver Figura 20.

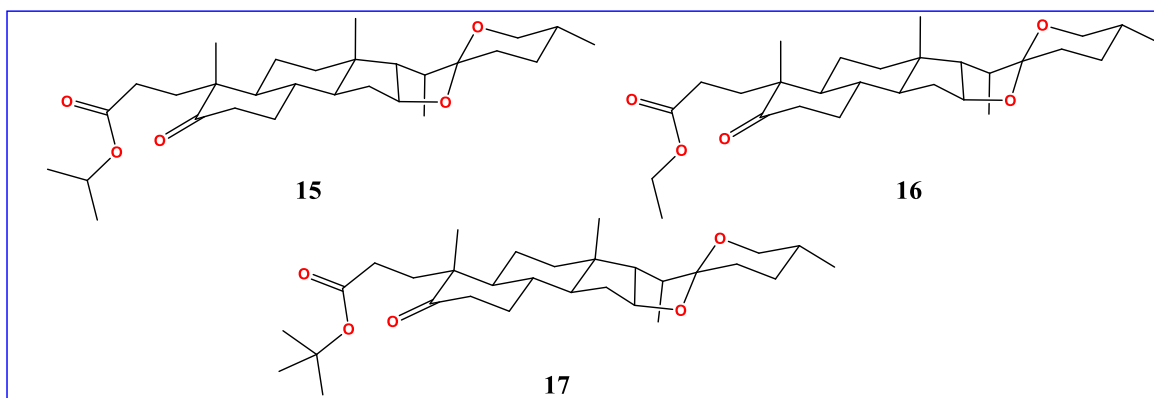


Figura 20. Estructuras en 3D de las moléculas **15**, **16** y **17** (derivados de diosgenina).

Asimismo, entre las moléculas **18**, **19** y **20**, la única diferencia es el tamaño de la cadena alifática unida al éster. En **18** hay un sustituyente de propilo, en **19** un butilo y en **20** un pentilo (Figura 21).

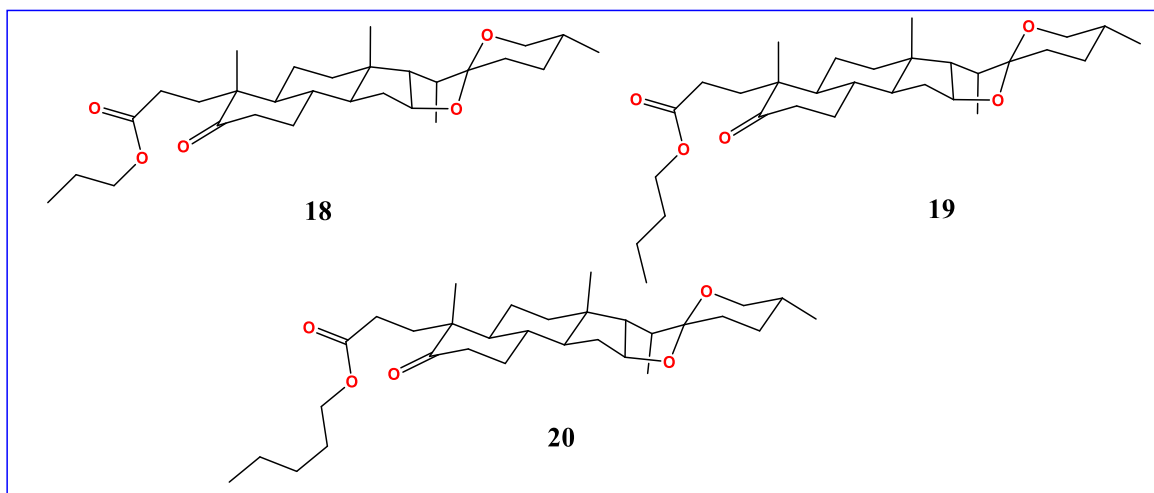


Figura 21. Estructuras en 3D de las moléculas **18**, **19** y **20** (derivados de diosgenina).

Finalmente, la molécula **21** difiere de la estructura **22** porque **21** no tiene centros asimétricos en su cadena alifática, ya que solo presenta un isopentilo unido al éster, sin embargo, **22** sí presenta un centro asimétrico en la posición 1 del butilo, siendo la configuración absoluta *S* para dicho centro asimétrico (Figura 22).

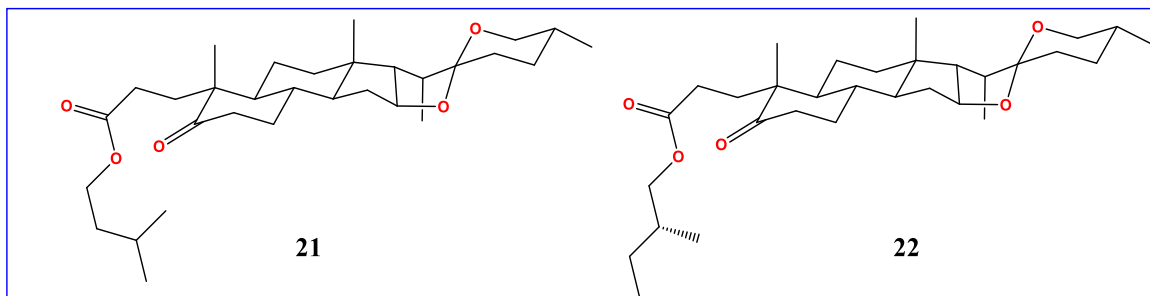
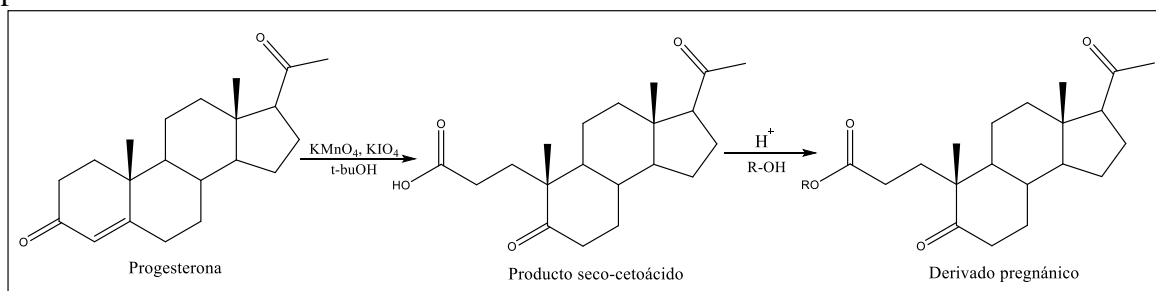


Figura 22. Estructura en 3D de las moléculas **21** y **22** (derivados de diosgenina).

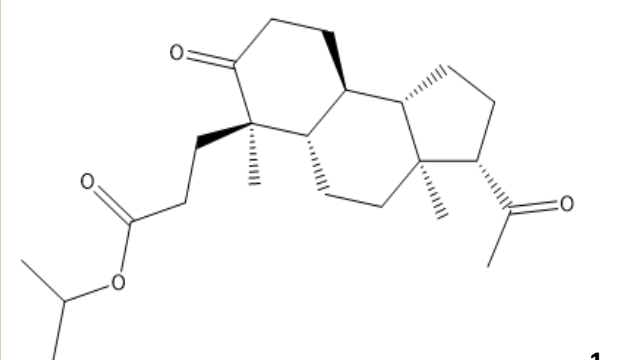
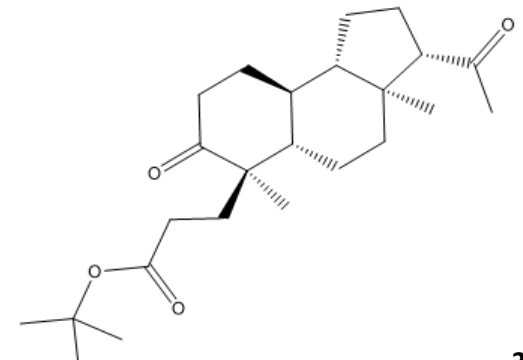
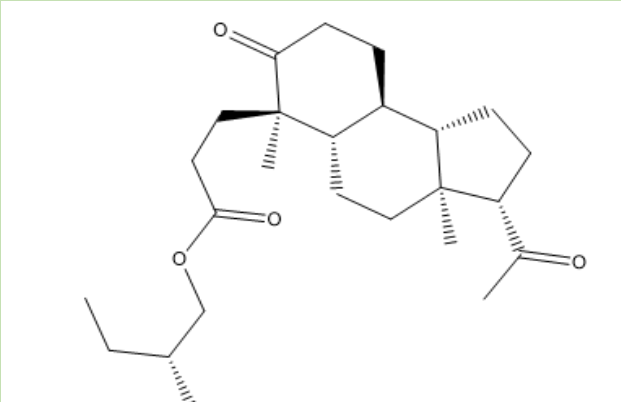
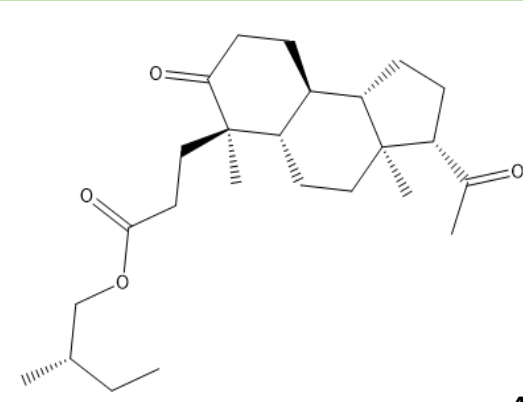
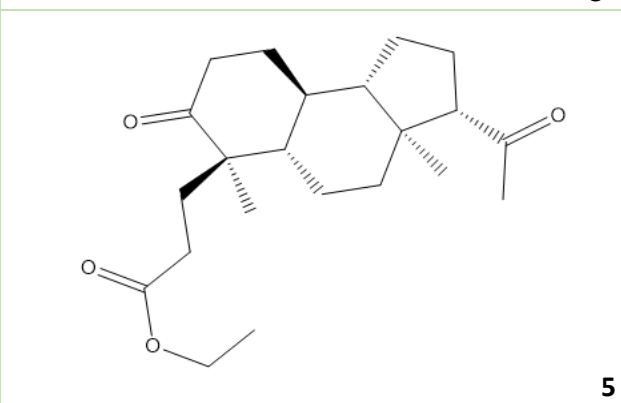
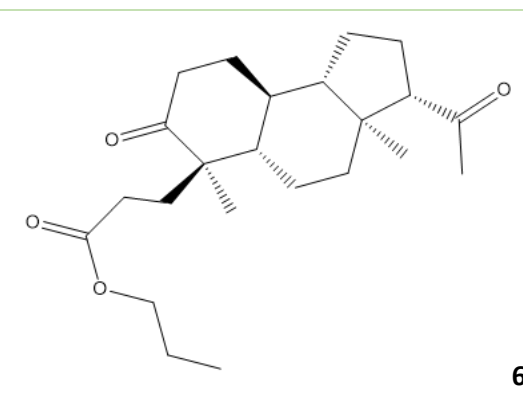
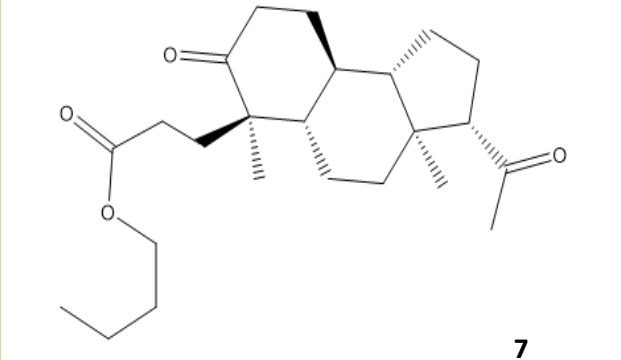
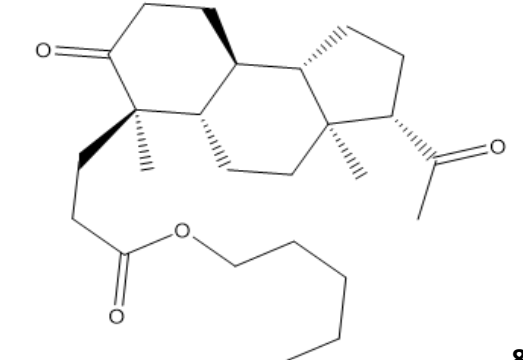
4.2 Análisis estructural de los derivados pregnánicos

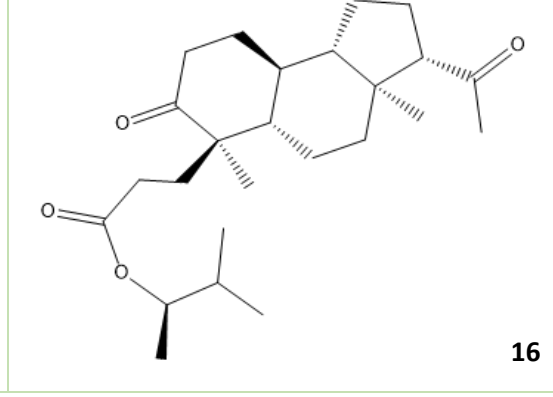
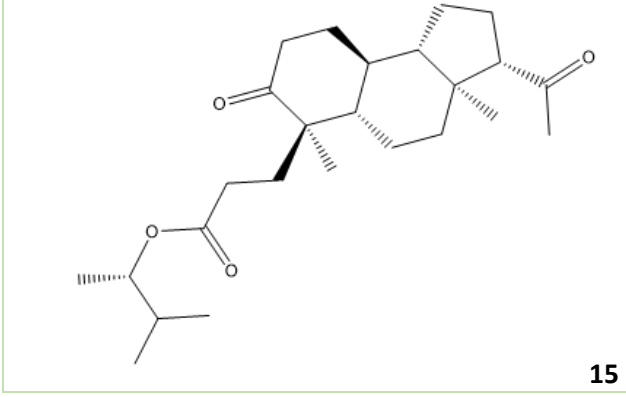
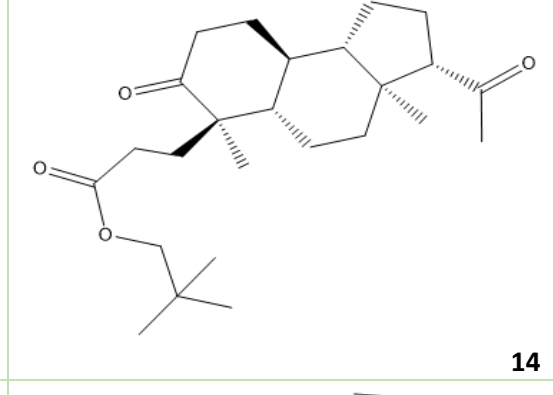
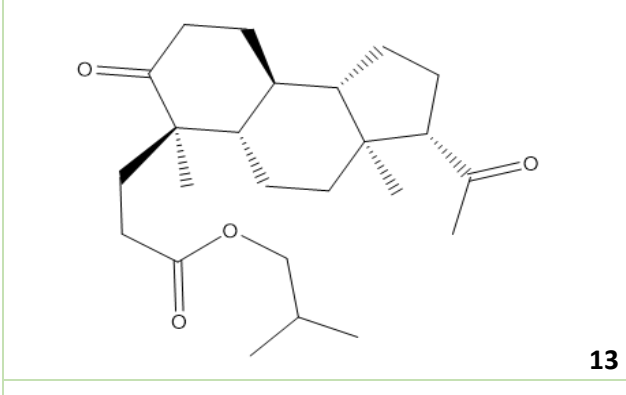
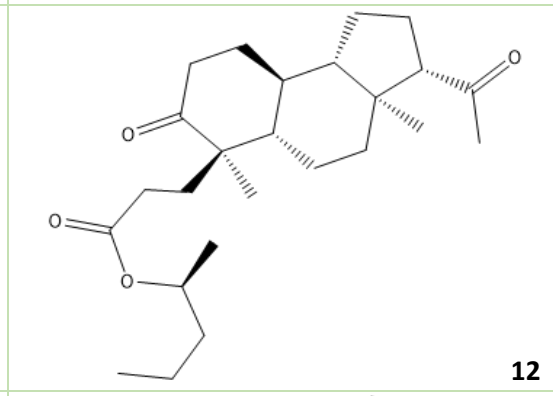
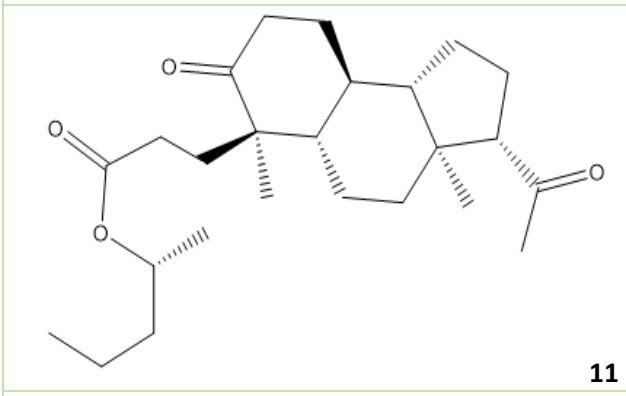
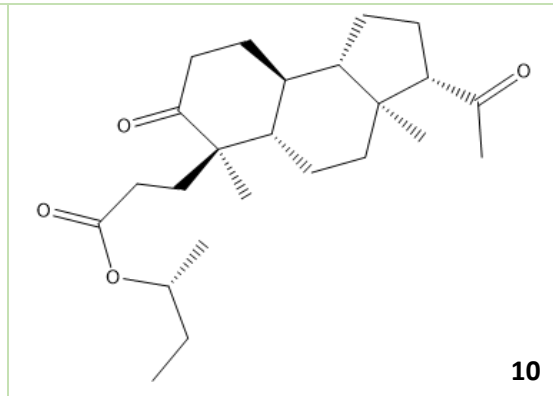
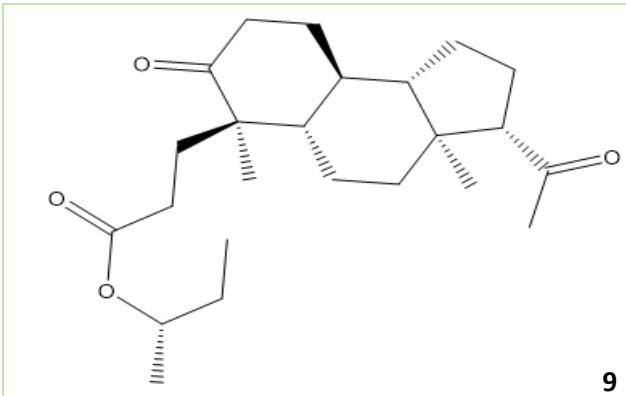
En la Tabla 3 se muestran veintidós estructuras distintas que se derivan de la progesterona y, de igual manera que en los derivados de diosgenina anteriormente analizados, cada una de las estructuras mostradas en la Tabla 3, tienen tanto el mismo esqueleto como la misma configuración absoluta de los centros asimétricos presentes en él, sin embargo, difieren en la cadena alifática que se encuentra unida al éster. Se hará referencia a todas las estructuras siguientes (**1-22**) como derivados pregnánicos, ya que aun cuando se derivan de la molécula de progesterona, se ha hecho la ruptura entre C4-C5 y se ha eliminado al C4 (ver Esquema 2), por lo que al final, ninguno presenta el esqueleto de progesterona y resulta favorable considerarlos como derivados pregnánicos. Todos los derivados pregnánicos provienen de productos seco-cetoácidos.

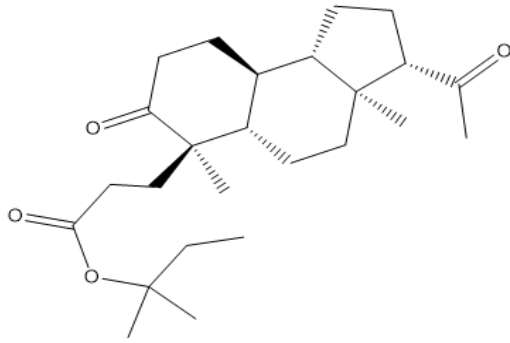


Esquema 2. Síntesis de derivados pregnánicos a partir de la progesterona.

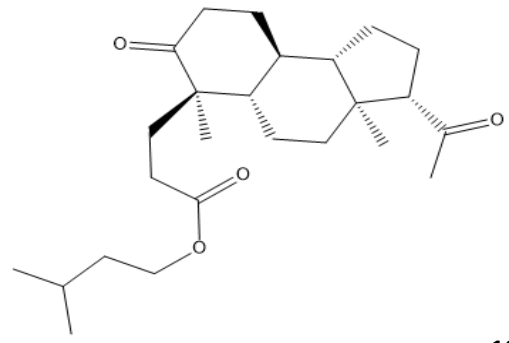
Tabla 3. Estructuras de algunos derivados pregnánicos.

Derivados pregnánicos	
	1
	2
	3
	4
	5
	6
	7
	8

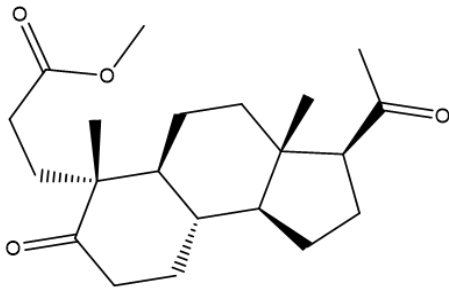




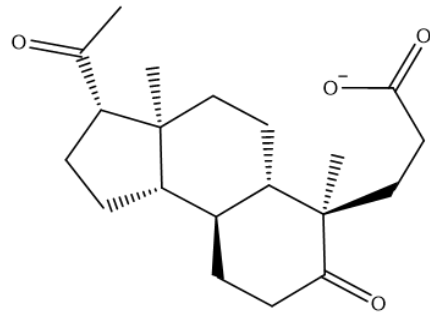
17



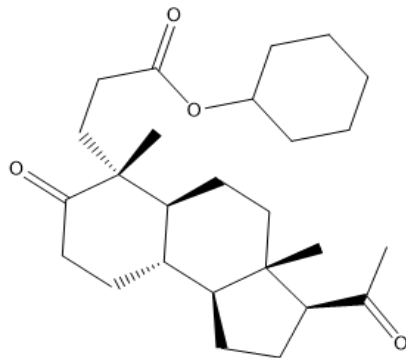
18



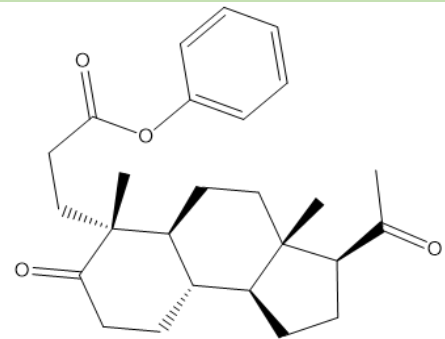
19



20



21



22

Las estructuras **1** y **2** (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) difieren entre sí en una cosa, ya que en **1** hay un metiletilo unido al éster, mientras que en la estructura **2**, la posición 1 del etilo contiene dos metilos (1,1-dimetiletilo), ver Figura 23.

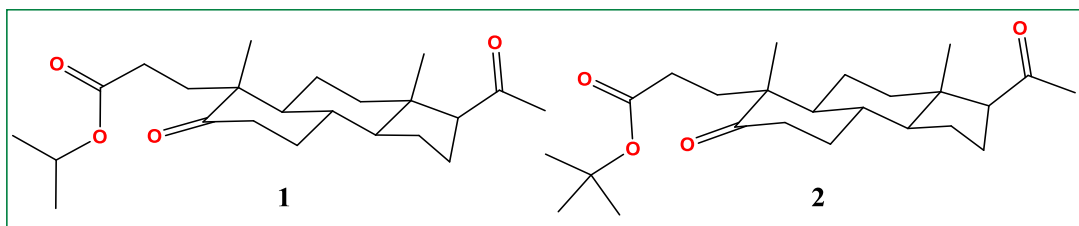


Figura 23. Estructuras en 3D de las moléculas **1** y **2** (derivados pregnánicos).

Las estructuras **3** y **4** tienen un butilo unido al éster y, en ambos casos, se trata de un 2-metilbutilo, pero con configuración absoluta *R* en **3** y *S* en **4** (ver Figura 24).

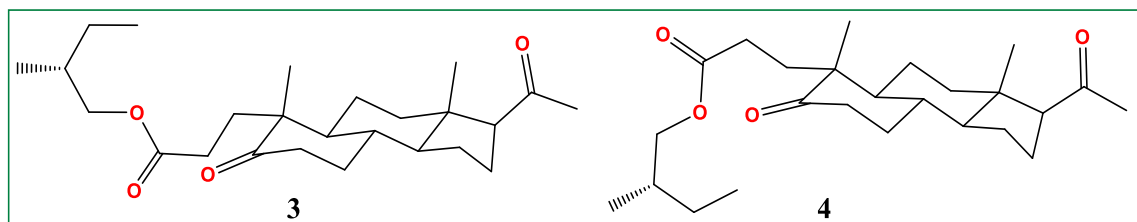


Figura 24. Estructuras en 3D de las moléculas **3** y **4** (derivados pregnánicos).

Por otra parte, las estructuras **5**, **6**, **7** y **8** solo difieren entre sí en el tamaño de la cadena alifática que está unida al éster, ya que tienen un etilo, un propilo, un butilo y un pentilo, respectivamente (Figura 25).

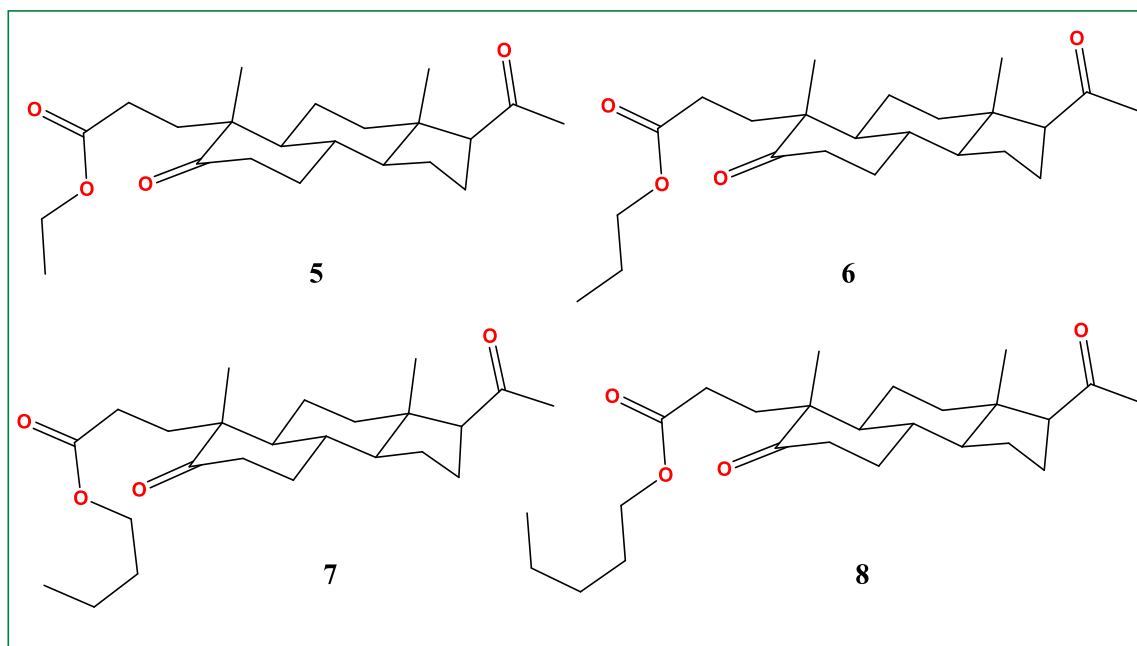


Figura 25. Estructuras en 3D de las moléculas **5**, **6**, **7** y **8** (derivados pregnánicos).

En el caso de las moléculas **9** y **10**, al mostrar sus estructuras en 3D, se puede observar que son diastereoisómeros, ya que lo único que cambia entre ambas es la orientación espacial del sustituyente de 1-metilpropilo, debido a que la configuración absoluta para el centro asimétrico en la posición 1 del propilo de la estructura **9** es *S*, mientras que en **10** es *R* (ver estructuras **9** y **10** en Figura 26).

