

Acoplamiento molecular *in silico* de compuestos de *Moringa oleifera* Lam. con el sitio catalítico y de unión a FAD-NADPH de la tripanotona reductasa de *Leishmania infantum*

Shirley Fernández¹, Elvio Gayozo^{2*}

¹ Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biotecnología, San Lorenzo, Paraguay, Código Postal: 111421. Correo electrónico: shirleyfer24@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0851-3505>

² Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Biología, San Lorenzo, Paraguay, Código Postal: 111421. Correo electrónico: elviologo@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9309-7056>

*Autor por correspondencia: elviologo@gmail.com

Recibido: 18 de agosto de 2023

Revisado: 7 de noviembre de 2023

Aceptado: 14 de noviembre de 2023

RESUMEN

Introducción: la búsqueda computacional de nuevos compuestos para futuras terapias farmacológicas contra la leishmaniasis se ha enfocado en la tripanotona reductasa. Esta enzima es esencial para la supervivencia de *Leishmania infantum*, su