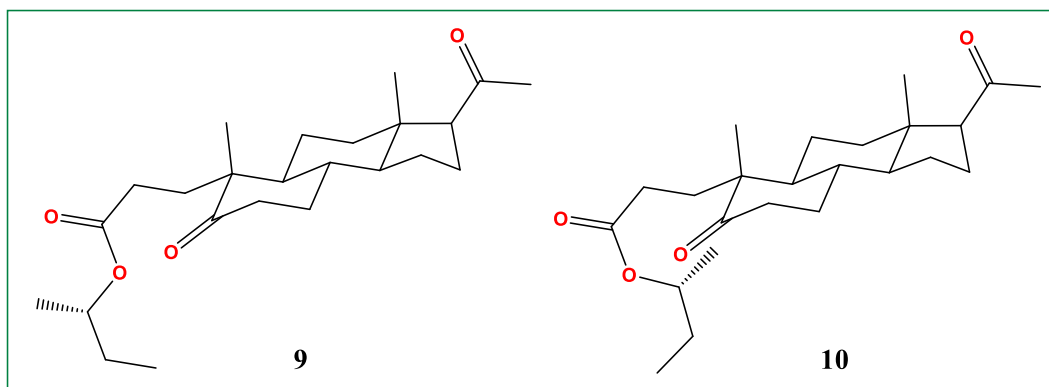


Figura 26. Estructuras en 3D de las moléculas **9** y **10** (derivados pregnánicos).

Por otro lado, las moléculas **11** y **12** tienen como sustituyente al 1-metilbutilo unido al éster, sin embargo, en **11** su centro asimétrico tiene una configuración absoluta *R* y en **12** es *S* (ver estructuras **11** y **12** en Figura 27).

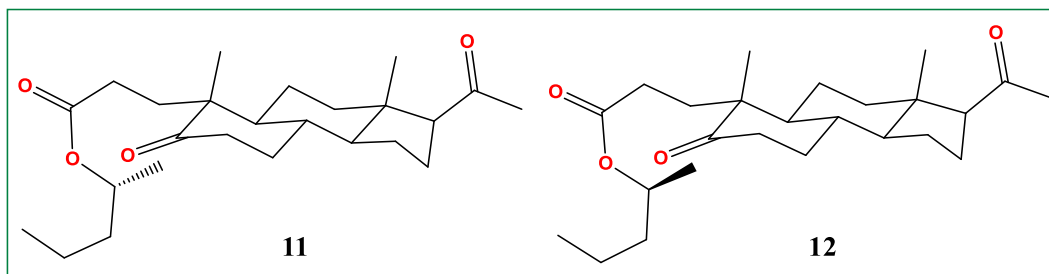


Figura 27. Estructuras en 3D de las moléculas **11** y **12** (derivados pregnánicos).

Las moléculas **13** y **14** solo se diferencian entre sí por el número de metilos que tienen en la posición 2 del sustituyente de propilo unido al éster, ya que en **13** se trata de un 2-metilpropilo (o isobutilo), mientras que en **14** hay un 2,2-dimetilpropilo (Figura 28).

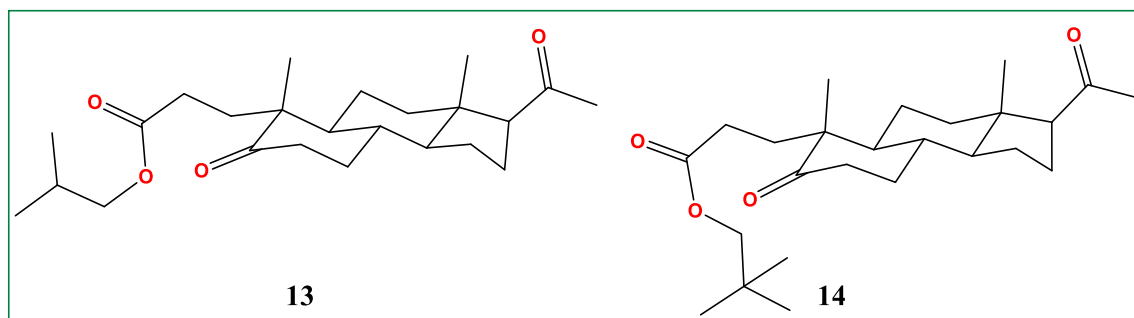


Figura 28. Estructuras en 3D de las moléculas **13** y **14** (derivados pregnánicos).

Asimismo, las moléculas **15** y **16** difieren entre sí por la configuración absoluta que tienen en la posición 1 de la cadena alifática unida al éster, ya que en ambas estructuras se trata de un 1,2-dimetilpropilo, no obstante, en **15** el C-1 tiene una configuración absoluta (*S*)-, mientras que en **16** es (*R*)-dimetilpropilo (Figura 29).

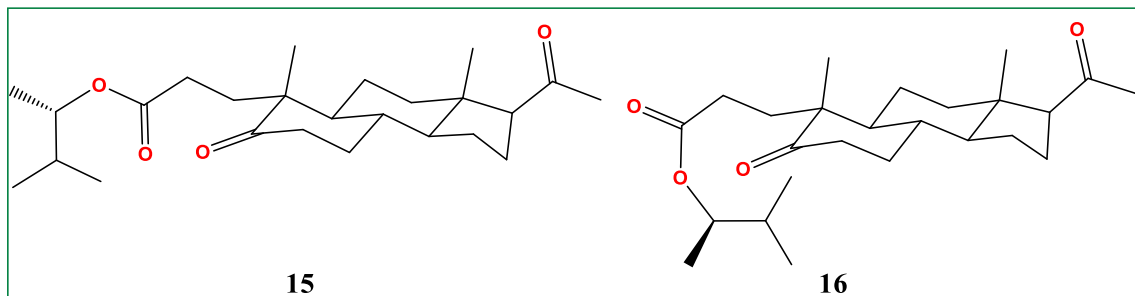


Figura 29. Estructuras en 3D de las moléculas **15** y **16** (derivados pregnánicos).

Las estructuras **17** y **18** solo difieren entre sí porque en el caso de **17**, el sustituyente alcohólico del éster deriva del 2-metil-2-butanol, mientras que en **18** deriva del 3-metilbutanol (Figura 30).

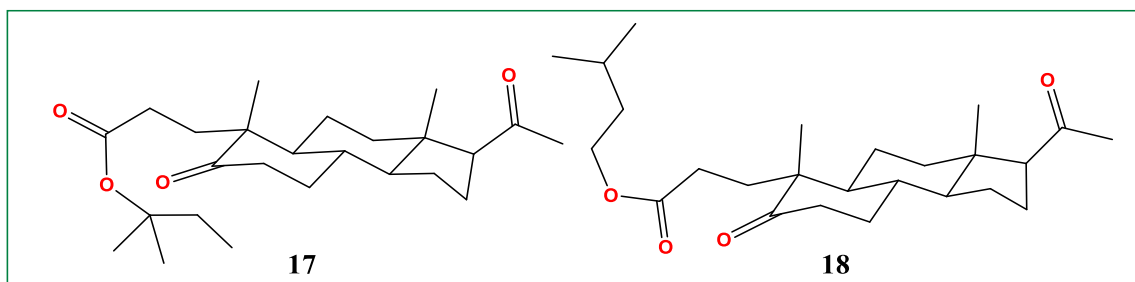


Figura 30. Estructuras en 3D de las moléculas **17** y **18** (derivados pregnánicos).

Las moléculas **19** y **20** únicamente se diferencian entre sí debido a que, mientras la estructura **19** presenta un metilo como sustituyente del éster, la estructura **20** solo tiene al anión carboxilato (COO^-), ver Figura 31.

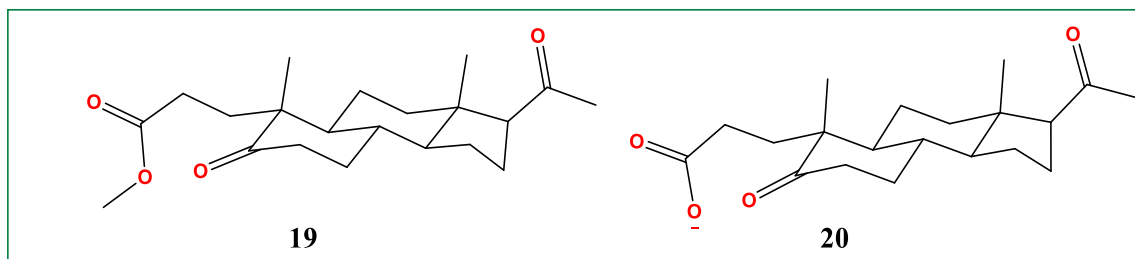


Figura 31. Estructuras en 3D de las moléculas **19** y **20** (derivados pregnánicos).

Finalmente, las estructuras moleculares **21** y **22**, se diferencian entre sí solo por el tipo de sustituyente que tienen unido al éster, ya que en **21** hay un ciclo de seis eslabones saturado (ciclohexano), mientras que en **22** hay un grupo aromático, que en este caso es el fenilo, ver Figura 32.

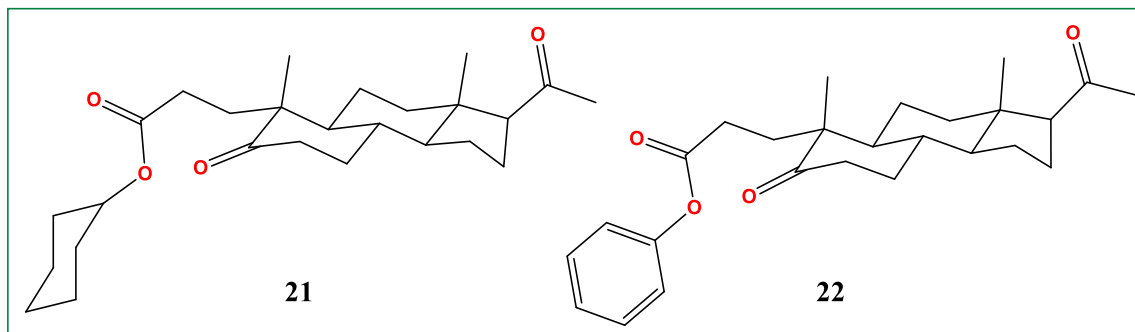


Figura 32. Estructuras en 3D de las moléculas **21** y **22** (derivados pregnánicos).

4.3 Rectas numéricas que muestran las energías de acoplamiento (kcal/mol) de los derivados de diosgenina y de pregnano

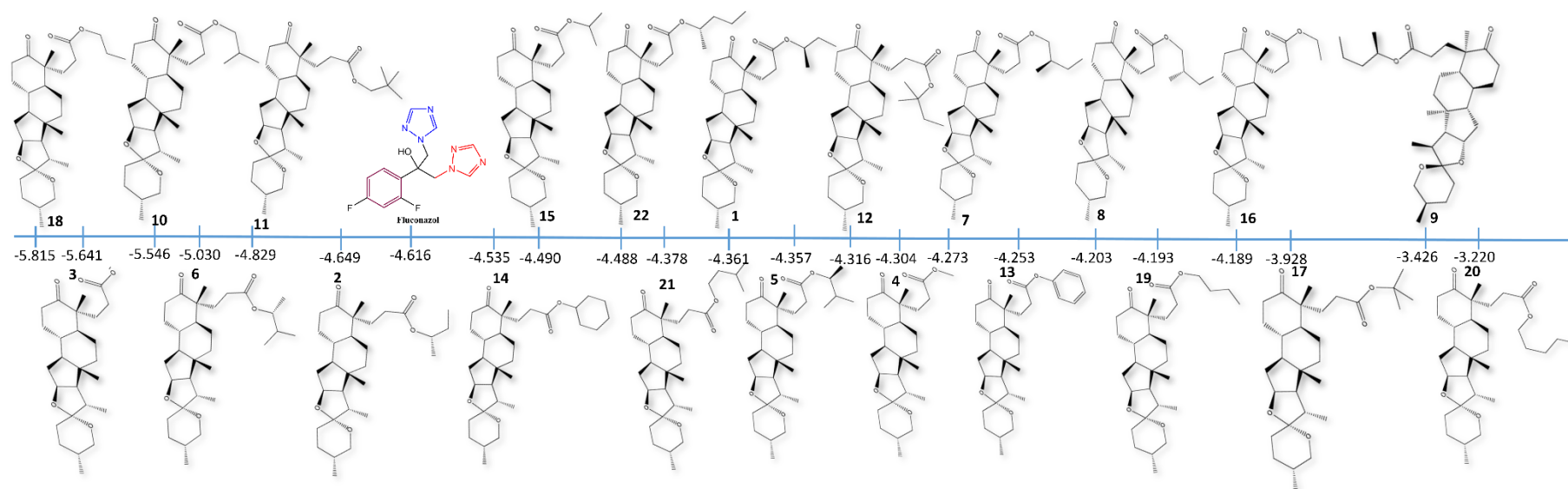


Figura 33. Recta numérica de energías de acoplamiento (kcal/mol) para los derivados de diosgenina, tomando como referencia al fluconazol.

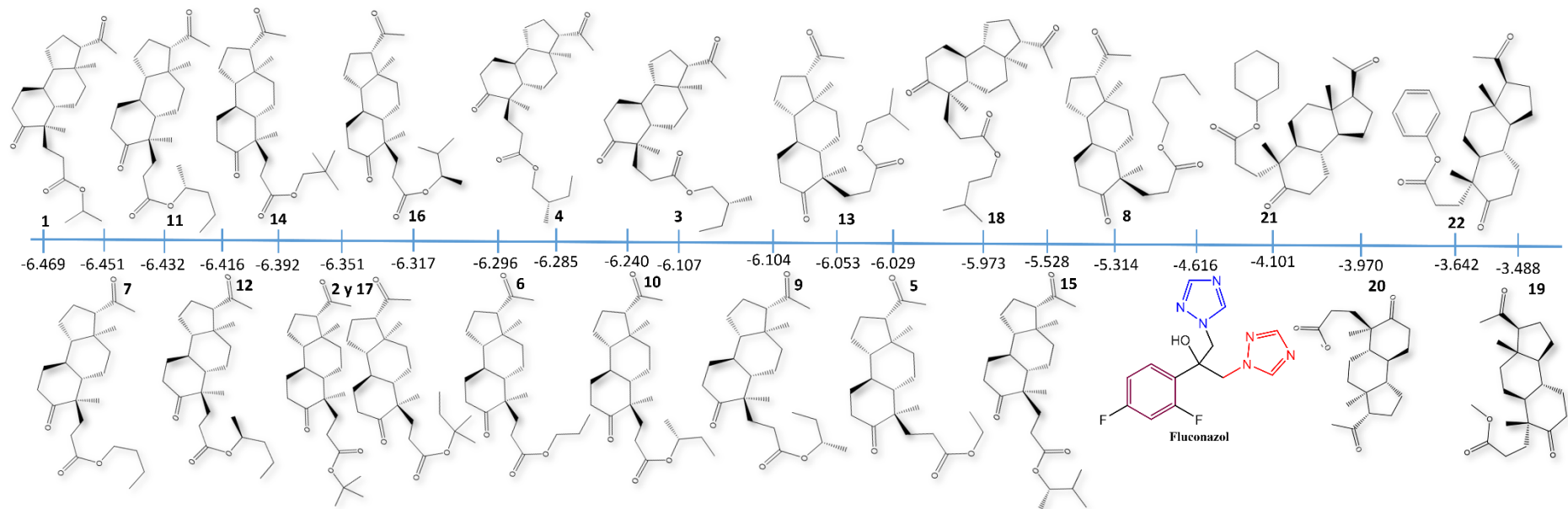


Figura 34. Recta numérica de energías de acoplamiento (kcal/mol) para los derivados pregnánicos, tomando como referencia al fluconazol.

4.4 Recta numérica de los derivados de diosgenina y de pregnano que presentaron una mejor energía de acoplamiento que la del fluconazol

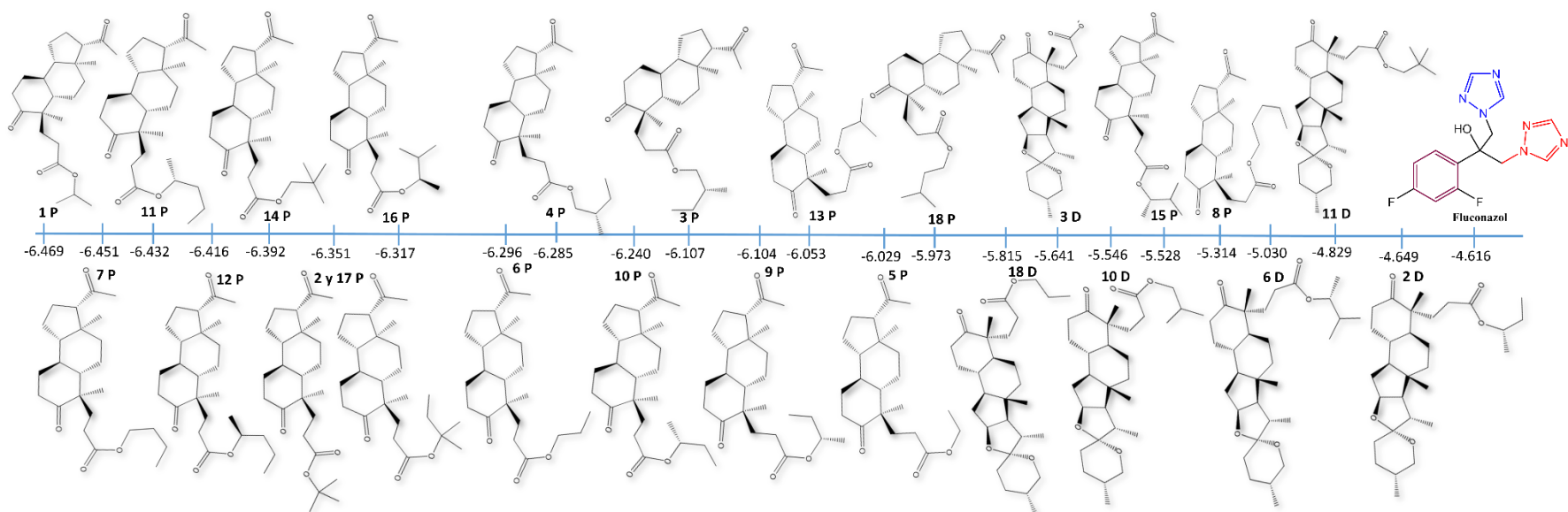


Figura 35. Recta numérica en donde se muestran los derivados pregnánicos y de diosgenina que resultaron tener mejores energías de acoplamiento (en kcal/mol) que el fluconazol.

En las figuras 33 y 34 se observan las rectas numéricas que muestran las distintas energías de acoplamiento que presentaron cada uno de los derivados de diosgenina y de pregnano, respectivamente, en donde el valor de la molécula del Fluconazol (-4.616) es el dato de referencia que servirá para comparar las demás energías de acoplamiento.

De ambas rectas numéricas se puede llegar a la premisa de que, aquellas moléculas que mostraron mayor afinidad y un acoplamiento mucho más favorable con la enzima CYP51 que el Fluconazol, pertenecen a la mayoría de los derivados pregnánicos (Figura 34). Es decir, de 44 moléculas que se analizaron para realizar este estudio, solo seis derivados de diosgenina presentaron una mejor energía de acoplamiento que el Fluconazol, mientras que en el caso de los derivados pregnánicos, fueron diecisiete moléculas las que presentaron un acoplamiento más favorable con la enzima CYP51, que el Fluconazol. Esto se resume en la recta numérica de la Figura 35, en donde se muestran las 23 moléculas en total, que presentaron una mejor energía de acoplamiento que el Fluconazol, cada una de ellas está etiquetada con el número que le corresponde, junto con la inicial de la molécula base a la que pertenece: P para indicar que son derivados pregnánicos y D para los derivados de diosgenina.

Para poder explicar el acoplamiento proteína-ligando, es necesario observar y analizar el tipo de interacción que tiene cada una de las moléculas propuestas en el presente trabajo, con el sitio activo de la enzima, por ello, también es necesario analizar la naturaleza de ésta última.

4.5 Análisis estructural del citocromo P450 estero 14 α -desmetilasa

Las proteínas P450 poseen secuencias primarias muy diversas, razón por la cual se clasifican en familias dependiendo de su identidad de secuencia aminoacídica, por ejemplo, proteínas con un 40% de identidad o más, se clasifican en la familia CYP1, CYP2, etc., mientras que aquellas con un 55% o más, se clasifican en una misma subfamilia de CYP1A1, CYP1A2, etc. Sin embargo, la familia CYP51 resulta ser muy especial debido a que, con una identidad de aminoácidos baja (de 25-30%) mantienen una conservación funcional estricta en la actividad enzimática de todos los reinos biológicos, al catalizar la misma reacción de tres pasos de eliminación oxidativa del metilo en la posición 14 α del lanosterol.

La secuencia aminoacídica del estero 14 α -desmetilasa se obtuvo de la base de datos Protein Data Bank (PDB) con el código 5TZ1 y con número de identificación P10613; tal secuencia de aminoácidos corresponde a la estructura cristalina de estero 14 α -desmetilasa (CYP51) de *Candida albicans* en complejo con el candidato a fármaco antifúngico basado en tetrazol VT1161 (VT1). La Figura 36 muestra dicha secuencia que da lugar a la estructura primaria de la proteína y su ordenamiento exacto determina los niveles superiores de organización, por tanto, el conocimiento de la secuencia de aminoácidos es del mayor interés para el estudio de la estructura y función de la proteína.

53	63	73	83	93	103
KKTPPLVFYW	IPWFGSAASY	GQQPYEFFES	CRQKYGDVFS	FMLLGKIMTV	YLGPKGHEFV
113	123	133	143	153	163
FNAKLSDVSA	EEAYKHLTTP	VFGTGVYDC	PNSRLMEQKK	FAKFALTTDS	FKRYVPKIRE
173	183	193	203	213	223
EILNYFVTDE	SFKLKEKTHG	VANVMKTQPE	ITIFTASRSL	FGDEMRRIFD	RSFAQLYSDL
233	243	253	263	273	283
DKGFTPINFV	FPNLPLPHYW	RRDAAQKKIS	ATYMKEIKLR	RERGDIDPNR	DLIDSLLIHS
293	303	313	323	333	343
TYKDGVKMTD	QEIANLLIGI	LMGGQHTSAS	TSAWFLLHLG	EKPHLQDVIY	QEVVELLKEK
353	363	373	383	393	403
GGDLNDLTYE	DLQKLPSVNN	TIKETLRMHM	PLHSIFRKVT	NPLRIPETNY	IVPKGHYVLV
413	423	433	443	453	463
SPGYAHTSER	YFDNPEDFDP	TRWDTAAAKA	NSVSFNSSDE	VDYGFGKVS	GVSSPYLPFG
473	483	493	503	513	523
GGRHRCIGE	FAYVQLGTIL	TTFVYNLRWT	IDGYKVPDPD	YSSMVVLPTE	PAEIIWEKRE
TCMFHHHH					

Figura 36. Secuencia de aminoácidos de la estero 14 α -desmetilasa.

La estructura cuaternaria del estero 14 α -desmetilasa se obtuvo a partir del código PDB (5TZ1) y con el uso del centro de bioinformática de Proteins Plus, la cual es una plataforma que permite obtener datos específicos de las proteínas en estudio. Con ayuda de esta plataforma, se pudieron conocer los sitios en donde se encontraban los pockets de unión de los ligandos en toda la proteína, así como el volumen, la superficie y el potencial farmacológico que presenta cada uno de ellos, además de utilizar como referencia el sitio de unión del inhibidor comercial.

La Tabla 4 muestra algunos de los pockets de unión más relevantes del citocromo P450 esterol 14 α -desmetilasa, en dicha tabla se puede observar que los pockets de unión están ordenados de manera decreciente respecto al potencial farmacológico (Drug Score), siendo el más relevante el primero (en color lila), con un valor de 0.93. Sin embargo, aun cuando éste presenta un potencial farmacológico elevado, su volumen es de 1146.28 Å³, el cual es mucho mayor a los demás pockets a excepción del sexto (en color amarillo), ya que tiene un volumen de 1219.94 Å³, por tanto, éste será el más útil al momento de realizar el acoplamiento molecular debido a que tiene tanto mayor volumen como superficie que el primero (ver Tabla 4).

Tabla 4. Regiones de unión (pockets) más relevantes del citocromo P450 α -desmetilasa.

Nombre	Volumen Å ³	Área Å ²	Potencial farmacológico
P_0	1219.94	1081.97	0.81
P_0_0	1146.28	1064.01	0.93
P_1	977.71	771.03	0.82
P_1_0	766.16	766.16	0.84
P_2	665.34	748.49	0.83
P_3	645.68	732.11	0.84

En Proteins Plus se obtuvo la imagen 3D de la estructura cuaternaria del citocromo P450 esterol 14 α -desmetilasa, la cual está cristalizada en manera de dímero (Figura 37a), aunque esta enzima no trabaja como tal. La Figura 37b, muestra en color lila y amarillo los sitios más importantes en los que es más probable que se unan tanto los fármacos azoles, como los posibles antifúngicos esteroidales diseñados para este estudio. Los sitios de unión son cavidades que se encuentran en la superficie o en el interior de la proteína y poseen propiedades adecuadas para el acoplamiento proteína-ligando. Es evidente que ambos sitios se encuentran en la misma zona de la enzima, por ello, en la Figura 37c y d, se muestran dichos sitios de unión de manera individual para poder observarlos mejor. Cabe resaltar que, como se mostró en la Tabla 4, el sitio de unión con mayor volumen y área de superficie es el de color amarillo y la Figura 37, lo confirma.

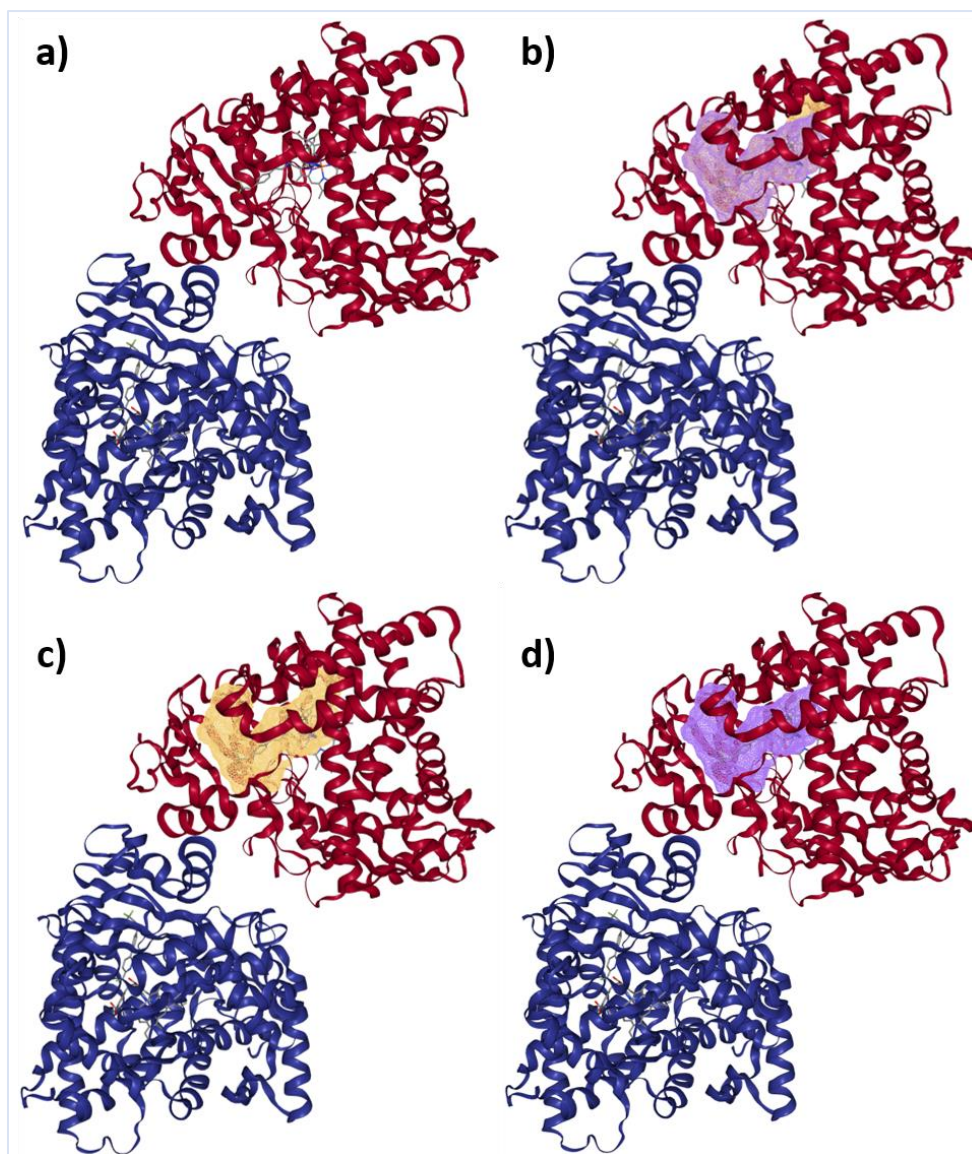


Figura 37. a) Estructura cuaternaria de la esterol 14 α -desmetilasa, b) enzima con los dos sitios de unión más relevantes, c) enzima con el sitio de unión mayor volumen y superficie; y d) enzima con el pocket de menor volumen y superficie.

La plataforma de Proteins Plus también permitió obtener información específica acerca de la cantidad y del tipo de aminoácidos, grupos funcionales, interacciones moleculares y átomos presentes en ambos sitios de unión. La información mostrada en la Tabla 5 corresponde al sitio de unión principal, mientras que la Tabla 6 corresponde a los descriptores del sitio de unión secundario.

Tabla 5. Descriptores del sitio de unión principal (de color amarillo).

Pocket principal			
Descriptores de tamaño y forma		Descriptores de elementos	
Volumen [\AA^3]	1219.94	#átomos de pocket	262
Superficie [\AA^2]	1081.97	# C	200
Profundidad [\AA]	27.16	# N	28
		# O	31
		# S	2
		# Otros elementos	1
Descriptores de gpos. Funcionales		Composición aminoacídica	
# Donadores de puentes de H	14	Relación aa apolar	50%
# Aceptores de puentes de H	59	Relación aa polar	32%
# Metales	1	Relación aa positiva	12%
# Interacciones hidrofóbicas	53	Relación aa negativa	4%
# Relación de hidrofobicidad	0.42		

Tabla 6. Descriptores del sitio de unión secundario (de color lila).

Pocket secundario			
Descriptores de tamaño y forma		Descriptores de elementos	
Volumen [\AA^3]	1146.28	#átomos de pocket	239
Superficie [\AA^2]	1064.01	# C	182
Profundidad [\AA]	24.18	# N	26
		# O	28
		# S	2
		# Otros elementos	1
Descriptores de gpos. Funcionales		Composición aminoacídica	
# Donadores de puentes de H	14	Relación aa apolar	50%
# Aceptores de puentes de H	53	Relación aa polar	33%
# Metales	1	Relación aa positiva	11%
# Interacciones hidrofóbicas	53	Relación aa negativa	4%
# Relación de hidrofobicidad	0.44		

De acuerdo con la información expuesta en las Tablas 5 y 6, nuevamente se confirma que el sitio de unión mostrado en color amarillo en la Figura 37c, corresponde al pocket principal debido a que, además de presentar un volumen y un área de superficie mayores que el pocket en color lila, también contiene un mayor número tanto de átomos como de grupos

funcionales, los cuales permitirán obtener una mayor interacción con las moléculas propuestas, además por la naturaleza del lanosterol y derivados modificados por esta enzima se focaliza este sitio como objetivo de estudio. Asimismo, con base a la información obtenida en las Tablas 5 y 6, se pueden predecir los tipos de interacción que estarán presentes con mayor frecuencia, debido al tipo de aminoácidos y grupos funcionales que conforman a la proteína. Por ejemplo, en el sitio de unión principal existen 14 grupos funcionales capaces de donar un puente de hidrógeno y 59 capaces de aceptarlos; mientras que el pocket secundario contiene 14 grupos funcionales donadores de puentes de hidrógeno, pero solo 53 aceptores de éste mismo. Por otra parte, en vista del tipo de aminoácidos que conforman al pocket principal, éste presenta una relación polar menor a la del pocket secundario ($0.32 < 0.33$), pero muestra una relación aminoacídica positiva mayor que la del pocket secundario ($0.12 > 0.11$).

En la Tabla 7 se muestran los aminoácidos que conforman a ambos sitios de unión, así como la cantidad que hay de cada uno de ellos. Se puede observar que la cantidad de los distintos aminoácidos coinciden en ambos sitios de unión, esto es debido a que los dos se encuentran en la misma zona de la proteína (ver Figura 37b), sin embargo, el pocket principal al presentar un mayor volumen y área de superficie tendrá más aminoácidos, por lo que se remarca en negritas los aminoácidos que difieren en cantidad entre ambos pockets de unión; éstos son: Alanina (2:1), Glutamina (1:0), Isoleucina (4:3) y Lisina (3:2), destacando un alto carácter hidrófobo, congruente con los esteroides que se unen al sitio, así como con el uso de esteres esteroidales como candidatos a inhibición.

Tabla 7. Tipos de aminoácidos presentes en los sitios de unión primario (amarillo) y secundario (lila).

Aminoácido	#	#	Aminoácido	#	#
ALA	2	1	LEU	6	6
ARG	0	0	LYS	3	2
ASN	1	1	MET	3	3
ASP	1	1	PHE	4	4
CYS	0	0	PRO	3	3
GLN	1	0	SER	3	3
GLU	1	1	THR	2	2
GLY	4	4	TRP	0	0
HIS	3	3	TYR	5	5
ILE	4	3	VAL	3	3

Existen distintos tipos de aminoácidos de acuerdo con la naturaleza de los grupos R que tenga cada uno: polares sin carga, no polares alifáticos o aromáticos, con carga negativa o positiva. Conocer la naturaleza de cada clase de aminoácidos es importante, ya que al momento de

realizar los acoplamientos moleculares entre proteína-ligando, las interacciones dependerán de los grupos funcionales que estén presentes en ambas. No obstante, se ha reportado que las interacciones más comunes son las hidrofóbicas, puentes de hidrógeno y apilamientos π - π , mientras que los puentes de hidrógeno débiles, puentes salinos, apilamientos de amida y las interacciones catión- π , son menos comunes en los acoplamientos proteína-ligando, aunque no menos importantes.

4.6 Análisis de las interacciones entre la CYP51 y el antifúngico fluconazol (fármaco de referencia)

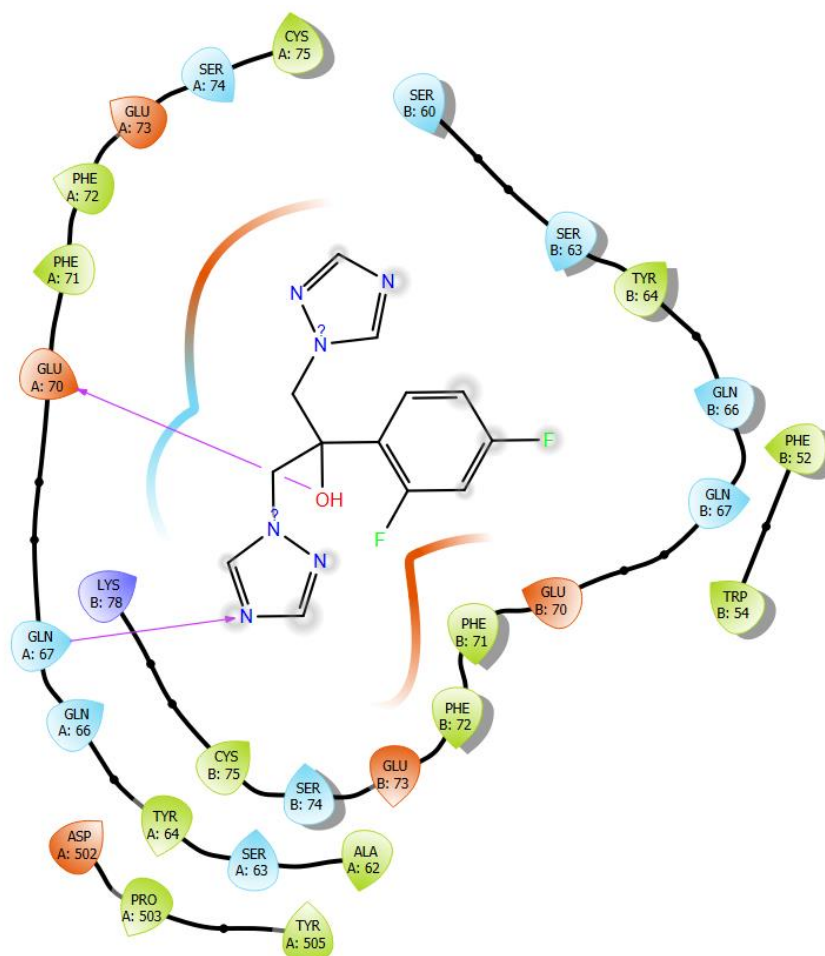


Figura 38. Interacciones entre la CYP51 y el fármaco (ligando) Fluconazol (FCZ).

Con base a la estructura primaria del esteroil 14 α -desmetilasa, se puede hacer un análisis de las interacciones presentes entre la proteína y el bloqueador comercial que, en este caso, se trata del Fluconazol; éste antifúngico pertenece al grupo de los triazoles debido a que en su estructura contiene dos anillos de cinco eslabones, en donde 3 de ellos son nitrógenos (N) y 2 son carbonos (C). En la Figura 38 se puede observar que el Fluconazol presentó algunas interacciones polares en el sitio de unión de la proteína. La Glutamina-67 (GLN) está interaccionando con el nitrógeno que se encuentra en la posición 4 de uno de los 1,2,4-triazoles, esta interacción está formando un puente de hidrógeno entre el grupo amino (-NH₂) de la Glutamina y el N-sp² del triazol, siendo uno el donador y otro el aceptor de puente de hidrógeno, respectivamente. De igual manera, entre el alcohol (-OH) del Fluconazol y el carboxilato (-COO⁻) del Ácido Glutámico-70 (GLU-70), hay una interacción por puente de hidrógeno, donde el alcohol es el donador y el grupo carboxilato es el aceptor del puente de hidrógeno. Por otra parte, existen ambientes cargados negativamente en la zona donde están

los aminoácidos de GLU-73A, GLU-70B y GLU-73B, cerca del 1,2,4-triazol y el difluorofenil del Fluconazol. Con los aminoácidos de PHE (71B y 72B) existe la posibilidad de que haya una interacción por apilamiento π - π , ya que tanto la Fenilalanina como el difluorofenil y el 1,2,4-triazol contienen un anillo aromático en su estructura, lo que puede causar que exista dicha interacción no covalente entre ambos anillos aromáticos debido a los enlaces π que están presentes. De hecho, en general casi el 50% de todas las interacciones de apilamiento- π se han observado entre el anillo aromático de la fenilalanina y el anillo aromático de algún ligando en estudio [42]. Sin embargo, para ambos casos (PHE71-difluorofenil; y PHE72-1,2,4-triazol) se deben tomar en cuenta las distancias que hay entre el aminoácido y la parte correspondiente de la molécula de Fluconazol debido a que, para que existan interacciones por apilamiento π - π , deben estar a una distancia menor o igual a 4Å ($\leq 4\text{Å}$). Asimismo, entre el otro anillo de triazol y el Ácido Glutámico-73A (GLU-73, cadena A) se forma un ambiente de tipo no polar.

En general, se obtuvo una energía de acoplamiento de -4.616 al estudiar la interacción entre el citocromo P450 esterol 14 α -demetilasa y el fármaco antifúngico Fluconazol. Dicho valor se tomará como referencia para comparar las energías de acoplamiento de las estructuras moleculares propuestas a partir de la Diosgenina y la Progesterona.

Nota: Las interacciones polares se muestran en color azul, mientras que las no polares se muestran en color rojo. Los aminoácidos están representados en diferentes colores dependiendo de su naturaleza: Azul \rightarrow Polar, Verde \rightarrow Hidrofóbica, Rojo \rightarrow Con carga negativa (-), Violeta \rightarrow Con carga positiva (+). Todas las energías de acoplamiento están dadas en kcal/mol.

4.7 Análisis de las interacciones entre la CYP51 y derivados pregnánicos y de diosgenina que presentaron una mejor energía de acoplamiento que la del fluconazol

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #1

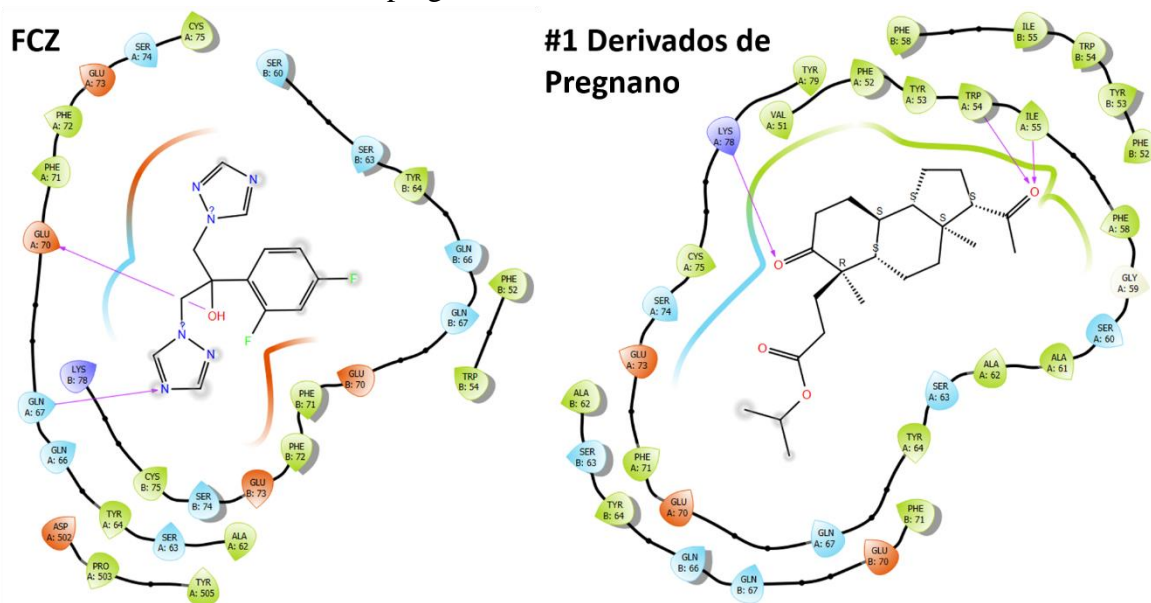


Figura 39. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #1 de los derivados pregnánicos (1P en la Figura 35).

En la Figura 39, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #1 de los derivados pregnánicos (“1P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-1P fue la mejor de todas las que se obtuvieron entre los derivados de diosgenina y de pregnano, teniendo un valor de -6.469, el cual es mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se muestra en la Figura 39, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 1P, que aquellas que se mostraron entre CYP51-FCZ. La razón por la cual hay una mayor interacción es debido a que existe una mayor cantidad de grupos funcionales en el derivado pregnánico #1, tales como ésteres y cetonas, los cuales evidentemente no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 1P contiene centros asimétricos, los cuales son de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando. En la Figura 39 se puede observar que existen tres interacciones por puentes de hidrógeno, una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que

son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura. Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #1 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como la Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona puede estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}. Por otra parte, el aminoácido de Serina-74 (SER-74) forma un ambiente polar cerca de la cetona en C-5 y alrededor del sustituyente en C-10 que contiene al éster, ya que la SER-74 tiene un alcohol (-OH) en su estructura, el cual provoca una interacción dipolo-dipolo con el oxígeno del grupo carbonilo del éster de la molécula 1P. Asimismo, la CYS-75 al tener un grupo amino (-NH₂) podría formar un dipolo-dipolo con el oxígeno de la cetona en la posición 5.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #7

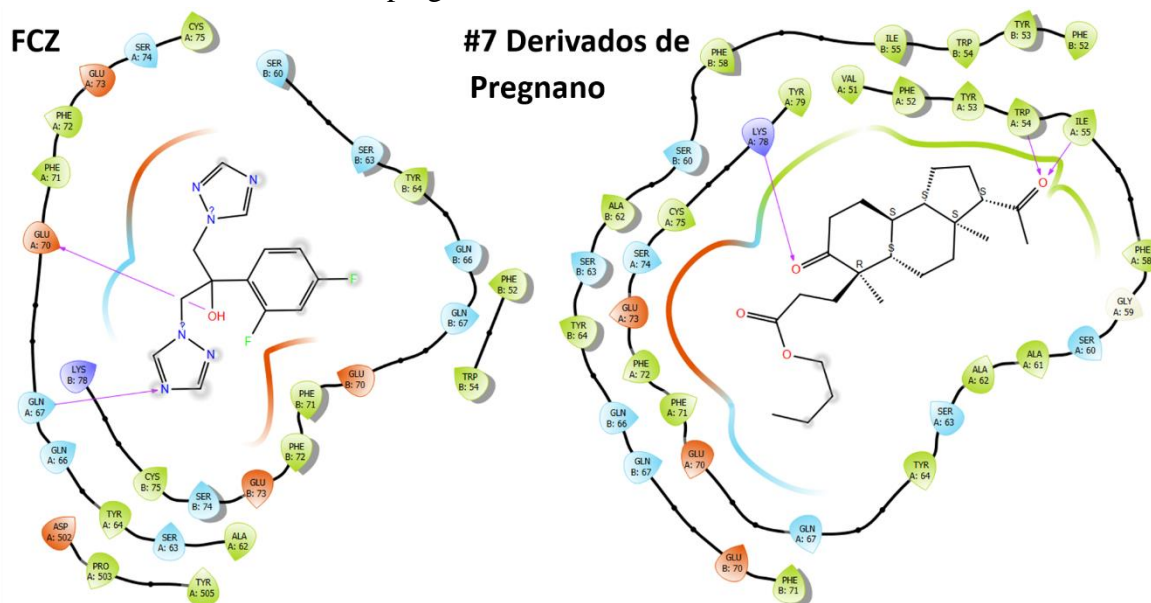


Figura 40. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #7 de los derivados pregnánicos (7P en la Figura 35).

En la Figura 40, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #7 de los derivados pregnánicos (“7P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-7P fue la segunda mejor de todas las que se obtuvieron entre los derivados de diosgenina y de pregnano, teniendo un valor de -6.451, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 40, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 7P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #7 (7P) tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y

etonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 7P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 40 se muestran casi las mismas interacciones que se presentaron en la Figura 39, ya que también se pueden observar las tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino ($-NH_2$) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino ($-NH_2$) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #7 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como TYR-79, Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones $C_{aromático}-C_{alifático}$, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre $C_{alifático}-C_{alifático}$.

La Serina-60B (SER-60, cadena B) y la cetona ($C=O$) en la posición 5 del esqueleto de pregnano, podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que la Serina contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5. Finalmente, alrededor de la cadena alifática de butilo que está unida al éster se observa un ambiente polar, esto es por la presencia de GLN-67B, ya que, al ser un aminoácido de naturaleza polar, forma un ambiente de este tipo en dicha zona.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #11

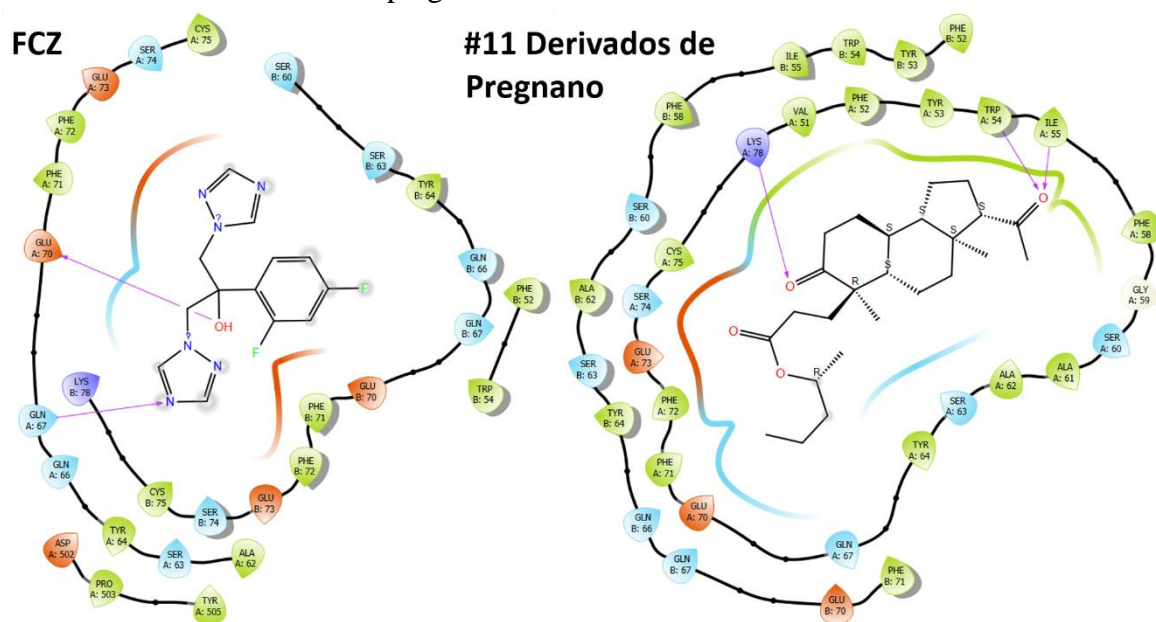


Figura 41. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #11 de los derivados pregnánicos (**11P** en la Figura 35).

En la Figura 41, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #11 de los derivados pregnánicos (“**11P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-11P fue la tercera mejor de todas las que se obtuvieron entre los derivados de diosgenina y de pregnano, teniendo un valor de -6.432, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 41, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 11P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #11 (11P) tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 11P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 41 se muestran casi las mismas interacciones que se presentaron en la Figura 40, ya que también se pueden observar las tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura. Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #11 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran

cerca, tales como Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones $C_{aromático}-C_{alifático}$, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre $C_{alifático}-C_{alifático}$. La Serina-60B (SER-60, cadena B) y la cetona (C=O) en la posición 5 del esqueleto de pregnano, podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que la Serina contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5.

Asimismo, alrededor de la cadena alifática de (*IR*)-metilbutilo que está unida al éster se observa un ambiente polar, esto es por la presencia de GLN-66B y GLN-67B, ya que, al ser aminoácidos de naturaleza polar, forman un ambiente de este tipo en dicha zona.

Finalmente, en donde se encuentra la SER-63A también se puede observar un ambiente polar, ya que es un aminoácido de esa naturaleza.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #12

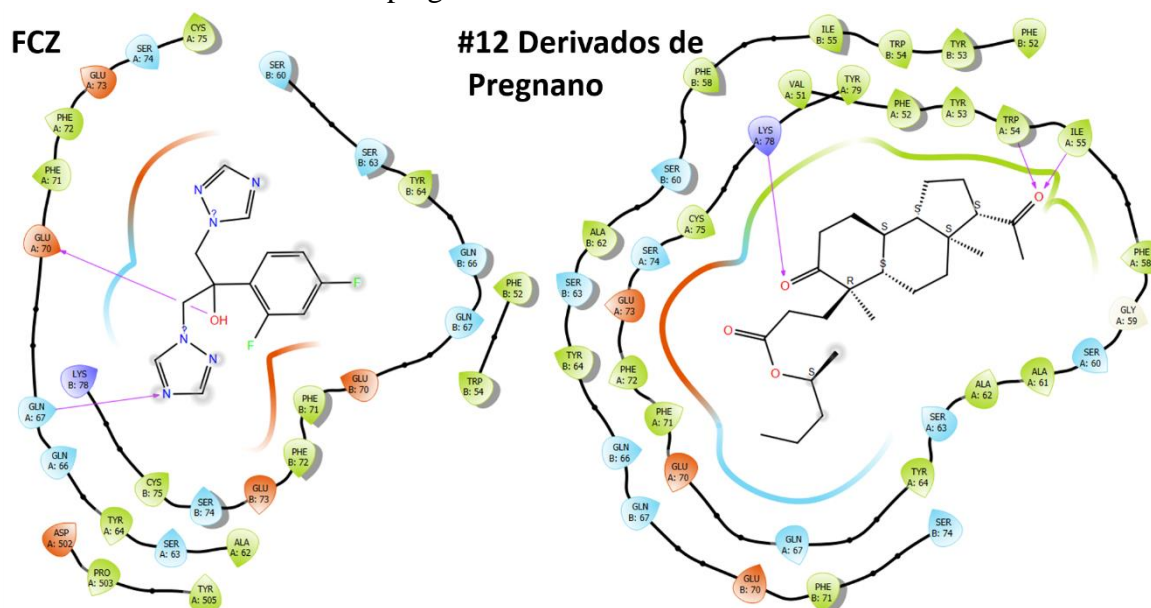


Figura 42. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #11 de los derivados pregnánicos (**12P** en la Figura 35).

En la Figura 42, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #12 de los derivados pregnánicos (“**12P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-12P fue la segunda mejor de todas las que se obtuvieron entre los derivados de diosgenina y de pregnano, teniendo un valor de -6.416, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 42, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 12P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #12 (12P) tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y

cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 12P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 42 también se pueden observar tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #12 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Tirosina-79 (TYR-79), Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}.

La Serina-60B (SER-60, cadena B) y la cetona (C=O) en la posición 5 del esqueleto de pregnano, podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que la Serina contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5. Por otra parte, Asimismo, alrededor de la cadena alifática de (*IS*)-metilbutilo que está unida al éster se observa un ambiente polar, esto es por la presencia de GLN-66B, GLN-67B y GLN-67A, ya que, al ser aminoácidos de naturaleza polar, forman un ambiente de este tipo en dicha zona.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #14

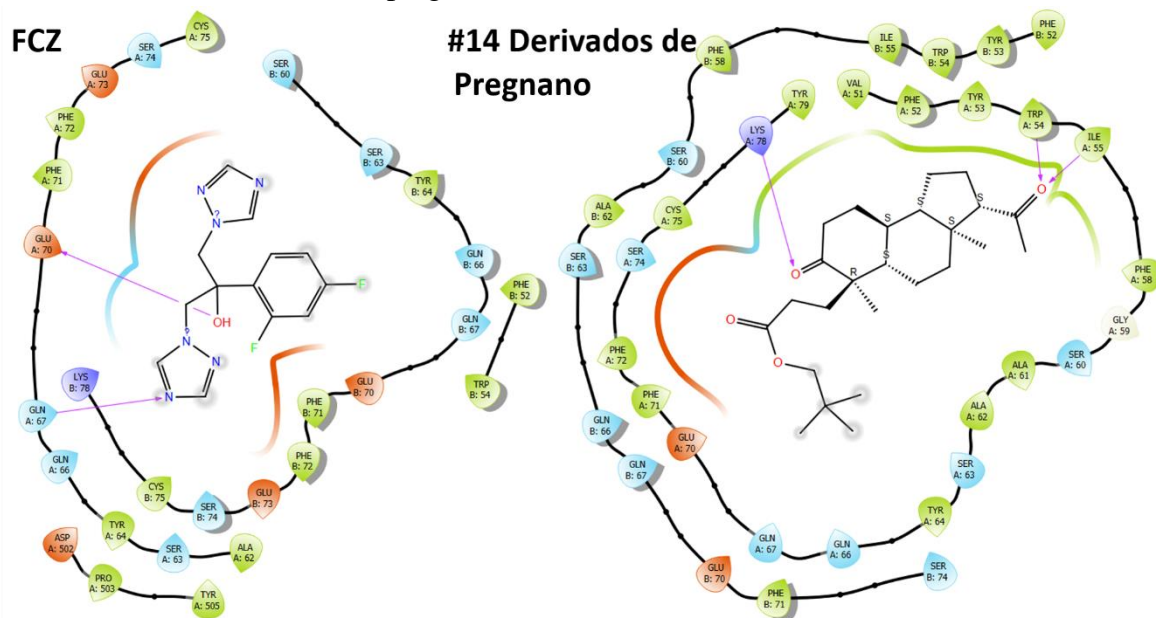


Figura 43. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #14 de los derivados pregnánicos (**14P** en la Figura 35).

En la Figura 43, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #14 de los derivados pregnánicos (“**14P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-14P fue la cuarta mejor de todas las que se obtuvieron entre los derivados de diosgenina y de pregnano, teniendo un valor de -6.392, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 43, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 14P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #14 (14P) tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 14P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 43 también se pueden observar tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #14 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran

cerca, tales como Tirosina-79 (TYR-79), Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones $C_{\text{aromático}}-C_{\text{alifático}}$, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre $C_{\text{alifático}}-C_{\text{alifático}}$.

La Serina-60B (SER-60, cadena B) y la cetona (C=O) en la posición 5 del esqueleto de pregnano, podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que la Serina contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5.

Por otra parte, Sin embargo, en este caso no se observan interacciones de ningún tipo con la cadena alifática de 2,2-dimetilpropilo que está unida al éster.

Interacciones FCZ – Derivados pregnánicos #2 y #17

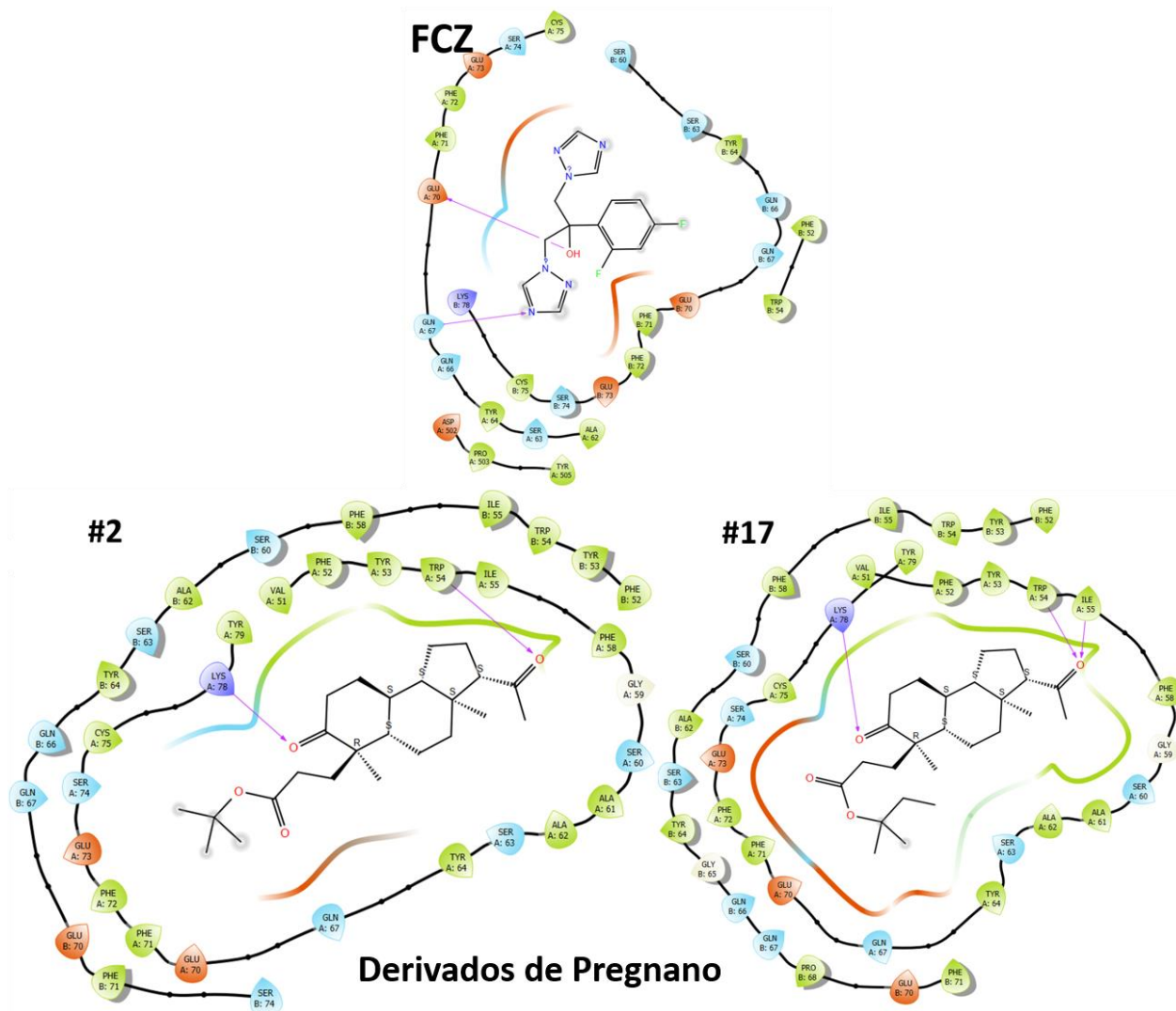


Figura 44. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructuras #2 y #17 de los derivados pregnánicos (**2P** y **17P** en la Figura 35).

La Figura 44 muestra la comparación de las interacciones entre el FCZ y las moléculas **2P** y **17P** de los derivados pregnánicos, ya que, como se vio en la recta numérica de la Figura 35, ambas estructuras tuvieron el mismo valor de energía de acoplamiento: -6.351 (mayor que la del FCZ, -4.616).

Se comenzará por describir las interacciones observadas con la molécula #2: presenta interacciones hidrofóbicas en la misma zona que las moléculas anteriormente descritas, es decir, desde TYR-79 hasta PHE-58, sin embargo, no se observan los tres puentes de hidrógeno que se habían mostrado en las demás moléculas, sino solo se observan dos, uno entre LYS-78 y el oxígeno de la cetona en C-5 y el otro entre TRP-54 y el oxígeno de la cetona en C-20; como se puede notar, en esta ocasión no hay formación de puente de hidrógeno entre ILE-55 y el oxígeno de la cetona en C-20, esto puede ser por la distancia a la que se encuentran ambas especies en el espacio de esa zona (en 3D). Por otra parte, se observan interacciones polares debido al grupo alcohol (-OH) de SER-63B y al grupo amino

(-NH₂) que causan interacciones dipolo-dipolo con la cetona en C-5 y el éster del sustituyente en C-10, por tanto, al existir interacciones de este tipo, se forma un ambiente polar en esa zona. Por otra parte, en la molécula 17P, sí están presentes los tres puentes de hidrógeno observados en las moléculas anteriores (1P, 7P, 11P, 12P y 14P), el primero está entre LYS-78 y el oxígeno de la cetona en C-5 y los otros dos están entre TRP-54, ILE-55 y el oxígeno de la cetona en C-20. Asimismo, se muestran interacciones hidrofóbicas desde VAL-51 hasta Alanina-62 (ALA-62).

En este caso, solo se muestran dos zonas pequeñas en donde se están formando interacciones polares y se encuentran en la zona de la SER-60B y de la Glutamina-66B (GLN-66, cadena B), ya que ambos son aminoácidos polares que crean ambientes del mismo tipo.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #16

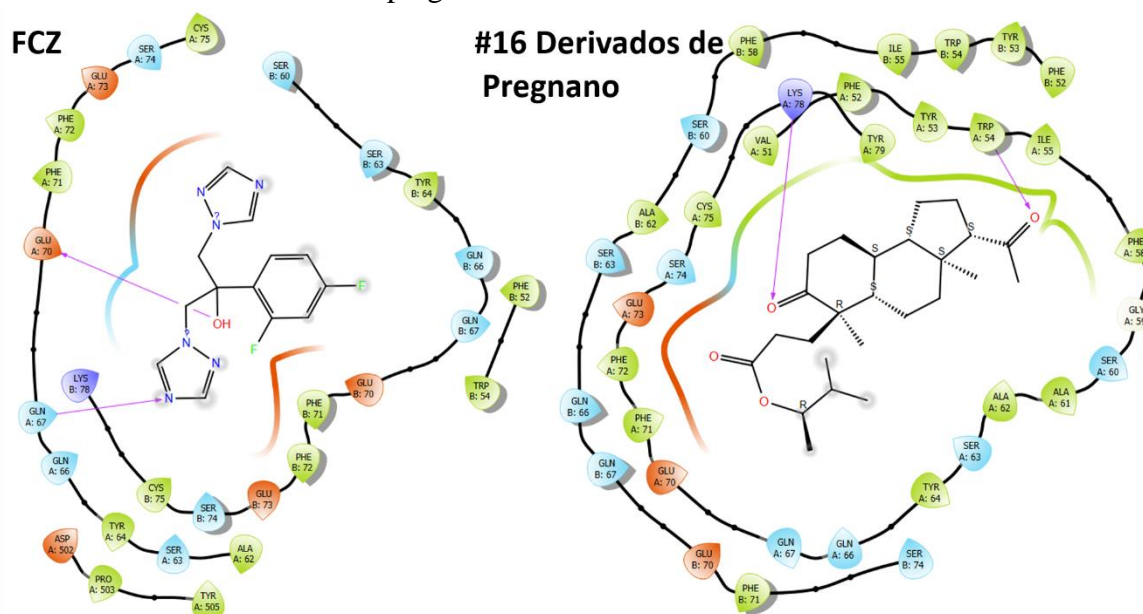


Figura 45. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #16 de los derivados pregnánicos (16P en la Figura 35).

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #16 de los derivados pregnánicos (“16P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-16P fue la cuarta mejor de todas las que se obtuvieron entre los derivados de diosgenina y de pregnano, teniendo un valor de -6.317, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 45, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 16P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #16 (16P) tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 16P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 45 no se observan las tres interacciones por puentes de hidrógeno, sino solo dos: una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20 actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte del Triptófano-54 (TRP-54), el cual, dona un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura.

Por otro lado, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #16 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Tirosina-79 (TYR-79), Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}.

Tanto la Serina-63B (SER-63, cadena B) como la SER-74A podrían estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que la Serina contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #6

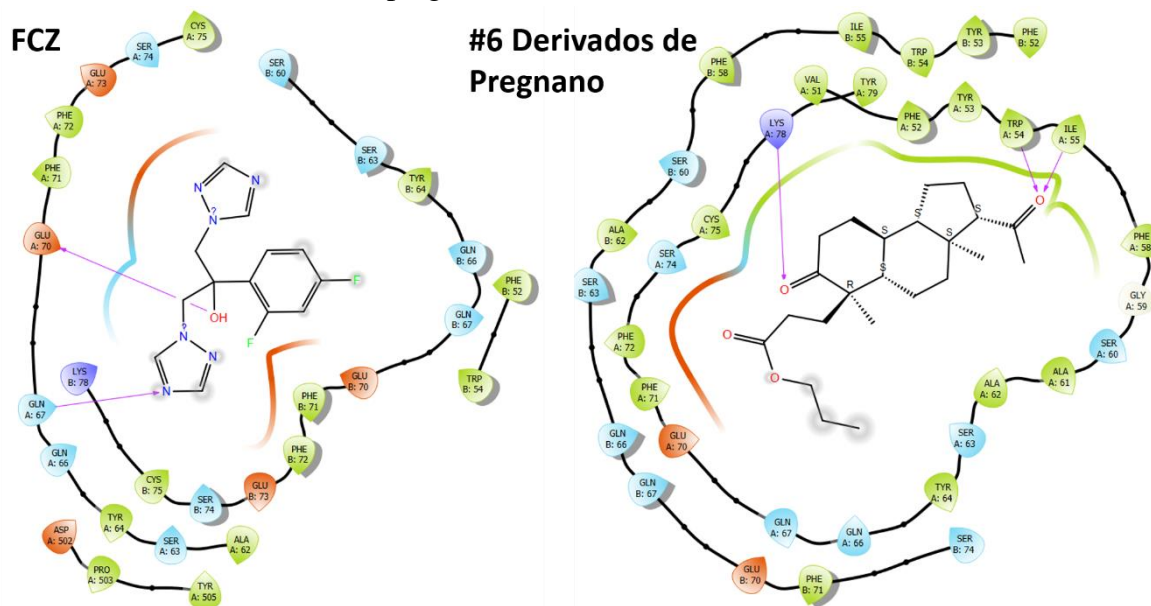


Figura 46. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #6 de los derivados pregnánicos (6P en la Figura 35).

En la Figura 46, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #6 de los derivados pregnánicos (“6P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-6P es de -6.296, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 46, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 6P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #6 tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 6P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 46 se pueden observar tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #6 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Tirosina-79 (TYR-79), Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}.

La Serina-60B (SER-60, cadena B) y la cetona (C=O) en la posición 5 del esqueleto de pregnano, podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que la Serina contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #4

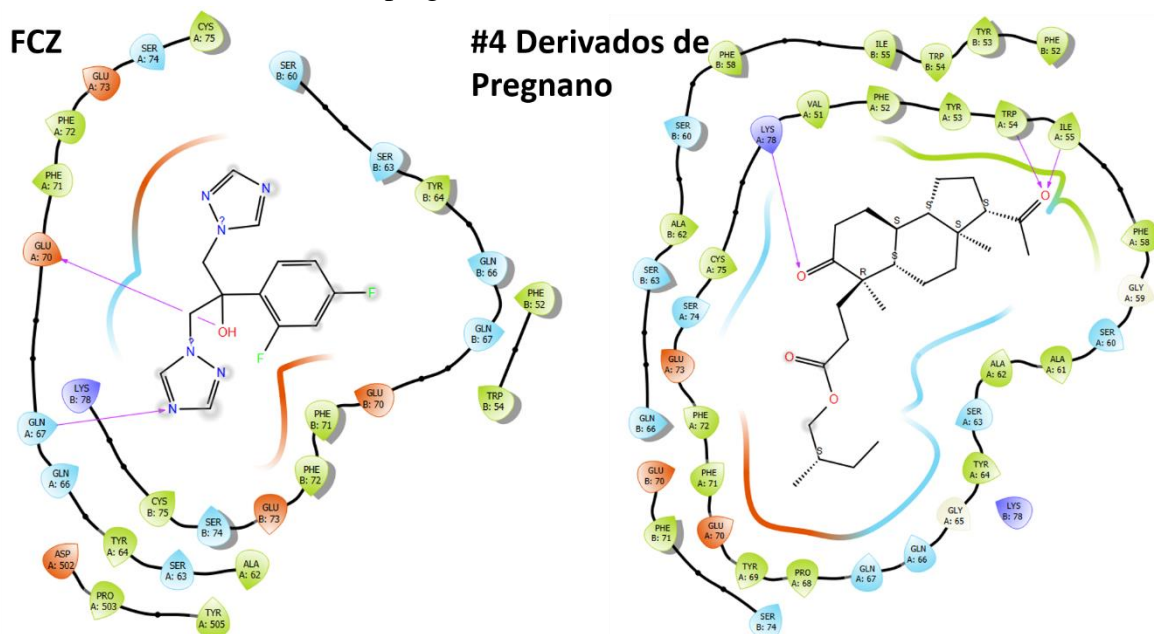


Figura 47. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #4 de los derivados pregnánicos (**4P** en la Figura 35).

En la Figura 47 se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #4 de los derivados pregnánicos (“**4P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-4P es de -6.285 , el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 47, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 4P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #4 tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 4P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 47 se muestra la comparación entre las interacciones de CYP51-FCZ y CYP51-4P, en donde se pueden observar las tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino ($-\text{NH}_2$) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino ($-\text{NH}_2$) que contienen en su estructura. Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #4 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54

(TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones $C_{aromático}-C_{alifático}$.

Debido a la presencia de aminoácidos polares como la SER-74A, SER-63B y SER-60B, se forma una nube de carácter polar en donde se encuentran la cetona (en C-5) y el éster. También hay un ambiente polar en la zona donde se encuentra el esqueleto de pregnano y el sustituyente en C-10 porque cerca están los aminoácidos de GLN-67A, GLN-66A y SER-63A, los cuales pertenecen a la clase de aminoácidos polares.

Por otra parte, se puede observar un ambiente de tipo no polar debido a la presencia de GLU-70 cerca del (2S)-metilbutilo unido al éster.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #10

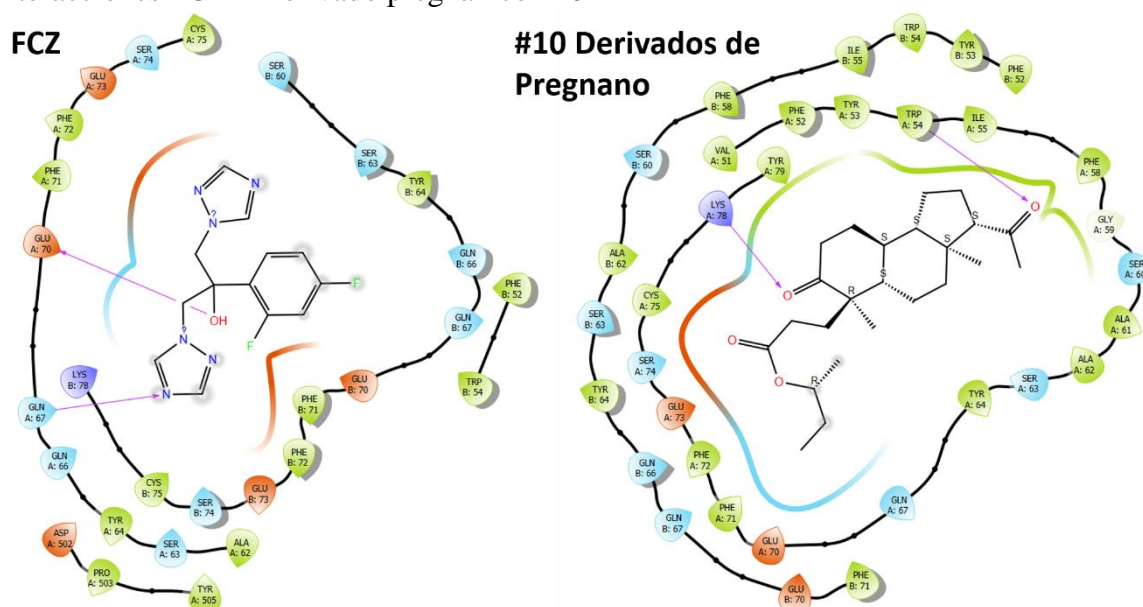


Figura 48. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #10 de los derivados pregnánicos (**10P** en la Figura 35).

En la Figura 48, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #10 de los derivados pregnánicos (“**10P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-10P fue de -6.240, el cual sigue siendo mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 48, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 10P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #10 tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 10P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 48 solo se muestran dos interacciones por puente de hidrógeno: una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso,

la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20 actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte del Triptófano-54 (TRP-54), el cual, dona un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura.

Por otro lado, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #10 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Tirosina-79 (TYR-79), Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}.

En esta ocasión, la Serina-60B (SER-60, cadena B) podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que dicho aminoácido contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran la SER-60B y la cetona en C-5.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #3

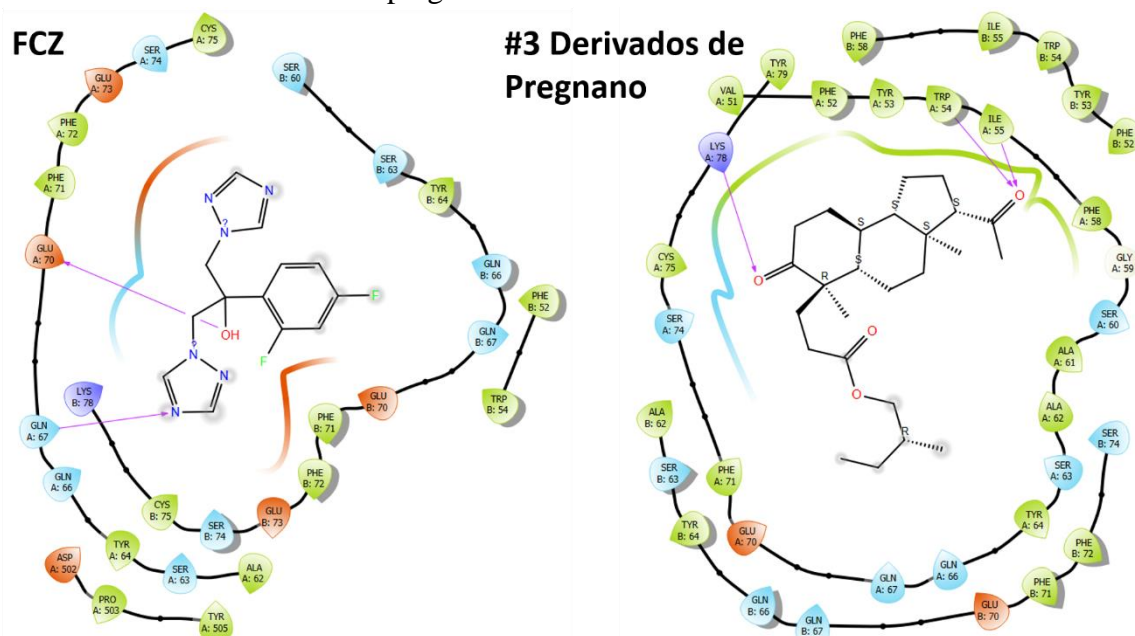


Figura 49. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #3 de los derivados pregnánicos (**3P** en la Figura 35).

En la Figura 49, se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #3 de los derivados pregnánicos (“**3P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-3P es de -6.107, el cual es mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se muestra en la Figura 49, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 3P,

que aquellas que se mostraron entre CYP51-FCZ. La razón por la cual hay una mayor interacción es debido a que existe una mayor cantidad de grupos funcionales en el derivado pregnánico #3, tales como ésteres y cetonas, los cuales evidentemente no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 3P contiene centros asimétricos, los cuales son de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se puede observar que existen tres interacciones por puentes de hidrógeno, una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #3 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como la Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona puede estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}. Por otra parte, el aminoácido de Serina-74 (SER-74) forma un ambiente polar cerca de la cetona en C-5 y cerca del sustituyente en C-10 que contiene al éster, ya que la SER-74 tiene un alcohol (-OH) en su estructura, el cual provoca una interacción dipolo-dipolo con el oxígeno del grupo carbonilo de la cetona en 3P. Asimismo, la CYS-75 al tener un grupo amino (-NH₂) podría formar un dipolo-dipolo con el oxígeno de la cetona en la posición 5.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #9

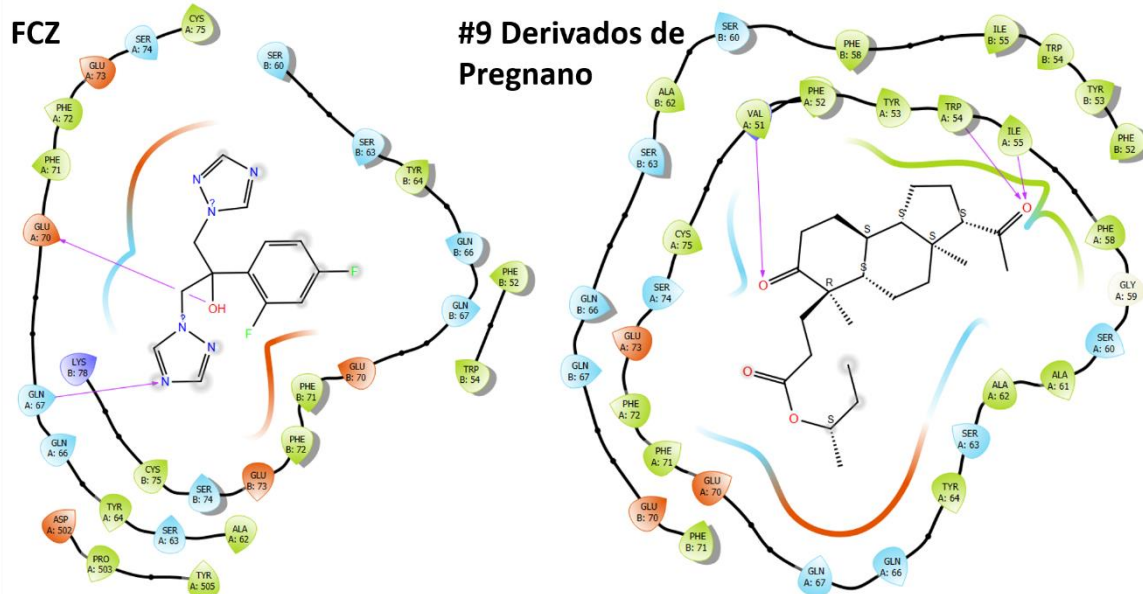


Figura 50. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #9 de los derivados pregnánicos (9P en la Figura 35).

La Figura 50 muestra los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #9 de los derivados pregnánicos (“9P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-9P tuvo un valor de -6.104, el cual sigue siendo un valor mucho mayor al del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 50, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 9P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #9 tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 9P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 50 se muestra la comparación entre las interacciones de CYP51-FCZ y CYP51-9P, en donde se pueden observar las tres interacciones por puentes de hidrógeno; una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #9 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como la Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54

(TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona puede estar rodeada en su mayoría de interacciones $C_{aromático}-C_{alifático}$.

Debido a la presencia de aminoácidos polares como la SER-74A y SER-63B, se forma una nube de carácter polar en donde se encuentra la cetona en C-5, debido a una interacción dipolo-dipolo. También hay ambientes polares en las zonas donde se encuentran los anillos B y C del esqueleto de pregnano debido a la presencia de SER-63A; así como también en donde se encuentra el éster.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #13

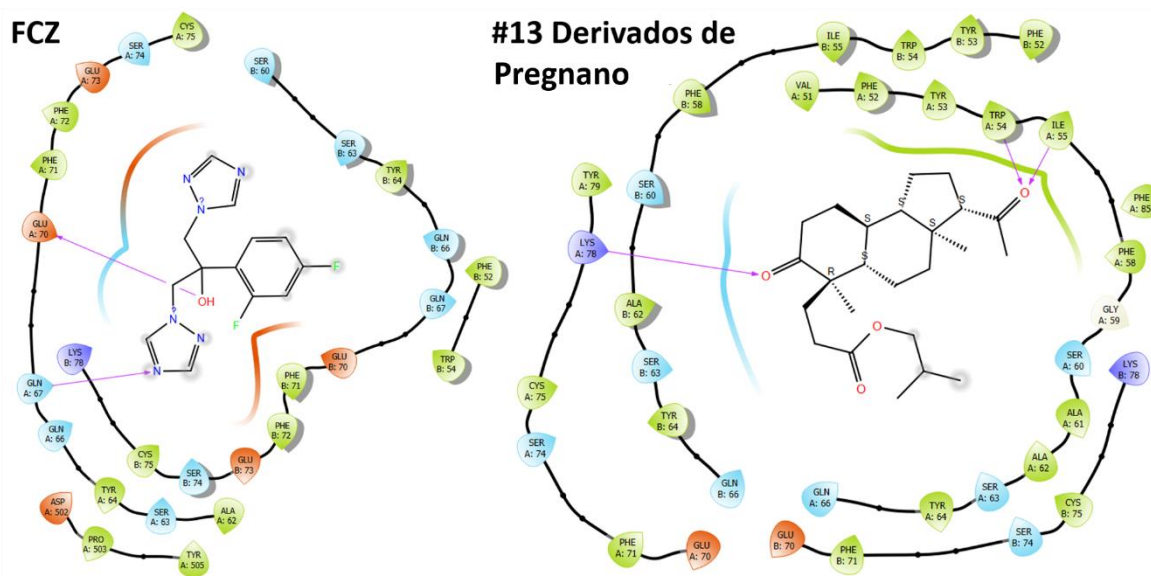


Figura 51. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #13 de los derivados pregnánicos (**13P** en la Figura 35).

En la Figura 51 se muestran los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #13 de los derivados pregnánicos (“**13P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-13P fue de -6.053, el cual es mucho mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se muestra en la Figura 51, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 13P, que aquellas que se mostraron entre CYP51-FCZ. La razón por la cual hay una mayor interacción es debido a que existe una mayor cantidad de grupos funcionales en el derivado pregnánico #13, tales como ésteres y cetonas, los cuales evidentemente no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 13P contiene centros asimétricos, los cuales son de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando. En la Figura 51 se puede observar que existen tres interacciones por puentes de hidrógeno, una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino ($-NH_2$) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de

hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #13 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como la Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona puede estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}.

Debido a la presencia de aminoácidos polares como la SER-60B y SER-63B, se forma una nube de carácter polar cerca de donde se encuentra la cetona en C-5, debido a una interacción dipolo-dipolo.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #5

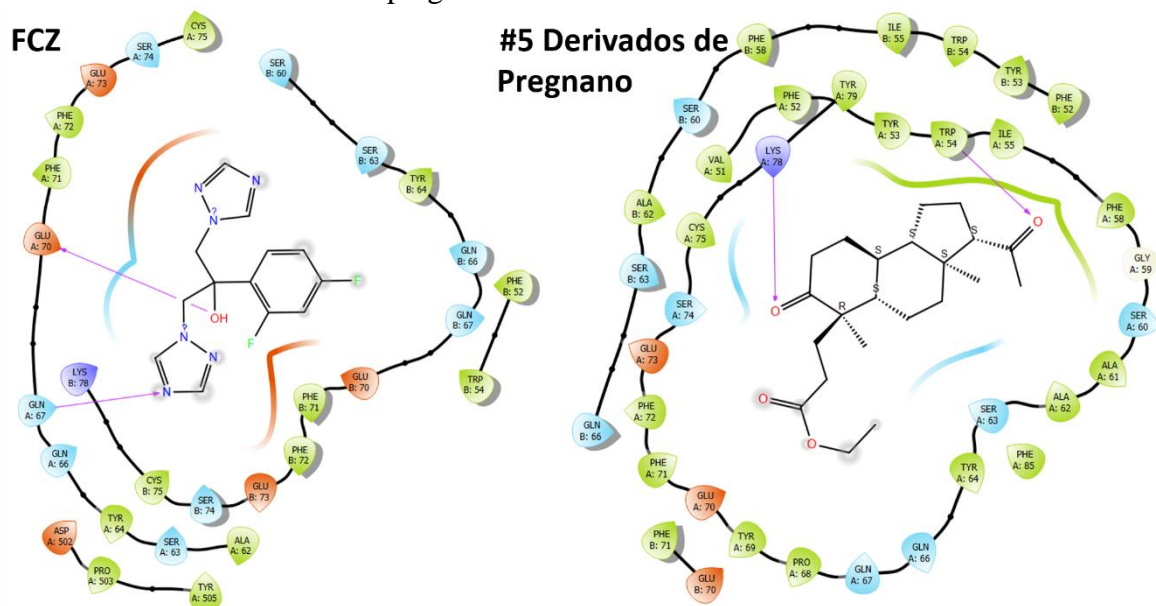


Figura 52. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #5 de los derivados pregnánicos (5P en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #5 de los derivados pregnánicos (“5P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ) se muestran en la Figura 52. La energía de acoplamiento entre CYP51-5P tuvo un valor de -6.029, el cual sigue siendo mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque en la molécula 5P existe una mayor cantidad de grupos funcionales como ésteres y cetonas, los cuales evidentemente no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 5P contiene centros asimétricos, los cuales son de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando. En la Figura 52 se puede observar que existen dos interacciones por puentes de hidrógeno, una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno

de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20 actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte del Triptófano-54 (TRP-54), el cual, dona un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura.

Por otro lado, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #5 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Tirosina-79 (TYR-79), Valina-51 (VAL-51), Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona podría estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}, a excepción de VAL-51, ya que en este caso existiría una interacción hidrofóbica entre C_{alifático}-C_{alifático}. En este caso, tanto la Serina-74A como la Serina-63B (SER-63, cadena B) podría estar formando interacciones de tipo dipolo-dipolo debido a que dicho aminoácido contiene un OH, por ello se puede observar una pequeña zona en color azul, justo donde se encuentran ambos aminoácidos y la cetona en C-5. De igual manera se forma un ambiente polar en donde se encuentran la SER-63A.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #18

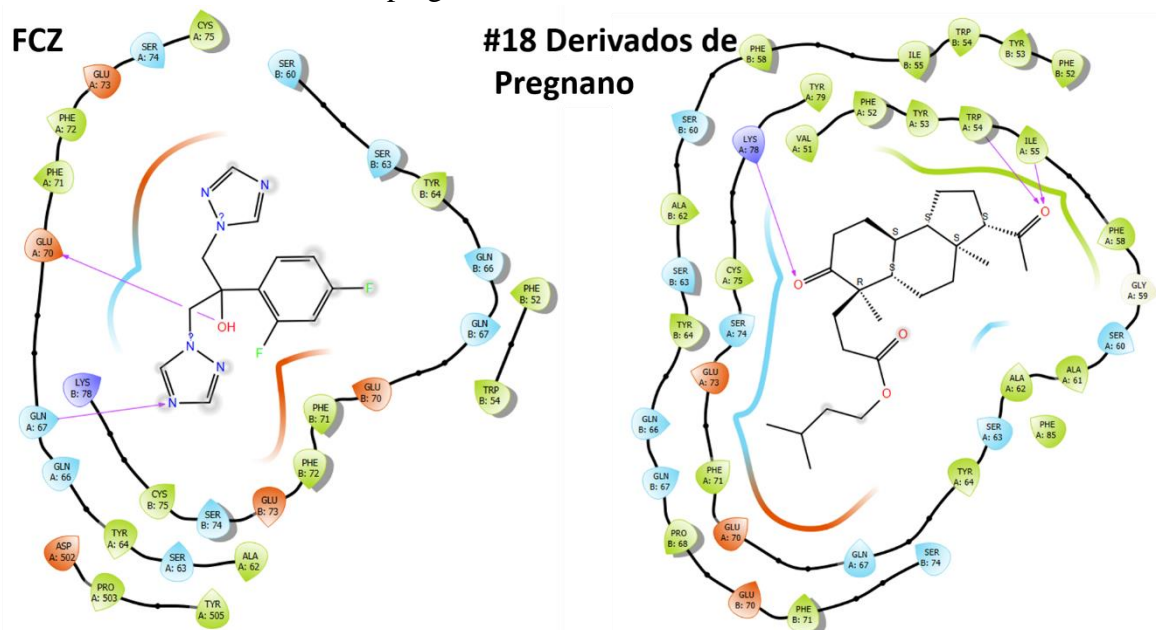


Figura 53. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #18 de los derivados pregnánicos (**18P** en la Figura 35).

La Figura 53 muestra los resultados de las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #18 de los derivados pregnánicos (“**18P**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ). La energía de acoplamiento entre CYP51-18P tuvo un valor de -5.973,

el cual sigue siendo un valor mayor al del Fluconazol (-4.616). Esto es porque, como se observa en la Figura 53, hay mayores interacciones entre los aminoácidos de la proteína CYP51 y la estructura 18P que las que se mostraron entre CYP51-FCZ. El derivado pregnánico #18 tiene una mayor cantidad de grupos funcionales (éster y cetonas), los cuales no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 18P contiene centros asimétricos, cuya presencia es de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando.

En la Figura 53 se pueden observar las tres interacciones por puentes de hidrógeno, en donde una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20, actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte de los donadores que son tanto el Triptófano-54 (TRP-54), como la Isoleucina-55 (ILE-55); ambos donan un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contienen en su estructura.

Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #18 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como la Fenilalanina-52,58 (PHE-52 y PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54) y la Isoleucina-55 (ILE-55), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona puede estar rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}.

Debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-66B, GLN-67B, SER-63B y SER-74A, se forma una nube de carácter polar cerca de donde se encuentran la cetona en C-5 y todo el sustituyente en C-10.

Interacciones FCZ – Derivado #18 de Diosgenina

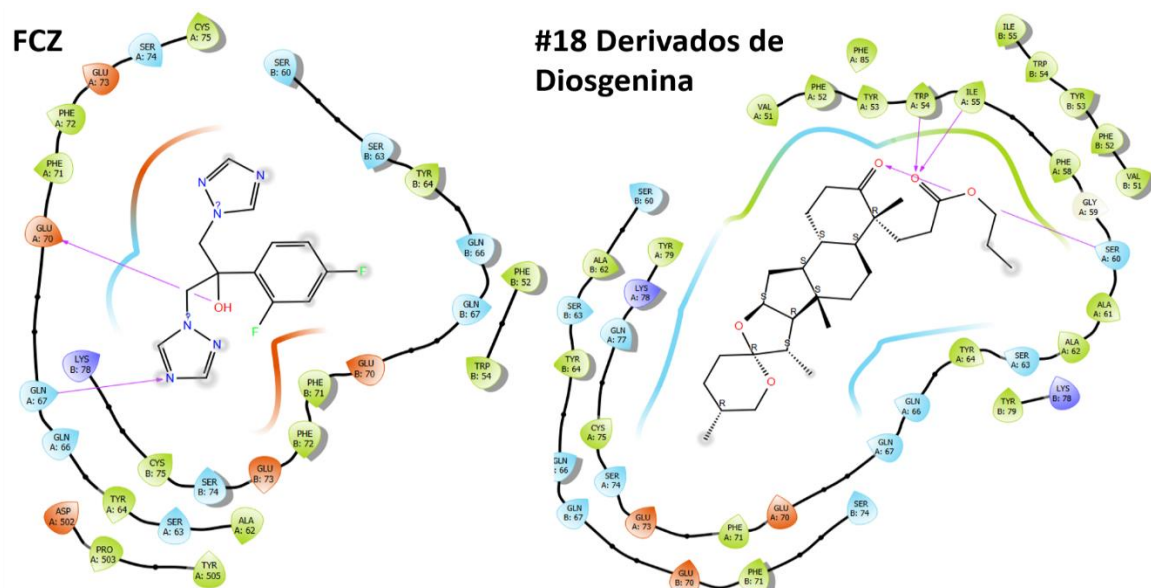


Figura 54. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #18 de los derivados de diosgenina (**18D** en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #18 de los derivados de diosgenina (“**18D**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 54; la molécula 18D mostró una energía de acoplamiento de -5.815, mayor a la del FCZ (-4.616). A diferencia del FCZ, la molécula 18D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-18D muestra interacciones polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Es importante mencionar que, tanto el FCZ como 18D son muy diferentes tanto en tamaño, como en estructura; además, los derivados de diosgenina son mucho más grandes y voluminosos que los derivados pregnánicos, por lo que, al analizar las formas de interacción de los derivados de ambas especies, se puede observar que los derivados pregnánicos están ordenados en el sitio de unión de manera que la cetona en C-20 está interaccionando con los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (TRP-54, ILE-55), mientras que en el caso de los derivados de diosgenina los mismos aminoácidos de naturaleza hidrofóbica interaccionan ahora con el éster del sustituyente en C-10, es decir, como si los derivados de diosgenina se hubiesen acoplado al sitio de unión de manera inversa.

En el acoplamiento CYP51-18D se muestran tres interacciones por puente de hidrógeno, sin embargo, dos de ellos se forman entre el oxígeno del éster, el cual actúa como aceptor de puentes de hidrógeno, mientras que los aminoácidos TRP-54, ILE-55 donan un puente de hidrógeno cada uno. El tercero está dado entre SER-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, siendo el grupo OH de la SER-60 el donador, y el oxígeno de la cetona en C-5 el aceptor del puente de hidrógeno.

Además, se pueden notar tres ambientes de tipo polar, uno de ellos se encuentra en la zona donde están los aminoácidos SER-63B y GLN-77A, ya que pertenecen a la clase de aminoácidos polares; otra razón de la formación de la nube polar en dicha zona es por la

presencia de LYS-78, ya que es un aminoácido con carga positiva. Por otra parte, también se muestra un ambiente polar en donde se encuentran aminoácidos como VAL-51, PHE-52 y TYR-53, probablemente debido a una interacción dipolo-dipolo con el grupo amino (-NH₂) que contienen todos estos aminoácidos en su estructura y el oxígeno de la cetona. Asimismo, los aminoácidos como GLN-66A, GLN-67A y SER-63A, forman un ambiente polar cerca de los anillos E, D, C y B de la molécula 18D que contiene el esqueleto de diosgenina. Por último, los aminoácidos Triptófano-54 (TRP-54), Isoleucina-55 (ILE-55) y Fenilalanina-58 (PHE-58) forman una nube hidrofóbica cerca del sustituyente en C-10 que contiene el éster y su cadena alifática (propilo).

Interacciones FCZ – Derivado #3 de Diosgenina

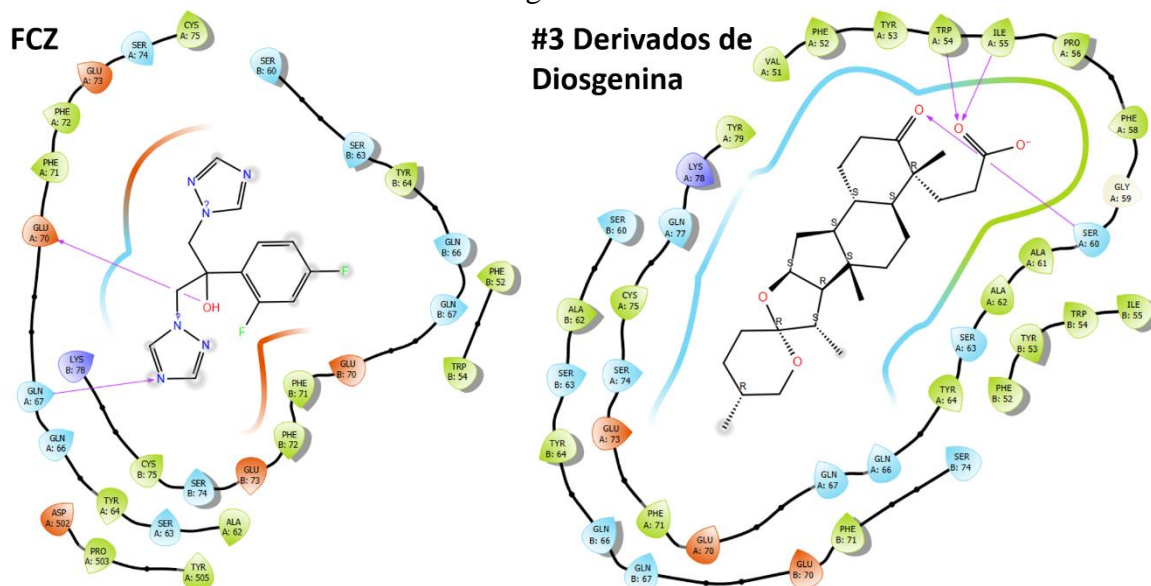


Figura 55. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #3 de los derivados de diosgenina (**3D** en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #3 de los derivados de diosgenina ("**3D**" en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 55; la molécula 3D mostró una energía de acoplamiento de -5.641, mayor a la del FCZ (-4.616). A diferencia del FCZ, la molécula 3D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un carboxilato. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-3D muestra interacciones polares e hidrofóbicas debido al tipo de

amoniácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Es importante mencionar que, tanto el FCZ como 3D son muy diferentes tanto en tamaño, como en estructura; además, al ser también un derivado de diosgenina también se observan interacciones entre los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (TRP-54, ILE-55) con el éster del sustituyente en C-10, es decir, como si el derivado de diosgenina se hubiese acoplado al sitio de unión de manera inversa.

En el acoplamiento CYP51-3D se muestran tres interacciones por puente de hidrógeno, sin embargo, dos de ellos se forman entre el oxígeno del carbonilo del grupo carboxilato, el cual actúa como aceptor de puentes de hidrógeno, mientras que los aminoácidos TRP-54, ILE-55 donan un puente de hidrógeno cada uno. El tercero está dado entre SER-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, siendo el grupo OH de la SER-60 el donador, y el oxígeno de la cetona el aceptor del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula debido a la presencia de aminoácidos como SER-74A, GLN-77A, SER-60B y SER-63B, ya que pertenecen a la clase de aminoácidos polares. Por otra parte, también se muestra un ambiente polar en donde se encuentran aminoácidos como TYR-79, VAL-51, PHE-52 y TYR-53, probablemente debido a una interacción dipolo-dipolo con el grupo amino (-NH₂) que contienen estos aminoácidos en su estructura. Asimismo, SER-63A forma un ambiente polar cerca de los anillos E, D y C de la molécula 3D.

Por último, los aminoácidos Prolina-56 (PRO-56), Fenilalanina-58 (PHE-58) y Alanina-62,61 (ALA-62, ALA-61) forman una nube hidrofóbica cerca del anillo B y del sustituyente en C-10 que contiene al carboxilato.

Interacciones FCZ – Derivado #10 de Diosgenina

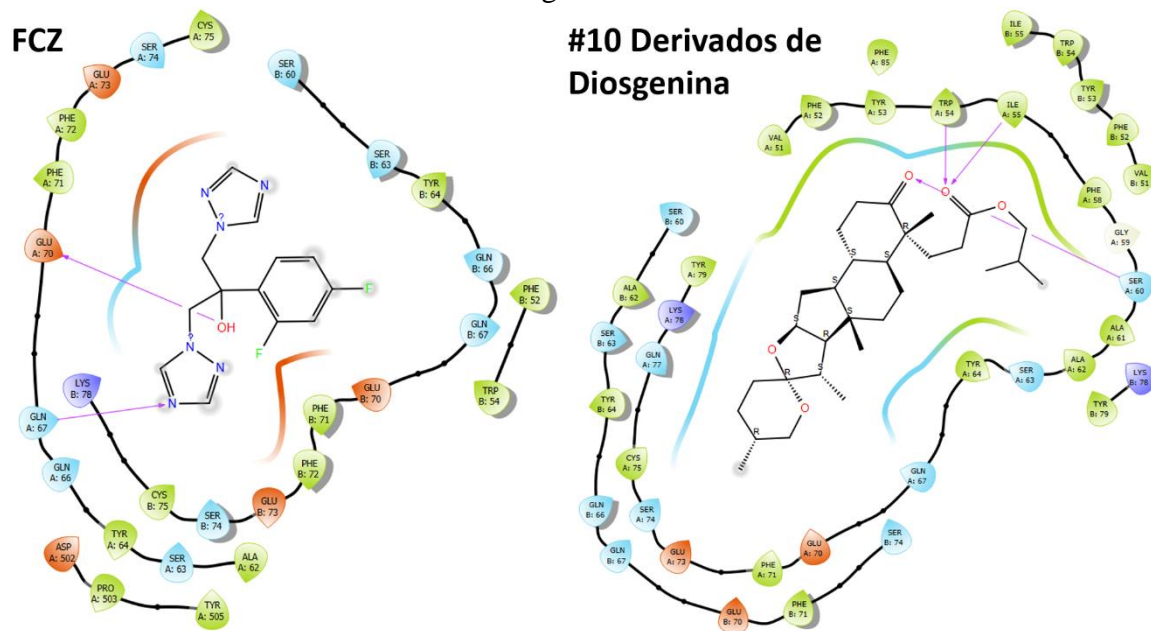


Figura 56. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #10 de los derivados de diosgenina (10D en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #10 de los derivados de diosgenina (“**10D**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 56; la molécula 10D mostró una energía de acoplamiento de -5.546, mayor a la del FCZ (-4.616). A diferencia del FCZ, la molécula 10D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-10D muestra interacciones polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observan interacciones entre los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (TRP-54, ILE-55) con el éster del sustituyente en C-10.

En el acoplamiento CYP51-10D se muestran tres interacciones por puente de hidrógeno, dos de ellos se forman entre el oxígeno del éster, el cual actúa como aceptor de puentes de hidrógeno, mientras que los aminoácidos TRP-54, ILE-55 donan un puente de hidrógeno cada uno. El tercero está dado entre SER-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, siendo el grupo OH de la SER-60 el donador, y el oxígeno de la cetona en C-5 el aceptor del puente de hidrógeno.

Además, se pueden notar tres ambientes de tipo polar, uno de ellos se encuentra en la zona donde están los aminoácidos SER-63B, GLN-77A y SER-60B, ya que pertenecen a la clase de aminoácidos polares; otra razón de la formación de la nube polar en dicha zona es por la presencia de LYS-78, ya que es un aminoácido con carga positiva. Por otra parte, también se muestra un ambiente polar en donde se encuentran aminoácidos como TYR-53 y TRP-54, probablemente debido a una interacción dipolo-dipolo con el grupo amino (-NH₂) que contienen estos aminoácidos en su estructura, y el oxígeno de la cetona. Asimismo, el aminoácido GLN-67A forma un ambiente polar cerca de los anillos E, D y C de la molécula 10D que contiene el esqueleto de diosgenina.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #15

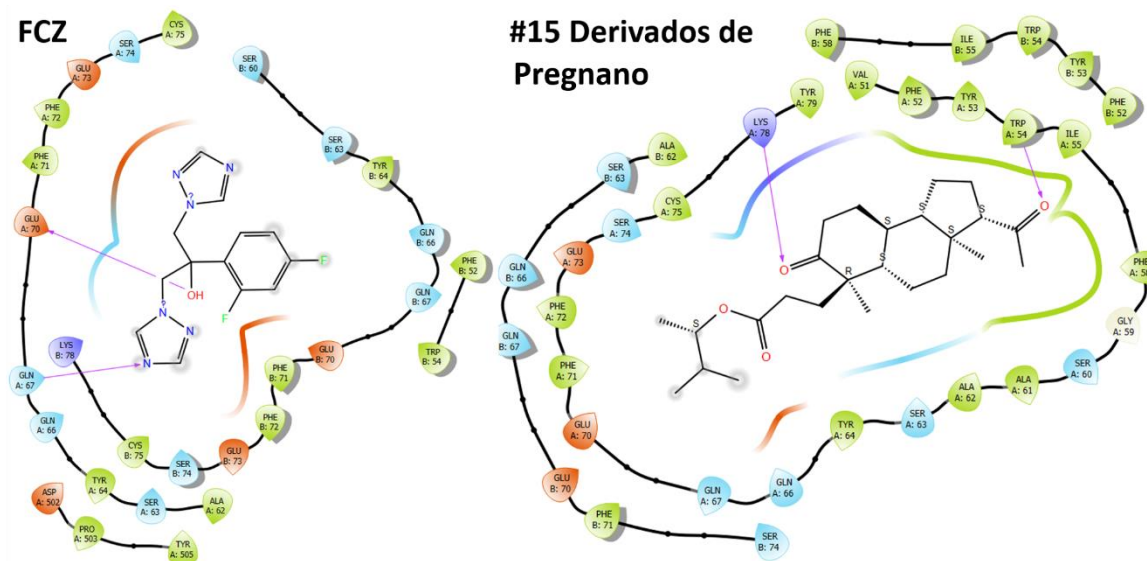


Figura 57. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #15 de los derivados pregnánicos (**15P** en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #15 de los derivados pregnánicos (“15P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ) se muestran en la Figura 57. La energía de acoplamiento entre CYP51-15P tuvo un valor de -5.528, el cual sigue siendo mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque en la molécula 15P existe una mayor cantidad de grupos funcionales como éster y cetonas, los cuales evidentemente no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 15P contiene centros asimétricos, los cuales son de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando. En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se puede observar que existen dos interacciones por puentes de hidrógeno, una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona que se encuentra en el ciclohexano (el cual corresponde al anillo B del esqueleto de pregnano), en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura, por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. De manera similar, el oxígeno de la cetona en la posición 20 actúa como el aceptor de puentes de hidrógeno por parte del Triptófano-54 (TRP-54), el cual, dona un puente de hidrógeno por medio del grupo amino (-NH₂) que contiene en su estructura. Asimismo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #15 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, tales como Fenilalanina-52,58 (PHE-52, PHE-58), Tirosina-53 (TYR-53), Triptófano-54 (TRP-54), Isoleucina-55 (ILE-55) y Alanina-61 (ALA-61), y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona está rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}. La LYS-78 está formando un ambiente cargado eléctricamente de manera positiva debido al grupo amino protonado (-⁺NH₃) que contiene en su estructura. Asimismo, SER-63A forma un ambiente polar cerca de los anillos B y C de la molécula 15P. Por otra parte, se forma un ambiente de tipo no polar cerca del éster y su sustituyente (*1S*)-1,2-dimetilpropilo.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #8

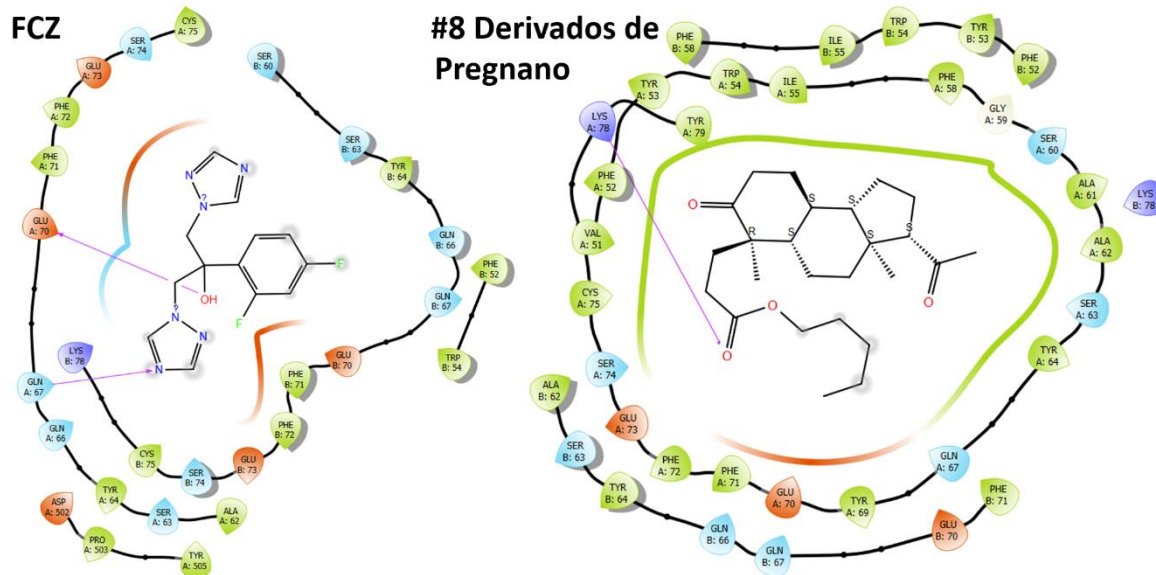


Figura 58. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #8 de los derivados pregnánicos (8P en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #8 de los derivados pregnánicos (“8P” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ) se muestran en la Figura 58. La energía de acoplamiento entre CYP51-8P tuvo un valor de -5.314, el cual sigue siendo mayor a la del Fluconazol (-4.616). Esto es porque en la molécula 8P existe una mayor cantidad de grupos funcionales como éster y cetonas, los cuales evidentemente no forman parte de la estructura del FCZ. Además, la estructura del derivado 8P contiene centros asimétricos, los cuales son de suma importancia para el estudio del acoplamiento molecular proteína-ligando. En la Figura 58 se puede observar que solo existe una interacción por puentes de hidrógeno, la cual está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno del éster, en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino que contiene en su estructura (-NH₂), por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno del éster

Al mismo tiempo, existen interacciones hidrofóbicas en gran parte del esqueleto del derivado pregnánico #8 debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca, los cuales van desde CYS-75A hasta TYR-64A, pasando por LYS-78, y porque el esqueleto de la molécula es hidrofóbico debido a los ciclos alifáticos contiguos que lo conforman. Por ello, esa zona está rodeada en su mayoría de interacciones C_{aromático}-C_{alifático}. Además, es importante notar que la molécula 8P está acoplada de manera distinta a los demás derivados pregnánicos antes analizados, por lo que interacciona de manera muy distinta a lo que se ha observado anteriormente.

Interacciones FCZ – Derivado #6 de Diosgenina

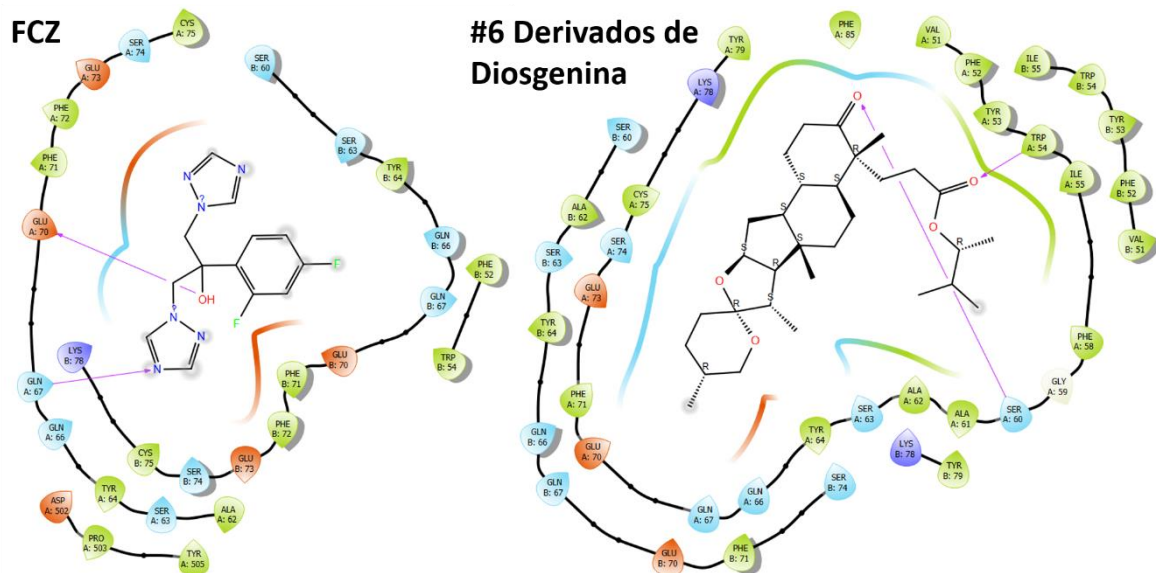


Figura 59. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #6 de los derivados de diosgenina (**6D** en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #6 de los derivados de diosgenina (“**6D**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 59; la molécula 6D mostró una energía de acoplamiento de -5.030, mayor a la del FCZ (-4.616). A diferencia del FCZ, la molécula 6D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-6D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa la interacción entre TRP-54 y el éster del sustituyente en C-10.

En el acoplamiento CYP51-6D se muestran dos interacciones por puente de hidrógeno, uno de ellos se forma entre el oxígeno del éster, el cual actúa como aceptor de puentes de hidrógeno, mientras que el grupo amino (-NH₂) del TRP-54 actúa como el donador del mismo puente de hidrógeno. El segundo está dado entre SER-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, siendo el OH de la SER-60 el donador, y el oxígeno de la cetona el aceptor del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar debido a la presencia de aminoácidos como SER-63B, SER-74A y SER-60B por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay interacciones de este tipo debido a SER-63A, ya que dichos aminoácidos pertenecen a la clase de aminoácidos polares. También se muestra un ambiente polar en donde se encuentran aminoácidos como PHE-85 y VAL-51, probablemente debido a una interacción dipolo-dipolo con el grupo amino (-NH₂) que contienen ambos, con el oxígeno de la cetona.

Asimismo, interacciones de tipo hidrofóbicas se encuentran en las zonas donde están aminoácidos como TYR-79, TYR-53, TRP-54, ILE-55, ALA-61 y ALA-62.

Interacciones FCZ – Derivado #11 de Diosgenina

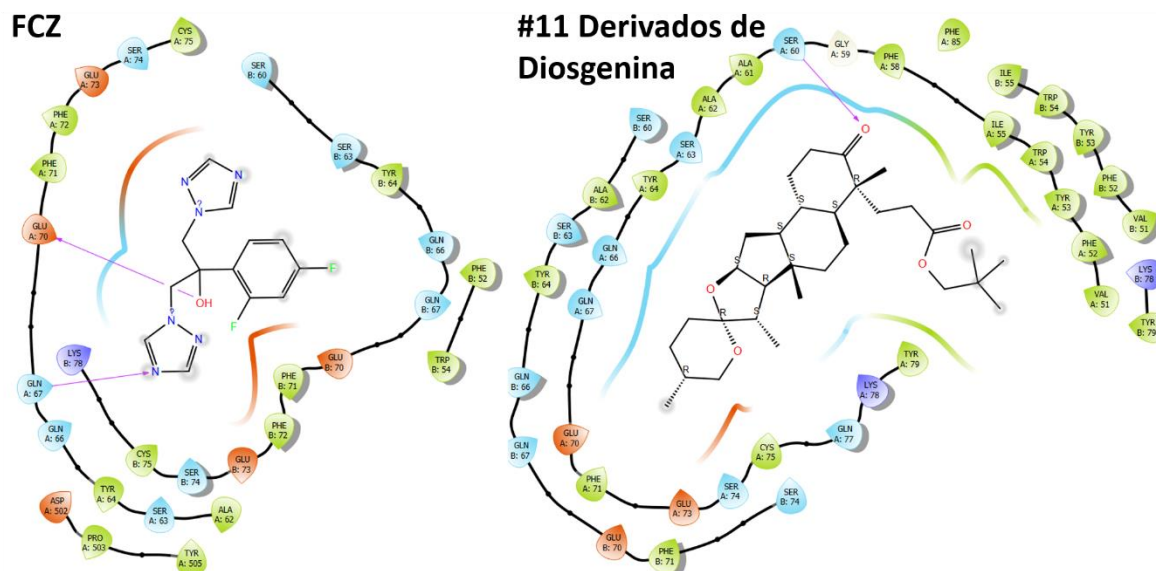


Figura 60. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #11 de los derivados de diosgenina (**11D** en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #11 de los derivados de diosgenina (“**11D**” en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 60; la molécula 11D mostró una energía de acoplamiento de -4.829, la cual sigue siendo un poco mayor a la del FCZ (-4.616). A diferencia del FCZ, la molécula 11D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-11D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de amoniácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 11D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (ILE-55, TRP-54, TYR-53).

En el acoplamiento CYP51-11D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos como GLN-67A, GLN-66A, SER-63B, SER-60B y SER-63A por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar debido a la presencia de LYS-78, el cual es un aminoácido cargado positivamente.

Asimismo, ambientes de tipo hidrofóbicos se encuentran en las zonas donde hay aminoácidos como TYR-53, TRP-54, ILE-55 y TYR-79, ya que son aminoácidos de naturaleza hidrofóbica.

Interacciones FCZ – Derivado #2 de Diosgenina

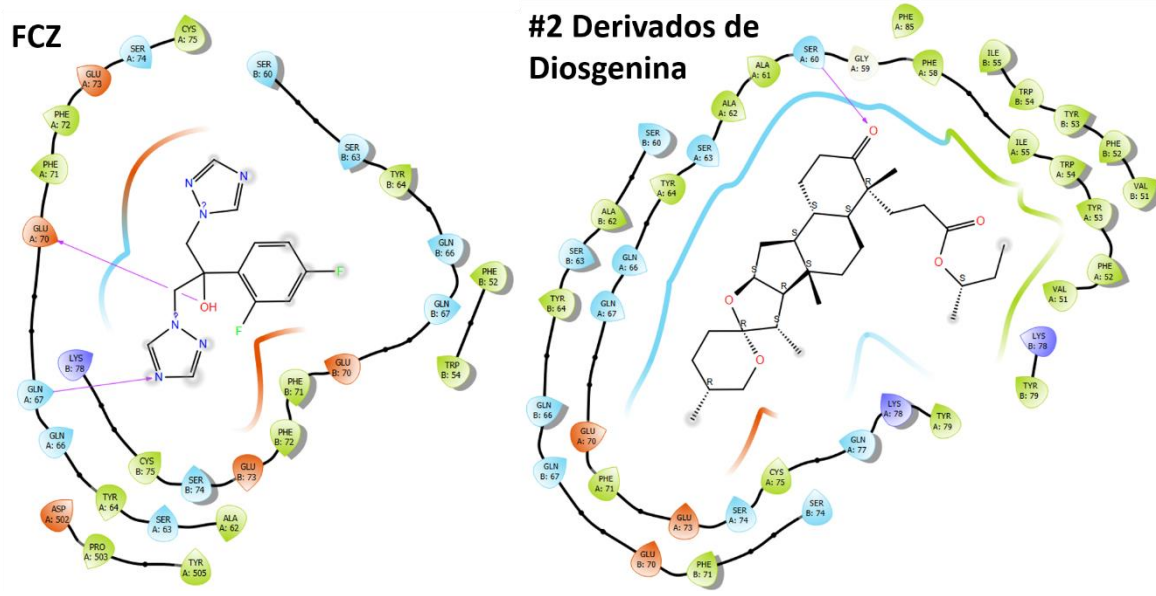


Figura 61. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #2 de los derivados de diosgenina (**2D** en la Figura 35).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #2 de los derivados de diosgenina ("**2D**" en Figura 35), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 61; la molécula 2D mostró una energía de acoplamiento de -4.649 , la cual sigue siendo un poco mayor a la del FCZ (-4.616) y es la última de las energías de acoplamiento favorecidas con respecto al valor de la del Fluconazol. A diferencia del FCZ, la molécula 2D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-2D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 2D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (ILE-55, TRP-54, TYR-53).

En el acoplamiento CYP51-2D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos como GLN-67A, GLN-66A, SER-63B, SER-60B, SER-63A y SER-60A por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar debido a la presencia de LYS-78, el cual es un aminoácido cargado positivamente.

Asimismo, interacciones de tipo hidrofóbicas se encuentran en las zonas donde hay aminoácidos como VAL-51, PHE-52, TYR-53, TRP-54 y ILE-55, debido a que todos pertenecen a la clase de aminoácidos hidrofóbicos.

4.8 Recta numérica de los derivados de diosgenina y de pregnano que presentaron una menor energía de acoplamiento a la del fluconazol

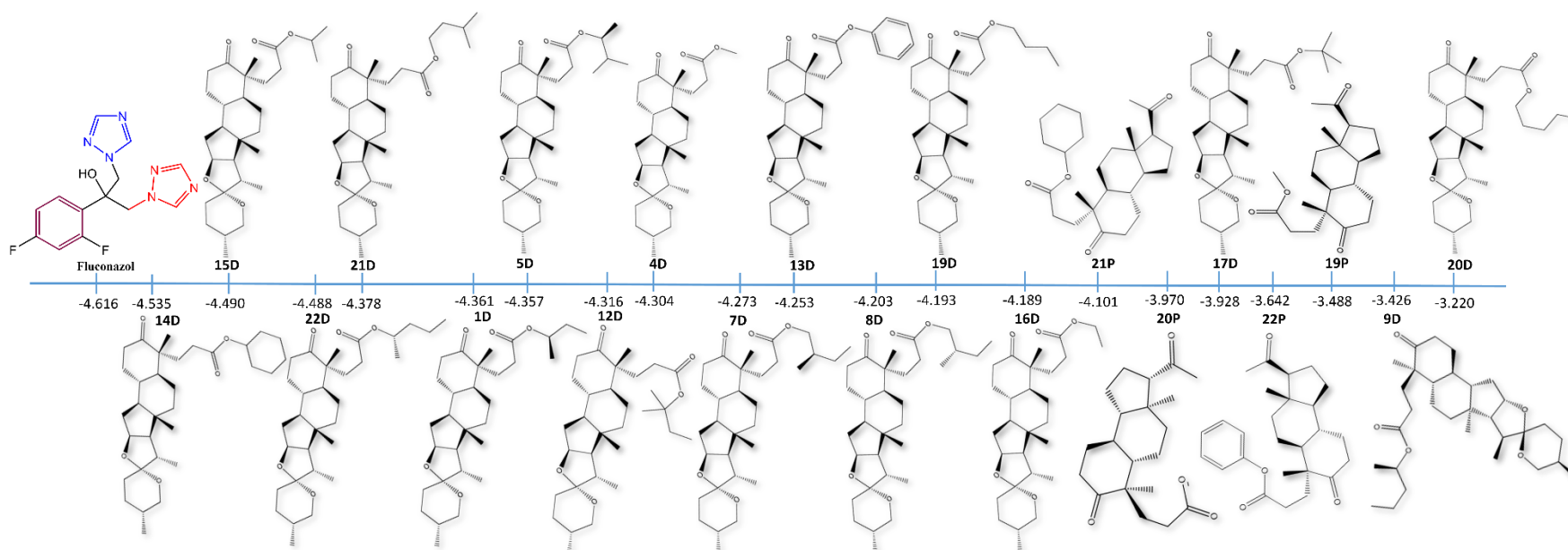


Figura 62. Recta numérica en donde se muestran los derivados pregnánicos y de diosgenina que resultaron tener energías de acoplamiento (en kcal/mol) deficientes en comparación a la del fluconazol.

Interacciones FCZ – Derivado #22 de Diosgenina

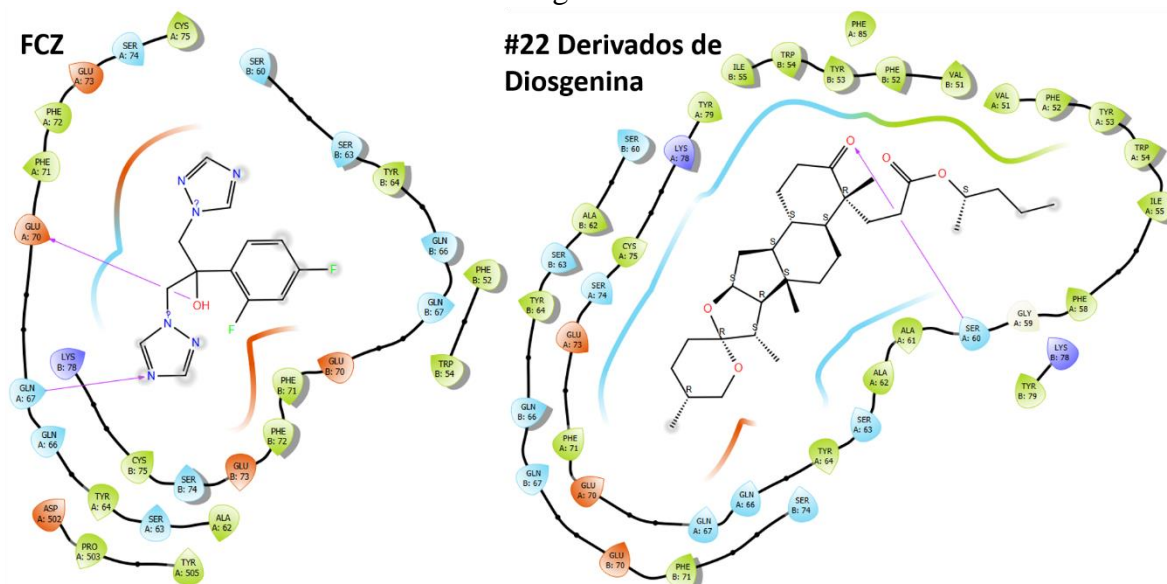


Figura 65. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #22 de los derivados de diosgenina (**22D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #22 de los derivados de diosgenina (“**22D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 65; la molécula 22D mostró una energía de acoplamiento de -4.488, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 22D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-22D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 22D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (PHE-52A y PHE-52B, VAL-51A y VAL-51B).

En el acoplamiento CYP51-22D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-66B, SER-74A, SER-63B, SER-60B y LYS-78 por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar debido a la presencia de aminoácidos polares como SER-63A y SER-60A.

Asimismo, interacciones de tipo hidrofóbicas se encuentran en las zonas donde hay aminoácidos como PHE-52 y VAL-51, cerca del sustituyente en C-10 que contiene al éster y a la cadena alifática de (*IS*)-metilbutilo.

Interacciones FCZ – Derivado #21 de Diosgenina

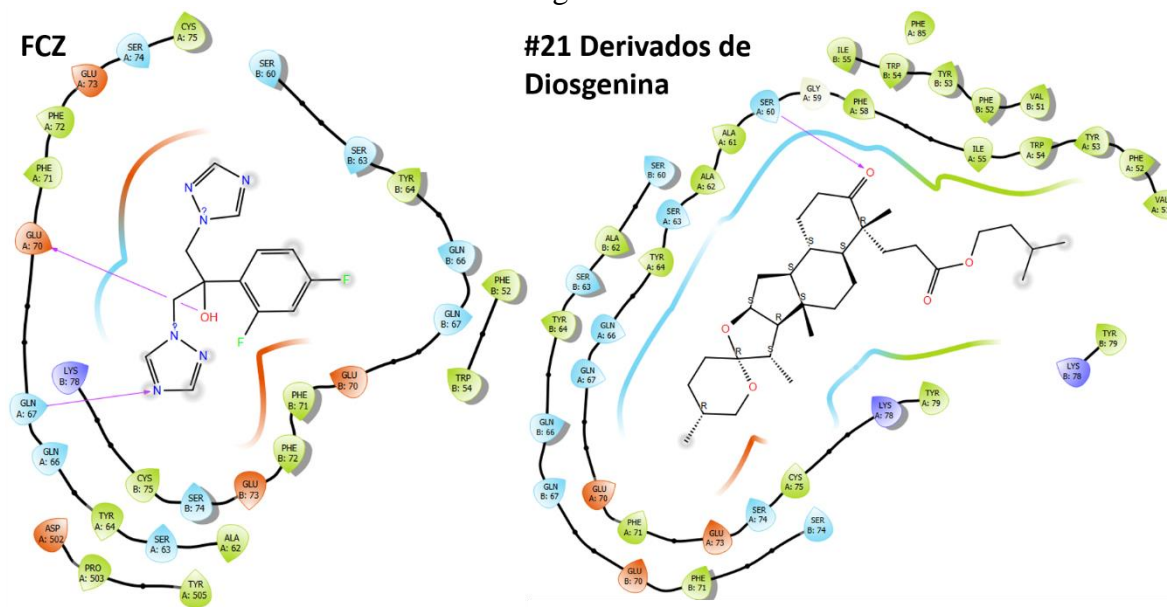


Figura 66. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #21 de los derivados de diosgenina (**21D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #21 de los derivados de diosgenina (“**21D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 66; la molécula 21D mostró una energía de acoplamiento de -4.378, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 21D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-21D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 21D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica (ILE-55, TRP-54 y TYR-53).

En el acoplamiento CYP51-21D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-67, GLN-66A y GLN-66B, SER-63B, SER-63A, SER-60B y SER-60A por un lado, y por el otro lado también hay un ambiente polar debido a la presencia LYS-78, el cual es un aminoácido cargado de manera positiva. Asimismo, interacciones de tipo hidrofóbicas se encuentran en las zonas donde hay aminoácidos como ILE-55, TRP-54, TYR-53 y TYR-79, cerca del sustituyente en C-10 que contiene al éster y a la cadena alifática de 3-metilbutilo.

Interacciones FCZ – Derivado #1 de Diosgenina

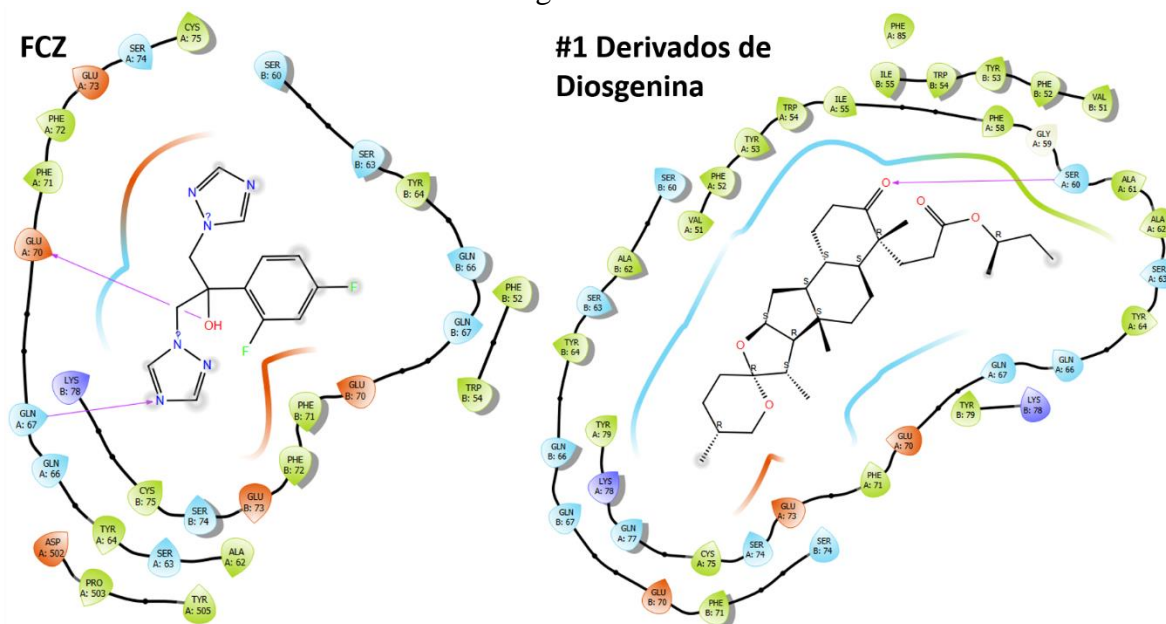


Figura 67. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #1 de los derivados de diosgenina (**1D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #1 de los derivados de diosgenina (“**1D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 67; la molécula 1D mostró una energía de acoplamiento de -4.361, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 1D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-1D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 1D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como PHE-58 y ALA-61.

En el acoplamiento CYP51-1D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-66B, SER-63B y SER-60B por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar debido a la presencia de GLN-67.

Asimismo, ambientes de tipo hidrofóbicos se encuentran en las zonas donde hay aminoácidos como PHE-58A, ALA-61A y ALA-62A, cerca del éster y su cadena alifática de (*1R*)-metilpilo.

Interacciones FCZ – Derivado #5 de Diosgenina

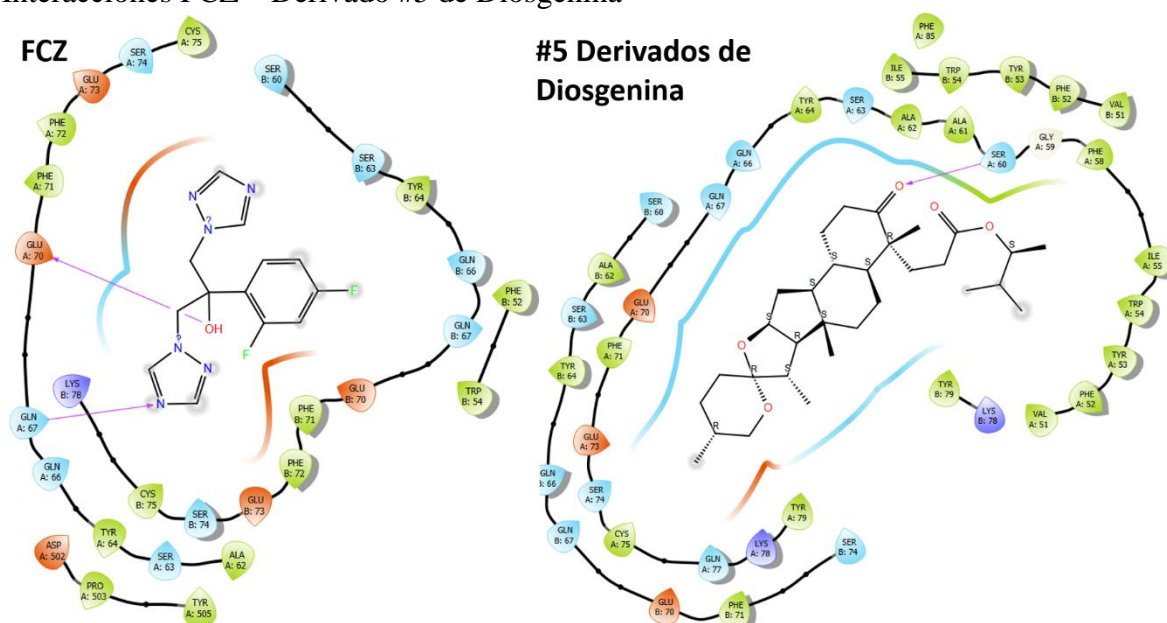


Figura 68. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #5 de los derivados de diosgenina (**5D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #5 de los derivados de diosgenina ("**5D**" en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 68; la molécula 5D mostró una energía de acoplamiento de -4.357 , la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 5D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-5D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. A pesar de ser un derivado de diosgenina, en esta ocasión la molécula está orientada de manera distinta, ya que el éster está cerca del aminoácido SER-60 y el sustituyente (*1S*)-1,2-dimetilpropilo del éster se encuentra dirigido hacia los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como PHE-58, ILE-55, TYR-53, PHE-52 y VAL-51, sin embargo, no interacciona con éstos.

En el acoplamiento CYP51-5D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-66B, SER-63B, SER-60B, GLN-67, GLN-66A y SER-63A por un lado, y por el otro lado también se muestra un ambiente polar cerca de los anillos F, E, D y C de la molécula 5D.

Asimismo, una interacción de tipo hidrofóbica se encuentra en la parte donde están los aminoácidos de ALA-61 y PHE-58, cerca del éster de la molécula 5D; sin embargo, cerca

Interacciones FCZ – Derivado #7 de Diosgenina

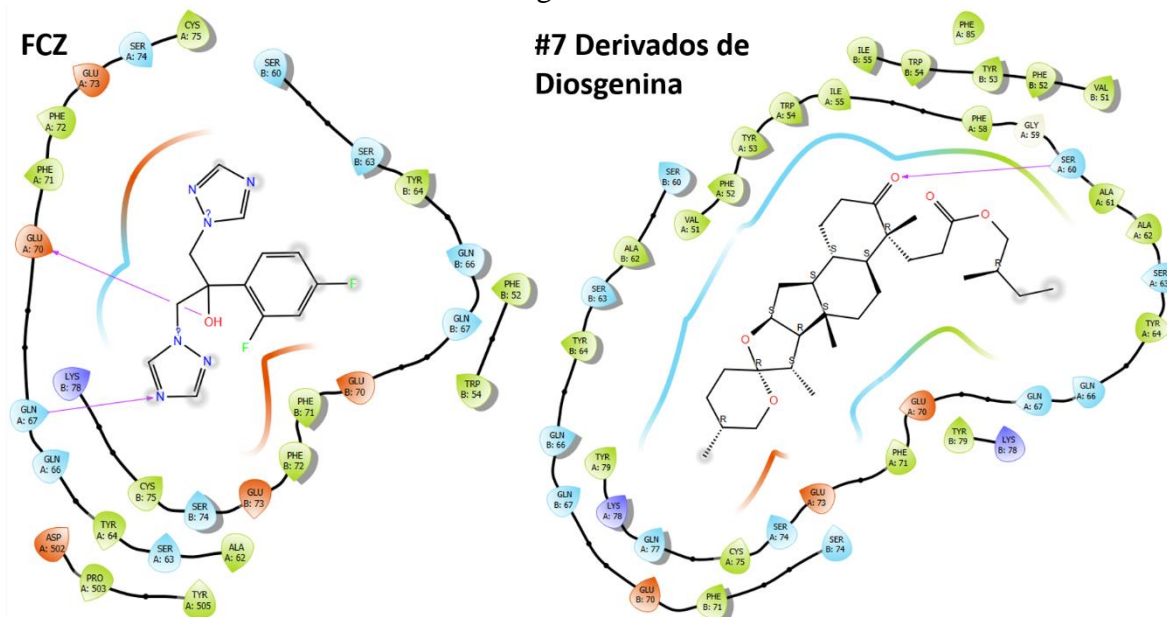


Figura 71. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #7 de los derivados de diosgenina (7D en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #7 de los derivados de diosgenina (“7D” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 71; la molécula 7D mostró una energía de acoplamiento de -4.273 , la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 7D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-7D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 7D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como GLY-59 y PHE-58.

En el acoplamiento CYP51-7D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-66B, SER-63B y SER-60B por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar cerca de los anillos C, D y E de la molécula 7D.

Asimismo, interacciones de tipo hidrofóbicas se encuentran en la parte donde están los aminoácidos de GLY-59A, PHE-58A y TYR-79B.

Interacciones FCZ – Derivado #13 de Diosgenina

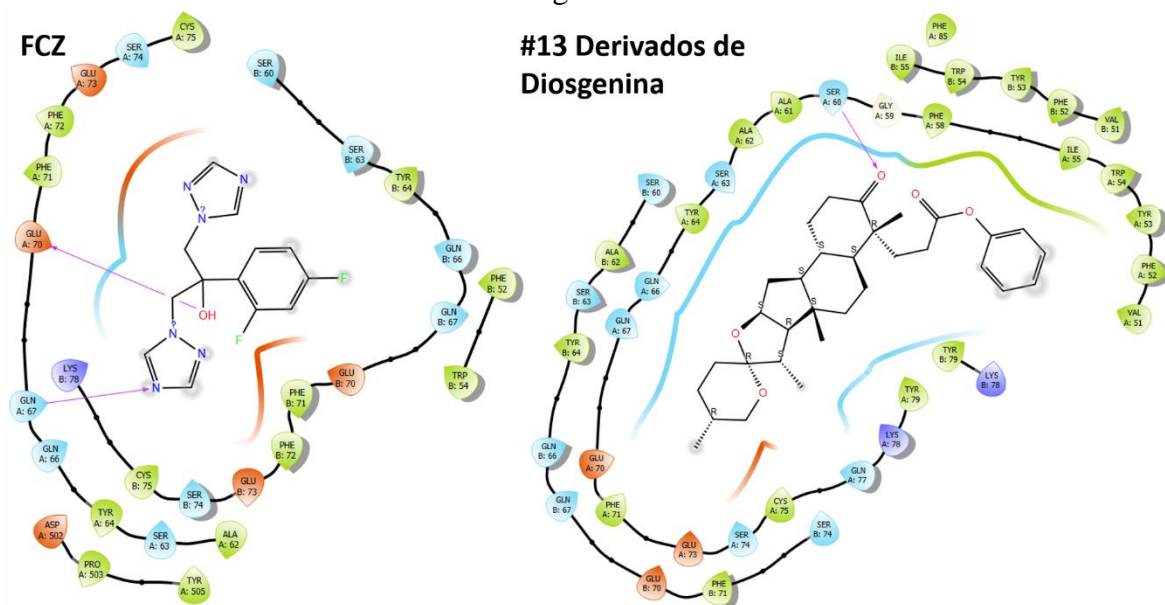


Figura 72. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #13 de los derivados de diosgenina (**13D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #13 de los derivados de diosgenina (“**13D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 72; la molécula 13D mostró una energía de acoplamiento de -4.253, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 13D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-13D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 13D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como PHE-58 y de ILE-55.

En el acoplamiento CYP51-13D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como SER-63B, SER-60B, GLN-67A, GLN-66A, SER-63A y SER-60A por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar cerca de los anillos B, C, D y E de la molécula 13D.

Asimismo, un ambiente de tipo hidrofóbico se encuentra en la parte donde están los aminoácidos de PHE-58, ILE-55 y TRP-54 alrededor del éster y el fenilo unido a éste.

Interacciones FCZ – Derivado #8 de Diosgenina

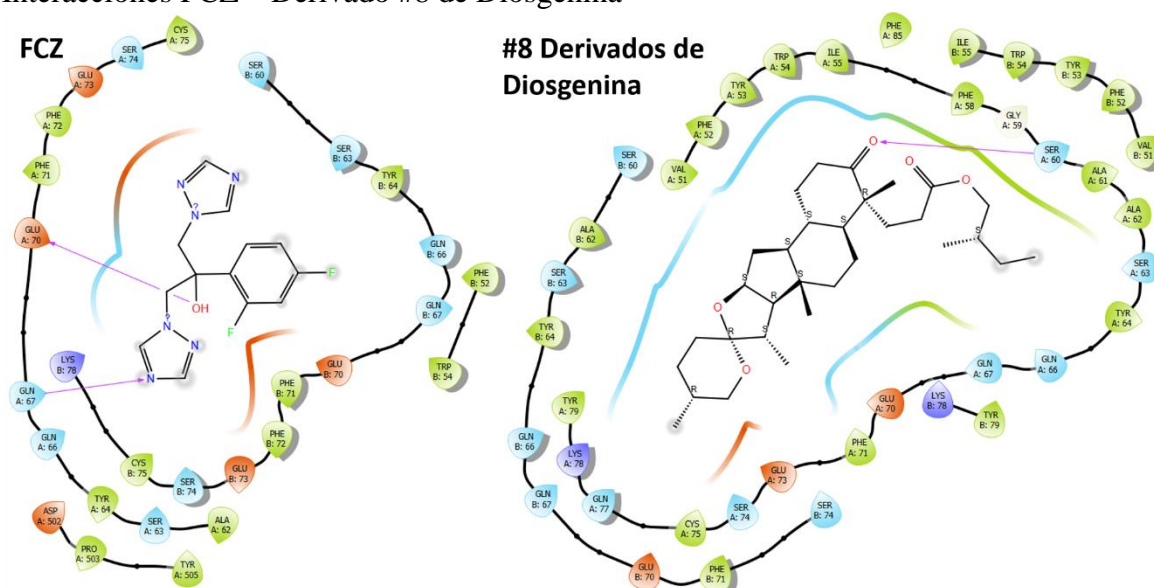


Figura 73. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #8 de los derivados de diosgenina (**8D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #8 de los derivados de diosgenina ("**8D**" en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 73; la molécula 8D mostró una energía de acoplamiento de -4.203 , la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 8D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-8D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 8D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como GLY-59 y PHE-58.

En el acoplamiento CYP51-8D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como GLN-66B, SER-63B y SER-60B por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar cerca de los anillos C, D y E de la molécula 8D.

Asimismo, interacciones de tipo hidrofóbicas se encuentran en la parte donde están los aminoácidos de GLY-59A, PHE-58A, ALA-61A, ALA-62A y TYR-79B, los cuales se encuentran alrededor del éster y su cadena alifática de (2S)-metilbutilo.

Interacciones FCZ – Derivado #19 de Diosgenina

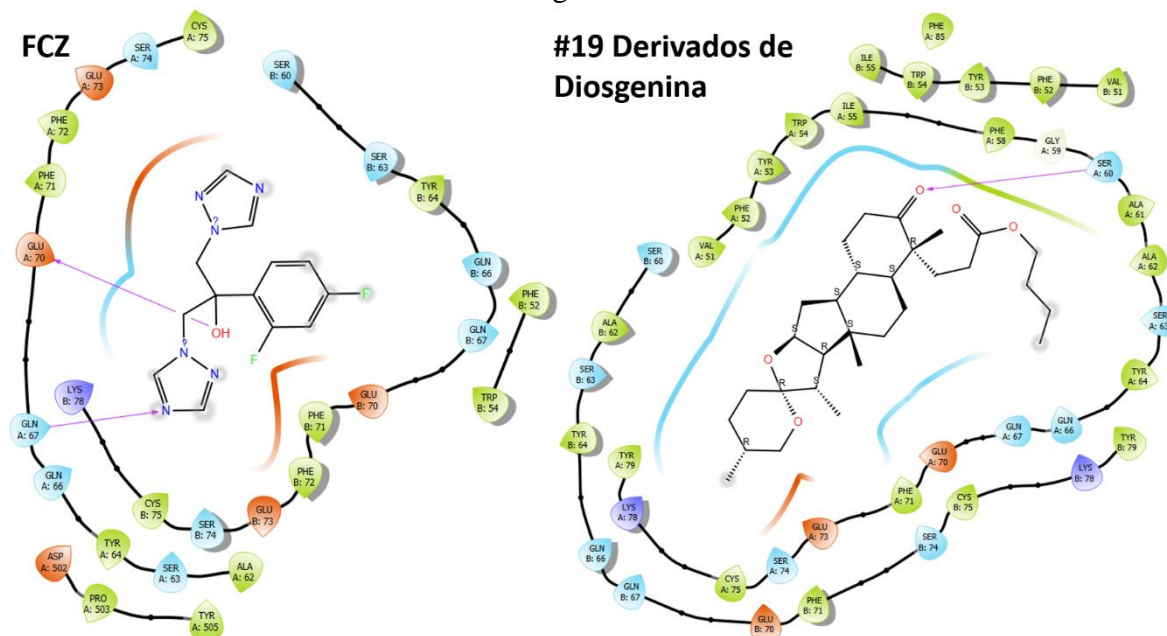


Figura 74. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #19 de los derivados de diosgenina (**19D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #19 de los derivados de diosgenina (“**19D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 74; la molécula 19D mostró una energía de acoplamiento de -4.193, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 19D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-19D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 19D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como PHE-58 y GLY-59.

En el acoplamiento CYP51-19D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como SER-63B y SER-60B por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar cerca de los anillos B, C, D y E de la molécula 19D.

Asimismo, un ambiente de tipo hidrofóbico se encuentra en la parte donde están los aminoácidos de PHE-58, GLY-59 y ALA-61 alrededor del éster; sin embargo, no hay interacción con la cadena alifática de butilo unida al éster.

Interacciones FCZ – Derivado #16 de Diosgenina

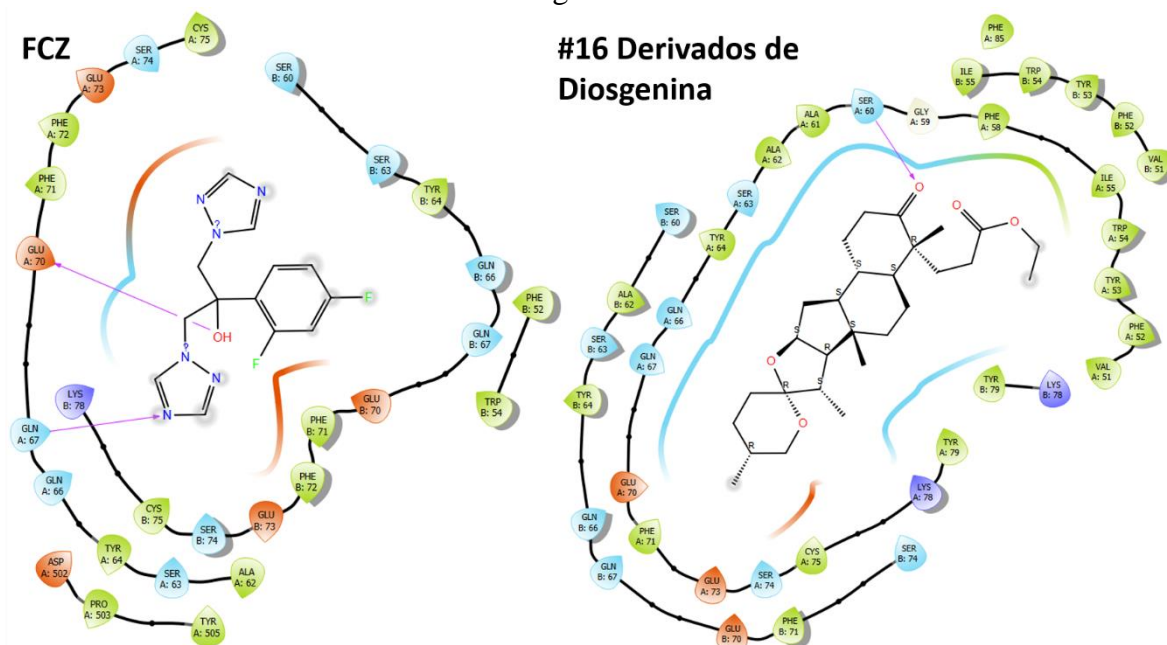


Figura 75. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #16 de los derivados de diosgenina (**16D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #16 de los derivados de diosgenina (“**16D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 75; la molécula 16D mostró una energía de acoplamiento de -4.189, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 16D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-16D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 16D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como ILE-55 y PHE-58.

En el acoplamiento CYP51-16D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en la mayor parte de la molécula, debido a la presencia de aminoácidos polares como SER-63B, SER-60B, GLN-67A, GLN-66A, SER-63A y SER-60A por un lado de la molécula, y por el otro lado también hay un ambiente polar cerca de los anillos B, C, D y E de la molécula 16D.

Asimismo, un ambiente de tipo hidrofóbico se encuentra en la parte donde están los aminoácidos de PHE-58, ILE-55 y TRP-54 alrededor del éster y en una parte de la cadena alifática de etilo unida al éster.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #21

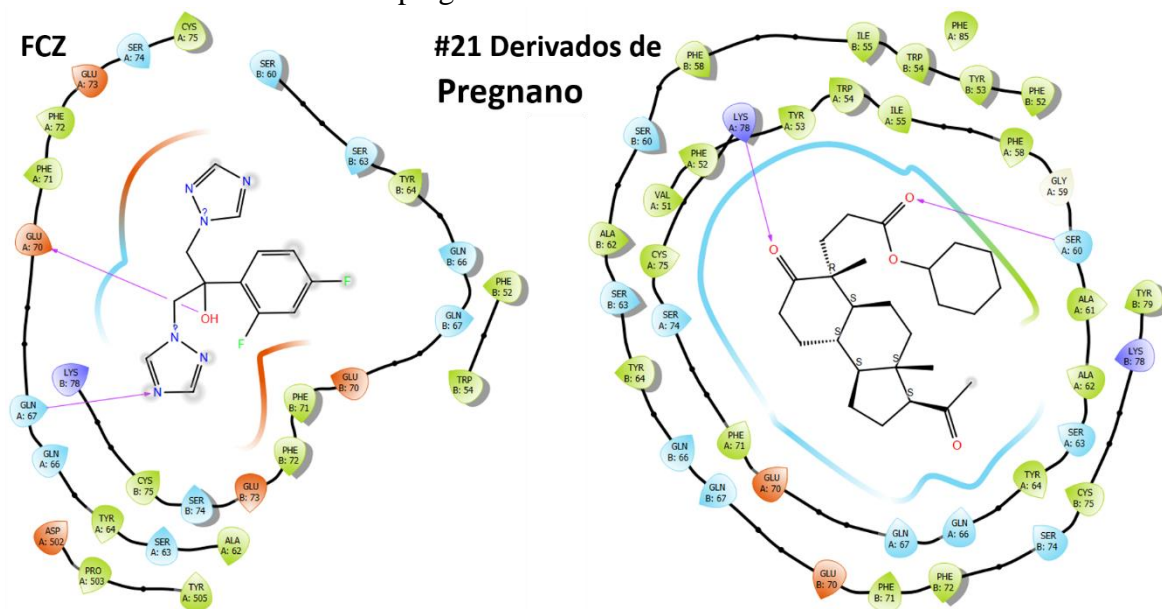


Figura 76. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #21 de los derivados pregnánicos (**21P** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #21 de los derivados pregnánicos (“**21P**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ) se muestran en la Figura 76. La energía de acoplamiento entre CYP51-21P tuvo un valor de -4.101, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 21P tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: cetonas y un éster. En la Figura 76 se puede observar que existen dos interacciones por puentes de hidrógeno, una está dada entre el aminoácido de Lisina-78 (LYS-78) y el oxígeno de la cetona en C-5, en este caso, la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino que contiene en su estructura (-NH₂), por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno de la cetona. El otro puente de hidrógeno está formado entre el OH de la SER-60 (donador de puente de hidrógeno) y el oxígeno del éster (aceptor de puente de hidrógeno).

Al mismo tiempo, existen interacciones hidrofóbicas en una pequeña parte de la molécula 21P debido a la naturaleza hidrofóbica de los aminoácidos que se encuentran cerca del ciclohexil unido al éster, tales como ALA-61A y TYR-79B.

Por otra parte, se forma un ambiente polar alrededor de toda la molécula 21P debido a los aminoácidos polares que se encuentran cerca como: SER-60A, SER-63A, GLN-66A, GLN-67A, SER-74A, SER-74B, GLN-67B, GLN-66B, SER-63B y SER-60B.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #20

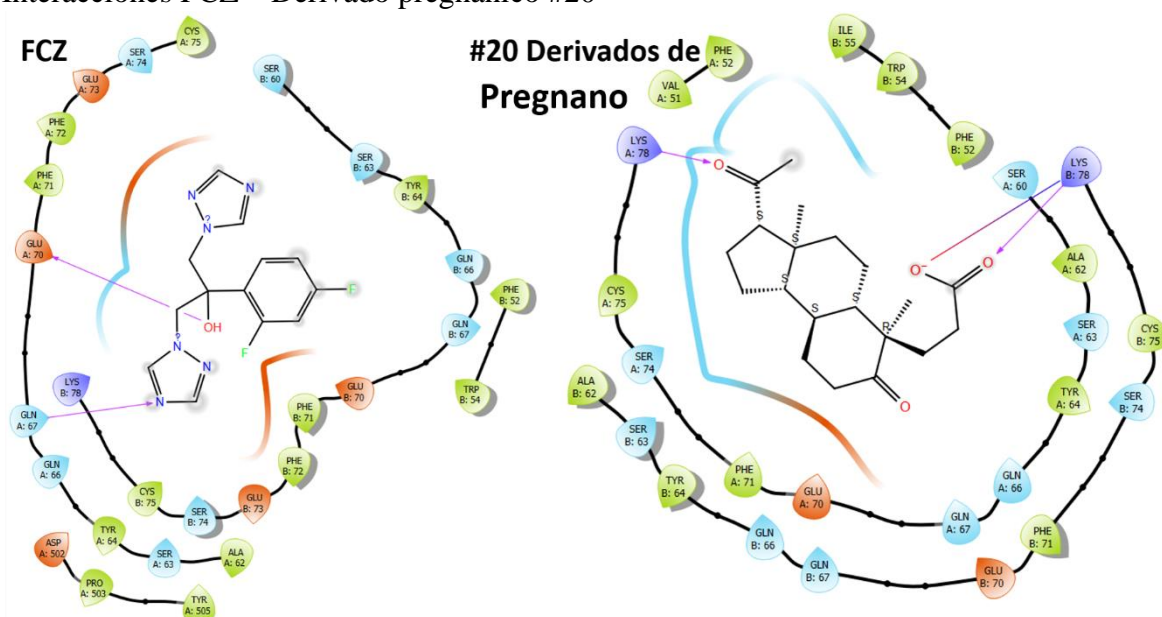


Figura 77. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #20 de los derivados pregnánicos (**20P** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #20 de los derivados pregnánicos (“**20P**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ) se muestran en la Figura 77. La energía de acoplamiento entre CYP51-20P tuvo un valor de -3.970, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 20P tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: cetonas y un éster. En la Figura 77 se puede observar que existen tres interacciones por puentes de hidrógeno, una de ellas está dada entre el aminoácido de Lisina-78A (LYS-78, cadena A) y el oxígeno de la cetona en C-20; los otros dos puentes de hidrógeno están formados entre la LYS-78B y los dos oxígenos del carboxilato de la molécula 20P; en los tres casos la LYS-78 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo amino que contiene en su estructura (-NH₂), por tanto, los aceptores del puente de hidrógeno son el oxígeno de la cetona en C-20 y los oxígenos del grupo carboxilato, respectivamente.

Interacciones FCZ – Derivado #17 de Diosgenina

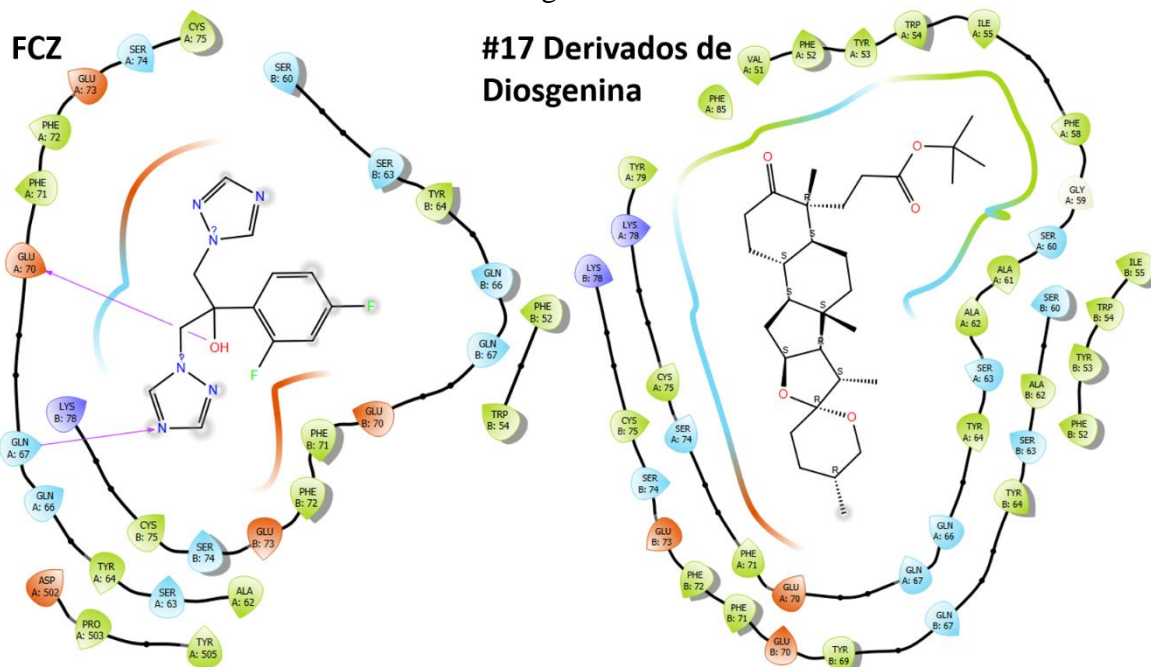


Figura 78. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #17 de los derivados de diosgenina (**17D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #17 de los derivados de diosgenina (“**17D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 78; la molécula 17D mostró una energía de acoplamiento de -3.928, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 17D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, una cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-17D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 17D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como TYR-53 y PHE-52.

En el acoplamiento CYP51-17D no se muestra ninguna interacción por puente de hidrógeno, solo se observan ambientes de distintas naturalezas, por ejemplo, aminoácidos como TYR-79, PHE-85, VAL-51, TRP-54, ILE-55, PHE-58 y ALA-61, forman ambientes hidrofóbicos⁹ alrededor de la cetona y del sustituyente de 1,1-dimetiletilo unido al éster.

Por otra parte, aminoácidos como SER-74A, SER-74B, SER-60A y SER-60B, forman ambientes polares cerca del esqueleto de la molécula 17D, así como también alrededor del éster.

Por último, se puede observar una pequeña parte en color rojo, la cual indica que existe un ambiente no polar en esa zona debido a la presencia de aminoácidos hidrofóbicos como PHE-71A, PHE-71B y PHE-72B.

Interacciones FCZ – Derivado pregnánico #19

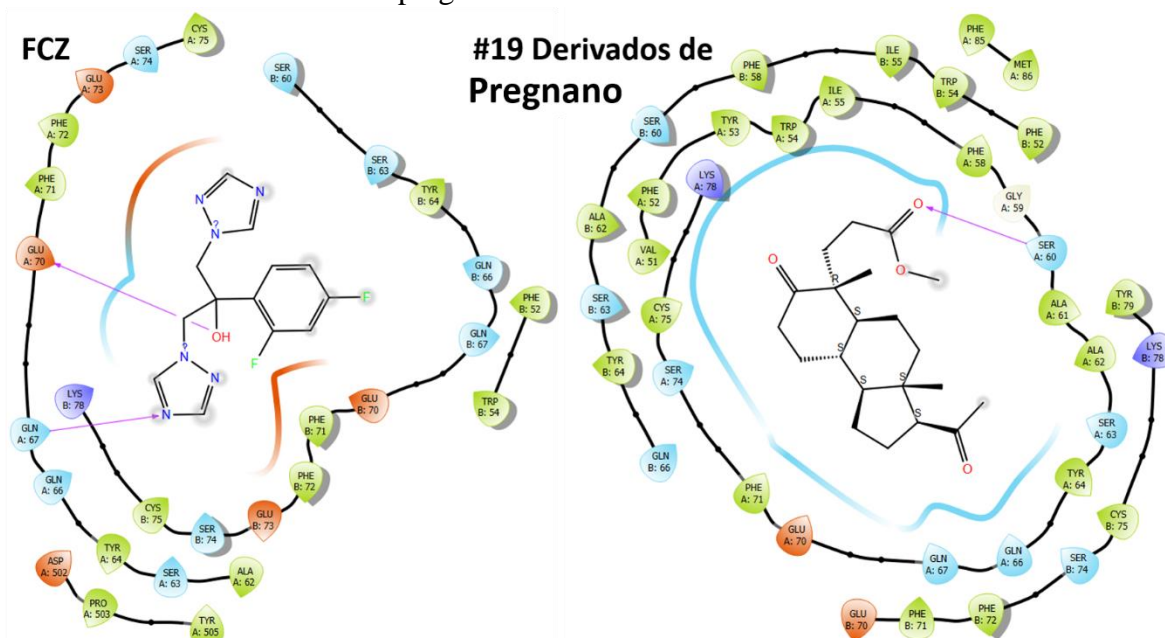


Figura 80. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #19 de los derivados pregnánicos (**19P** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #19 de los derivados pregnánicos (“**19P**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ) se muestran en la Figura 80. La energía de acoplamiento entre CYP51-19P tuvo un valor de -3.488, la cual es menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 19P tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: cetonas y un éster. En la Figura 80 se puede observar que existe solo una interacción por puente de hidrógeno, la cual está dada entre el aminoácido de SER-60A y el oxígeno del éster, en donde la SER-60 actúa como el donador de puente de hidrógeno por el grupo alcohol que contiene en su estructura (-OH), por tanto, el aceptor del puente de hidrógeno es el oxígeno del éster.

En el acoplamiento CYP51-19P solo se pueden observar ambientes de naturaleza polar en todo el sitio de unión, esto es por aminoácidos polares que se encuentran cerca de la molécula 19P como: SER-60A, SER-63A, GLN-66A, GLN-67A, SER-74A, SER-74B, GLN-66B, SER-63B y SER-60B.

Interacciones FCZ – Derivado #9 de Diosgenina

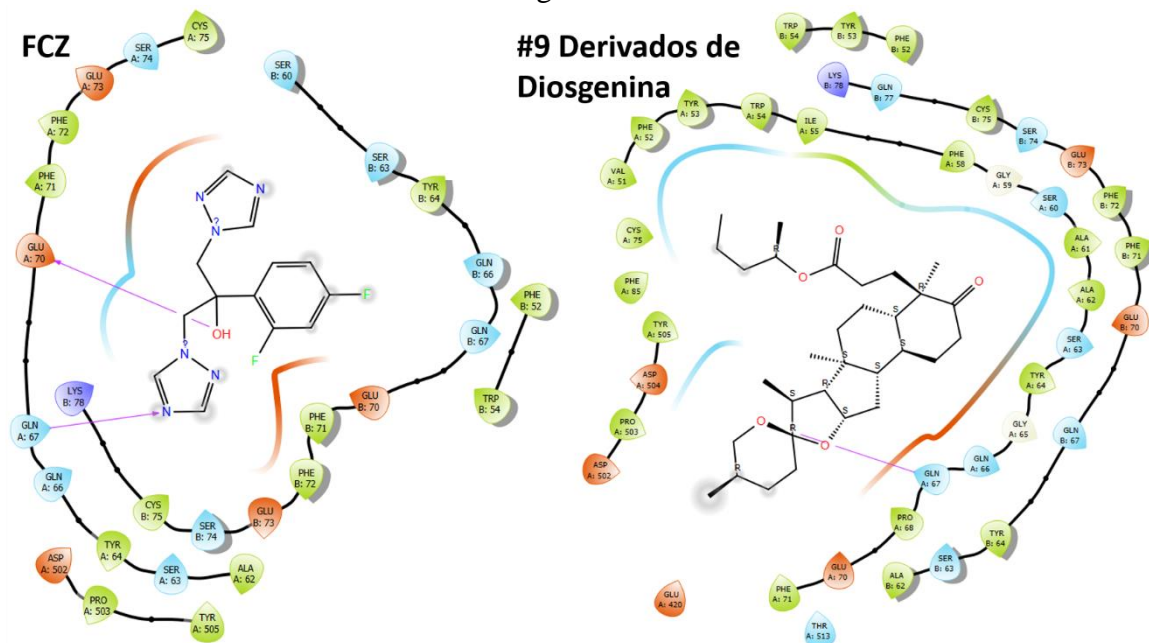


Figura 81. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #9 de los derivados de diosgenina (**9D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #9 de los derivados de diosgenina (“**9D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 81; la molécula 9D mostró una energía de acoplamiento de -3.426, la cual es mucho menor a la del FCZ (-4.616), de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 9D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, una cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-9D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 9D está orientada de tal manera que el éster se encuentra cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como ILE-55. En el acoplamiento CYP51-9D solo se muestra una interacción por puente de hidrógeno, la cual está formada por el alcohol (-OH) que contiene la Serina-60 y el oxígeno de la cetona en C-5, donde éste último actúa como el aceptor, mientras que SER-60 actúa como el donador del puente de hidrógeno.

Además, se pueden observar interacciones de tipo polar en distintas partes de la molécula, sin embargo, solo se muestra una pequeña parte con ambientes hidrofóbicos y no polares (en distintas zonas cada uno).

Interacciones FCZ – Derivado #20 de Diosgenina

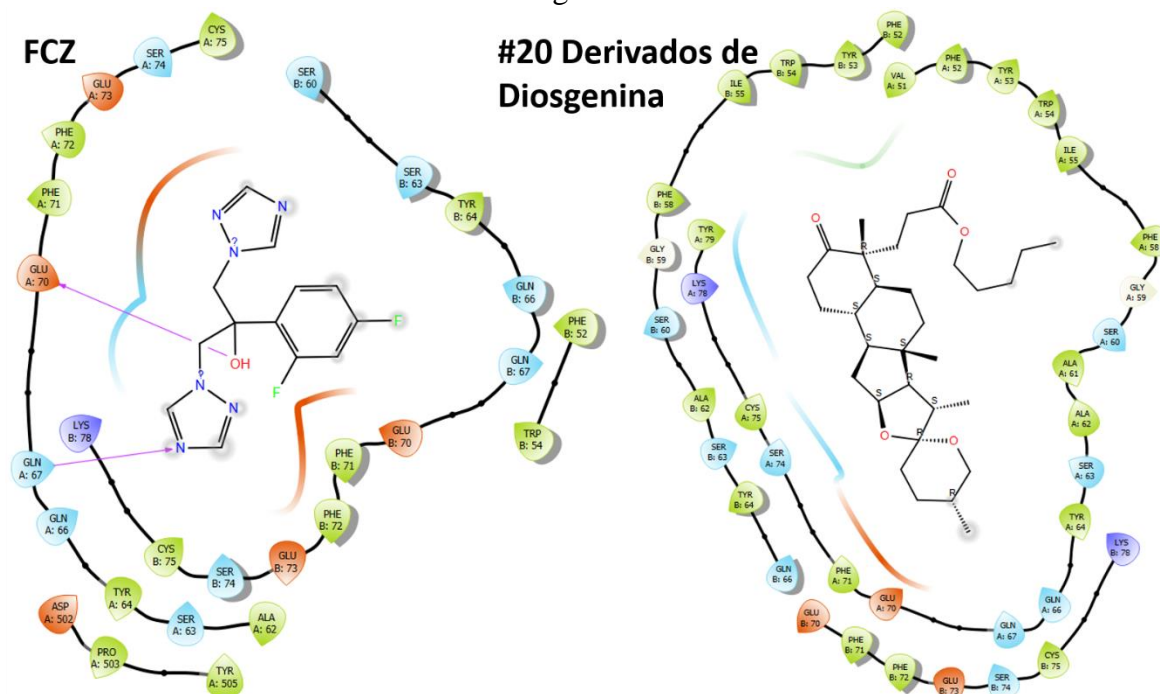


Figura 82. Comparación de las interacciones entre CYP51-FCZ y CYP51- Estructura #20 de los derivados de diosgenina (**20D** en Figura 62).

Las interacciones moleculares entre la CYP51 y la estructura #20 de los derivados de diosgenina (“**20D**” en Figura 62), en comparación con las del Fluconazol (FCZ), se muestran en la Figura 82; la molécula 20D mostró una energía de acoplamiento de -3.220, la cual resultó ser la menor de todas las energías de acoplamiento obtenidas tanto de los derivados pregnánicos como de diosgenina, de acuerdo con la recta numérica en la Figura 62. A diferencia del FCZ, la molécula 20D tiene centros asimétricos y distintos grupos funcionales en su estructura, éstos son: éteres, una cetona y un éster. Además, mientras que el acoplamiento CYP51-FCZ presenta interacciones polares y no polares, el acoplamiento CYP51-20D muestra interacciones polares, no polares e hidrofóbicas debido al tipo de aminoácidos que se encuentran interaccionando con cada parte de la molécula. Al ser un derivado de diosgenina también se observa que la molécula 20D está orientada de tal manera que el éster está cerca de los aminoácidos de naturaleza hidrofóbica como TYR-53 y PHE-52.

En el acoplamiento CYP51-20D no se muestra ninguna interacción por puente de hidrógeno, solo se observan ambientes de distintas naturalezas, por ejemplo, aminoácidos como TYR-79, PHE-85, VAL-51, TRP-54, ILE-55, PHE-58 y ALA-61, forman un pequeño ambiente hidrofóbico cerca de la cetona y el éster.

Por otra parte, aminoácidos como SER-74A, SER-63B y SER-60B, forman ambientes polares cerca del esqueleto de la molécula 20D.

4.9 Análisis tridimensional de las interacciones entre las moléculas 1P, 7P, 11P y la enzima CYP51, y resultados del radar de biodisponibilidad

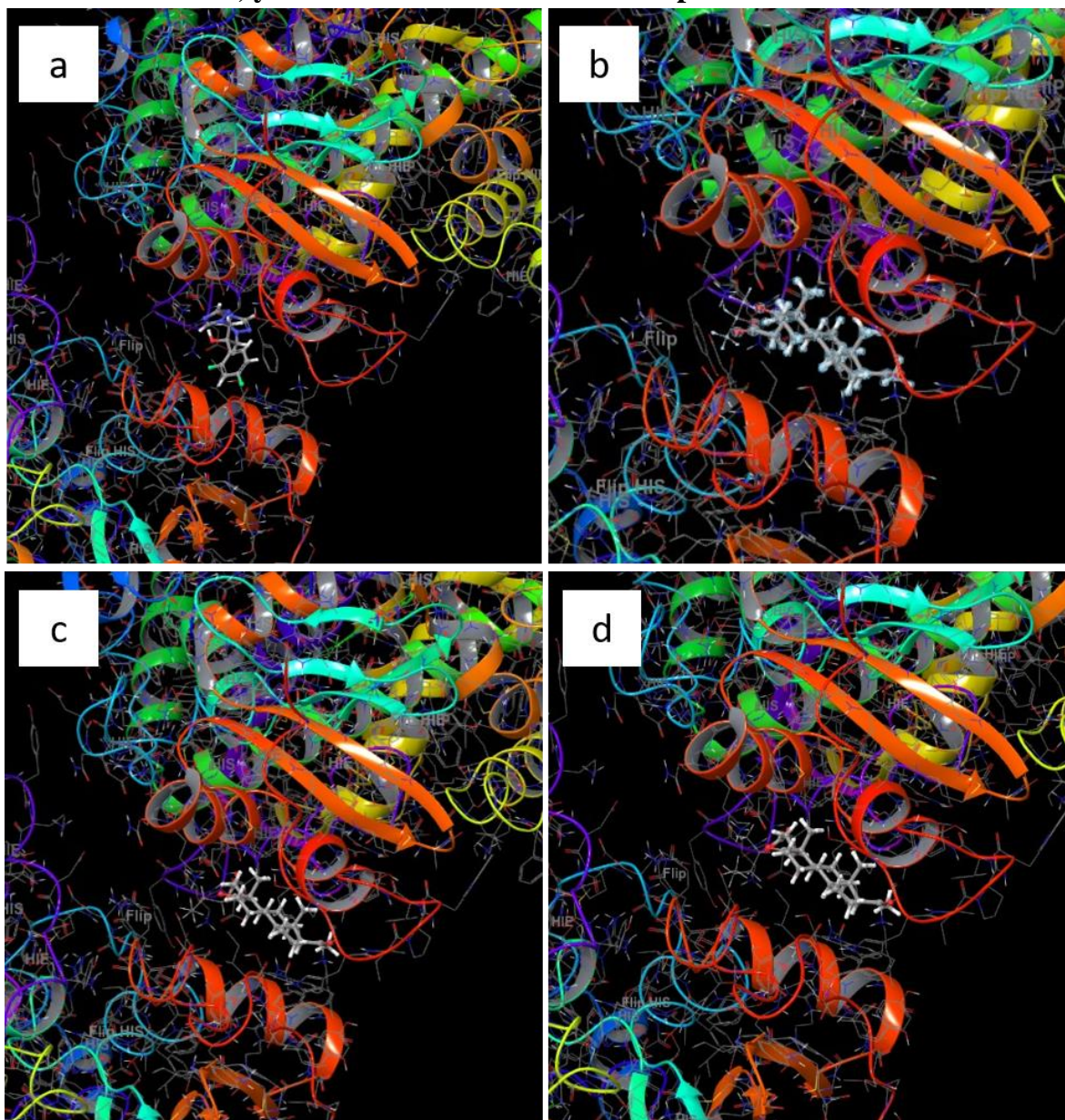


Figura 83. Modelo tridimensional de los acoplamientos moleculares entre a) CYP51-FCZ, b) CYP51-1P, c) CYP51-7P y d) CYP51-11P.

En la Figura 83 se muestran los acoplamientos moleculares en 3D entre la enzima CYP51 y el Fluconazol (Figura 83a) comparada con los acoplamientos entre CYP51 y las moléculas 1P, 7P y 11P (Figura 83b, c y d, respectivamente). Se puede observar que las cuatro moléculas se acoplan en el mismo sitio de unión de la enzima CYP51, esto quiere decir que todas interactúan con los mismos aminoácidos que conforman esa parte de la proteína, lo que resulta congruente con los análisis de las interacciones hechos anteriormente, en donde se observa que cada una de las moléculas de derivados de progesterona se encuentran en la misma zona dentro de la enzima CYP51.

Para saber si las moléculas propuestas podían fungir como sustratos de la enzima CYP51, se hizo uso del servidor “Swiss Target Prediction”, el cual es un sitio web (desde 2014) que tiene como objetivo predecir las dianas proteicas más probables de moléculas pequeñas (posiblemente bioactivas). Como resultado se obtuvo que, tanto el Fluconazol como las moléculas 1P, 7P y 11P, son posiblemente sustratos del citocromo P450, tal y como se esperaba.

Por otra parte, para predecir la naturaleza farmacológica y compatibilidad química médica de las moléculas de derivados de progesterona 1P, 7P y 11P, con el fin de respaldar los resultados obtenidos hasta el momento, se hizo uso del servidor web SwissADME, el cual da información acerca de los parámetros más importantes para predecir su biodisponibilidad.

El radar de biodisponibilidad permite un primer vistazo a la semejanza de una molécula con un fármaco. El área rosa representa el rango óptimo para cada propiedad:

1. Lipofilia: $\text{LogP}_{o/w} < 5.0$.
2. Tamaño: PM entre 150 y 500 g/mol.
3. Polaridad: área de superficie polar topológica (TPSA) entre 20 y 130\AA^2 .
4. Solubilidad: $\text{logS} < 6$.
5. Saturación: fracción de carbonos en la hibridación sp^3 no inferior a 0.25.
6. Flexibilidad: no más de 9 enlaces giratorios.

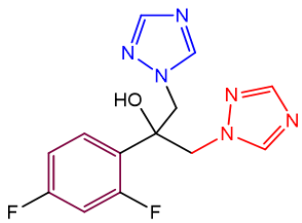
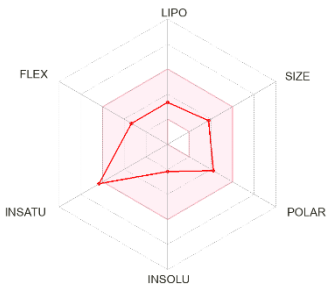
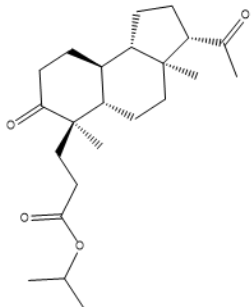
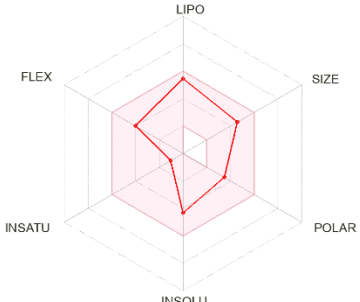
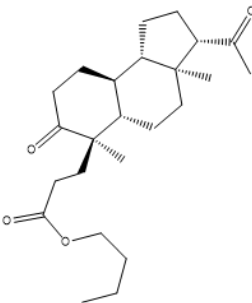
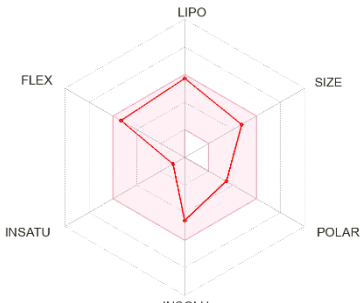
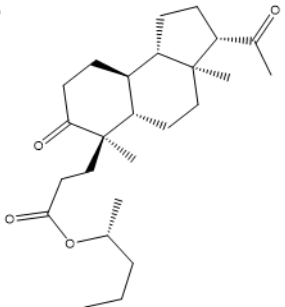
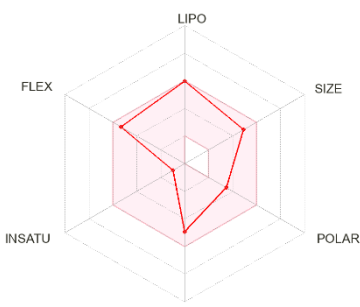
El coeficiente de reparto entre el n-octanol y el agua ($\text{log P}_{o/w}$) es el descriptor clásico de lipofilidad.

Tener una molécula soluble facilita enormemente muchas actividades de desarrollo de fármacos, principalmente la facilidad de manejo y formulación. Además, para los proyectos de descubrimiento dirigidos a la administración oral, la solubilidad es una propiedad importante que influye en la absorción. Un fármaco destinado a uso parenteral tiene que ser altamente soluble en agua para administrar una cantidad suficiente de ingrediente activo en el pequeño volumen de tal dosificación farmacéutica.

En la Tabla 8 se muestra la representación pictórica del radar de biodisponibilidad del Fluconazol y de las tres moléculas con una mayor energía de acoplamiento que la de éste mismo (1P, 7P, y 11P). Dicho radar se representa como un hexágono de color rosa, en donde las propiedades de las moléculas en estudio deben caer por completo para que puedan ser consideradas como fármacos o similares a ellos.

Como resultado se obtuvo que los radares de cada una de las moléculas cumplen con las características fisicoquímicas de biodisponibilidad, ya que en los cuatro casos todos los puntos caen dentro del rango de su respectivo eje (dentro del hexágono rosa), por tanto, todas pueden ser consideradas como posibles fármacos antifúngicos (ver Tabla 8).

Tabla 8. Resultados obtenidos en SwissADME.

Molécula	Radar de biodisponibilidad
<p>FCZ</p> 	
<p>1P</p> 	
<p>7P</p> 	
<p>11P</p> 	

Además, las cuatro moléculas (FCZ, 1P, 7P y 11P) cumplen con las reglas de Lipinski ($PM < 500 \text{ g/mol}$, OH o $\text{NH} \leq 5$, O o $\text{N} \leq 10$ y $c\text{LogP} < 5$), las cuales expresan que la biodisponibilidad oral debe tener un balance entre la solubilidad acuosa del compuesto activo y su habilidad para poder difundir de manera pasiva a través de los diferentes tipos de membranas biológicas.

5. CONCLUSIONES

- Se diseñaron 44 derivados distintos a partir de esteroides importantes como diosgenina y progesterona. Se analizó la estructura molecular de cada una de las moléculas (grupos funcionales, esteroquímica, tipo de esqueleto, sustituyentes, entre otros).
- Se hizo uso de herramientas bioinformáticas que permitieron realizar los acoplamientos ligando-proteína con cada una de las moléculas propuestas y la enzima CYP51, así como también, nos permitieron observar y analizar cada una de las interacciones formadas entre los ligandos y los aminoácidos que conforman dicha enzima.
- Los acoplamientos moleculares se realizaron tomando como referencia el valor de la energía de acoplamiento fluconazol-CYP51, la cual tuvo un valor de -4.616 kcal/mol. A partir de este valor, en dichos acoplamientos se obtuvo una mayor cantidad de derivados pregnánicos (18 en total) que presentaron una mejor energía de acoplamiento que la de referencia ($-6.469 \geq \text{“xP”} > -4.616$), mientras que solo seis derivados de diosgenina obtuvieron una energía de acoplamiento mayor a la del Fluconazol, aunque con valores menos favorecidos ($-5.815 \geq \text{“xD”} > -4.616$) que aquellos mostrados con la mayoría de los derivados pregnánicos. Estos resultados se deben a la diferencia de tamaños entre los derivados pregnánicos y de diosgenina, ya que los derivados pregnánicos son mucho más pequeños (con tres anillos contiguos en su esqueleto), lo que permite que tengan una mayor interacción con los aminoácidos que conforman el sitio activo de la enzima CYP51, mientras que el gran tamaño de los derivados de diosgenina (esqueleto con 4 anillos contiguos y un espiro), ocasiona que dichas moléculas no se acoplen al sitio de unión de manera óptima, por lo que los aminoácidos de dicha zona y las moléculas de diosgenina, no interaccionan del todo o si lo hacen, lo hacen con una energía de acoplamiento menos favorable que los derivados pregnánicos.
- Las tres moléculas con una energía de acoplamiento mayormente favorecida fueron los derivados pregnánicos 1, 7 y 11, con valores de -6.469 , -6.451 y -6.432 (kcal/mol), respectivamente.
- Tanto el fluconazol (fármaco de referencia), como las moléculas 1P, 7P y 11P, se acoplaron en el mismo sitio de unión de la enzima CYP51, lo que confirma el análisis interaccional descrito en las secciones **4.6: “Análisis de las interacciones entre la CYP51 y el antimicótico fluconazol (fármaco de referencia)”** y **4.7: “Análisis de las interacciones entre la CYP51 y los derivados pregnánicos y de diosgenina que presentaron una mejor energía de acoplamiento que la del fluconazol”**
- Se diseñó una ruta sintética para obtener dichos derivados esteroidales en un estudio que se hará posteriormente como complemento del presente trabajo.
- Con el estudio realizado, se espera un futuro prometedor en el descubrimiento de nuevos fármacos antifúngicos más eficientes y menos dañinos para la salud, ya que

las herramientas bioinformáticas ayudan a estudiar y analizar a fondo la manera de administrar y metabolizar dichos fármacos para evitar efectos secundarios adversos.

- Los estudios *in silico* permiten realizar investigación de manera más rápida, más efectiva y menos costosa para el descubrimiento de nuevos fármacos, debido a que primero se lleva a cabo una vasta investigación de moléculas con posible actividad biológica, descartando aquellas que no presentan las características requeridas para ello como lo son: sus propiedades fisicoquímicas, lipofilicidad, solubilidad, farmacocinética, entre otras. Una vez seleccionadas las moléculas que cumplen con dichas características, y haber analizado su acoplamiento molecular con ciertas proteínas (dianas biológicas), se procede a realizar la síntesis de dichas moléculas para poder realizar estudios *in vitro* o *in vivo*, posteriormente, sin desperdiciar tiempo ni materia prima.
- Los análisis *in silico* son el futuro de una mejor calidad de vida, ya que su aplicación abarca tanto el área médica como la agricultura y el medio ambiente.

6. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Immunobiology - The Immune System in Health and Disease (5th Ed.) – Garland Publishing by Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M., (Eds.), (2001)
- [2] Walker, D. H., & McGinnis, M. R. (2014). Diseases Caused by Fungi. In *Pathobiology of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia of Disease Mechanisms* (pp. 217–221). Elsevier Inc.
- [3] Kyriakidis, I., Tragiannidis, A., Munchen, S., & Groll, A. H. (2017). Clinical hepatotoxicity associated with antifungal agents. In *Expert Opinion on Drug Safety* (Vol. 16, Issue 2, pp. 149–165). Taylor and Francis Ltd.
- [4] Enoch, D. A., Yang, H., Aliyu, S. H., & Micallef, C. (2017). The changing epidemiology of invasive fungal infections. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1508, pp. 17–65). Humana Press Inc.
- [5] Monk, B. C., Tomasiak, T. M., Keniya, M. v., Huschmann, F. U., Tyndall, J. D. A., O'Connell, J. D., Cannon, R. D., McDonald, J. G., Rodriguez, A., Finer-Moore, J. S., & Stroud, R. M. (2014). Architecture of a single membrane spanning cytochrome P450 suggests constraints that orient the catalytic domain relative to a bilayer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(10), 3865–3870.
- [6] Zhang, J., Li, L., Lv, Q., Yan, L., Wang, Y., & Jiang, Y. (2019). The fungal CYP51s: Their functions, structures, related drug resistance, and inhibitors. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A.
- [7] Lepesheva, G. I., Hargrove, T. Y., Kleshchenko, Y., Nes, W. D., Villalta, F., & Waterman, M. R. (2008). CYP51: A major drug target in the cytochrome P450 superfamily. *Lipids*, 43(12), 1117–1125.
- [8] Hargrove, T. Y., Wawrzak, Z., Liu, J., Waterman, M. R., David Nes, W., & Lepesheva, G. I. (2012). Structural complex of sterol 14 α -demethylase (CYP51) with 14 α -methylenecyclopropyl- Δ^7 -24, 25-dihydrolanosterol. *Journal of Lipid Research*, 53(2), 311–320.
- [9] Kalita, S., Shaik, S., & Dubey, K. D. (2022). Mechanistic Conundrum of C-C Bond Cleavage by CYP51. *ACS Catalysis*, 12(9), 5673–5683.
- [10] Strushkevich, N., Usanov, S. A., & Park, H. W. (2010). Structural basis of human CYP51 inhibition by antifungal azoles. *Journal of Molecular Biology*, 397(4), 1067–1078.
- [11] Dufourc, E. J. (2008). Sterols and membrane dynamics. *Journal of Chemical Biology*, 1(1–4), 63–77.
- [12] Emami, S., Tavangar, P., & Keighobadi, M. (2017). An overview of azoles targeting sterol 14 α -demethylase for antileishmanial therapy. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 135, pp. 241–259). Elsevier Masson s.r.l.
- [13] Nett, J. E., & Andes, D. R. (2016). Antifungal Agents: Spectrum of Activity, Pharmacology, and Clinical Indications. In *Infectious Disease Clinics of North America* (Vol. 30, Issue 1, pp. 51–83). W.B. Saunders.
- [14] Lepesheva, G. I., & Waterman, M. R. (2011). Sterol 14 α -Demethylase (CYP51) as a Therapeutic Target for Human Trypanosomiasis and Leishmaniasis. In *Current Topics in Medicinal Chemistry* (Vol. 11).
- [15] Mishra, J., Saxena, A., & Singh, S. (2007). Chemotherapy of Leishmaniasis: Past, Present and Future. In *Current Medicinal Chemistry* (Vol. 14).
- [16] Hargrove, T. Y., Wawrzak, Z., Lamb, D. C., Guengerich, F. P., & Lepesheva, G. I. (2015). Structure-functional characterization of cytochrome P450 Sterol 14 α -Demethylase (CYP51B) from *aspergillus fumigatus* and molecular basis for the development of antifungal drugs. *Journal of Biological Chemistry*, 290(39), 23916–23934.
- [17] Benitez, L. L., & Carver, P. L. (2019). Adverse Effects Associated with Long-Term Administration of Azole Antifungal Agents. In *Drugs*. Springer International Publishing.

- [18] Fisher, M. C., Alastruey-Izquierdo, A., Berman, J., Bicanic, T., Bignell, E. M., Bowyer, P., Bromley, M., Brüggemann, R., Garber, G., Cornely, O. A., Gurr, S. J., Harrison, T. S., Kuijper, E., Rhodes, J., Sheppard, D. C., Warris, A., White, P. L., Xu, J., Zwaan, B., & Verweij, P. E. (2022). Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. In *Nature Reviews Microbiology*. Nature Research.
- [19] Kato, I., Ukai, Y., Kondo, N., Nozu, K., Kimura, C., Hashimoto, K., Mizusawa, E., Maki, H., Naito, A., & Kawai, M. (2021). Identification of Thiazoyl Guanidine Derivatives as Novel Antifungal Agents Inhibiting Ergosterol Biosynthesis for Treatment of Invasive Fungal Infections. *Journal of Medicinal Chemistry*, 64(14), 10482–10496.
- [20] Shrivastava, M., Sharma, P., & Singh, R. (n.d.). Chemical Biology LETTERS Identification of potential CYP51 inhibiting anti-Aspergillus phytochemicals using molecular docking and ADME/T studies. In *Chemical Biology Letters Chem. Biol. Lett* (Vol. 2021, Issue 1).
- [21] Dahlin, P., Müller, M. C., Ekengren, S., McKee, L. S., & Bulone, V. (2017). The impact of steroidal glycoalkaloids on the physiology of *Phytophthora infestans*, the causative agent of potato late blight. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 30(7), 531–542.
- [22] Hughes, H. B., Morrissey, J. P., & Osbourn, A. E. (2004). Characterisation of the saponin hydrolysing enzyme avenacoside- α α -l-rhamnosidase from the fungal pathogen of cereals, *Stagonospora avenae*. In *European Journal of Plant Pathology* (Vol. 110).
- [23] Munafo, J. P., & Gianfagna, T. J. (2011). Antifungal activity and fungal metabolism of steroidal glycosides of Easter lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) by the plant pathogenic fungus, *Botrytis cinerea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 5945–5954.
- [24] Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D., & Benítez, R. (2016). Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 45(3), 438–469.
- [25] al Sinani, S. S. S., & Eltayeb, E. A. (2017). The steroidal glycoalkaloids solamargine and solasonine in *Solanum* plants. In *South African Journal of Botany* (Vol. 112, pp. 253–269). Elsevier B.V.
- [26] Ginzberg, I., Tokuhisa, J. G., & Veilleux, R. E. (2009). Potato steroidal glycoalkaloids: Biosynthesis and genetic manipulation. In *Potato Research* (Vol. 52, Issue 1, pp. 1–15).
- [27] Friedman, M. (2002). Tomato glycoalkaloids: Role in the plant and in the diet. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 50, Issue 21, pp. 5751–5780).
- [28] Sánchez-Mata, M. C., Yokoyama, W. E., Hong, Y. J., & Prohens, J. (2010). α -Solasonine and α -solamargine contents of gboma (*Solanum macrocarpon* L.) and scarlet (*Solanum aethiopicum* L.) eggplants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(9), 5502–5508.
- [29] Trivedi, P., & Pundarikakshudu, K. (2007). Novel TLC densitometric method for quantification of solasodine in various *Solanum* species, market samples and formulations. *Chromatographia*, 65(3–4), 239–243.
- [30] Friedman, M. (2004). Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. In *Journal of Chromatography A* (Vol. 1054, Issues 1–2, pp. 143–155).
- [31] Milner, S. E., Brunton, N. P., Jones, P. W., O'Brien, N. M., Collins, S. G., & Maguire, A. R. (2011). Bioactivities of glycoalkaloids and their aglycones from *Solanum* species. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 59, Issue 8, pp. 3454–3484).
- [32] Alozie, S. O., Sharma, R. P., & Salunkhe, D. K. (1979). Inhibition of rat Cholinesterase Isoenzymes in vitro and in vivo by the potato alkaloid, α -Chaconine.
- [33] Keukens, E. A. J., de Vrije, T., van den Boom, C., de Waard, P., Plasman, H. H., Thiel, F., Chupin, V., Jongen, W. M. F., & de Kruijff, B. (1995). Biochimica et Biophysica Acta Molecular basis of glycoalkaloid induced membrane disruption. In *Biochimica et Biophysica Acta* (Vol. 1240).

- [34] Sánchez-Maldonado, A. F., Schieber, A., & Gänzle, M. G. (2016). Antifungal activity of secondary plant metabolites from potatoes (*Solanum tuberosum* L.): Glycoalkaloids and phenolic acids show synergistic effects. *Journal of Applied Microbiology*, 120(4), 955–965.
- [35] Shen, D. D., Hua, Y. P., Huang, J. Y., Yu, S. T., Wu, T. B., Zhang, Y., Chen, H. L., & Yue, C. P. (2022). Multiomic Analysis Reveals Core Regulatory Mechanisms underlying Steroidal Glycoalkaloid Metabolism in Potato Tubers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(1), 415–426.
- [36] Agrawal, P., Bhalla, S., Chaudhary, K., Kumar, R., Sharma, M., & Raghava, G. P. S. (2018). In silico approach for prediction of antifungal peptides. *Frontiers in Microbiology*, 9(FEB).
- [37] Soltani, S., Keymanesh, K., & Sardari, S. (2007). In silico analysis of antifungal peptides: Determining the lead template sequence of potent antifungal peptides. In *Expert Opinion on Drug Discovery* (Vol. 2, Issue 6, pp. 837–847).
- [38] Madhavi Sastry, G., Adzhigirey, M., Day, T., Annabhimoju, R., & Sherman, W. (2013). Protein and ligand preparation: Parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 27(3), 221–234.
- [39] S.R. 2021-3:, Glide, Schrödinger, LLC, New York, NY., (2021).
- [40] Schrödinger, MacroModel, (2021).
- [41] S.R. 2021-3:, LigPrep, Schrödinger, LLC, New York, NY, 2021., (2021).
- [42] User Manual, Q. (2015). Schrödinger Press QikProp 4.4 User Manual.
- [43] Ferreira De Freitas, R., & Schapira, M. (2017). A systematic analysis of atomic protein-ligand interactions in the PDB. *MedChemComm*, 8(10), 1970–1981.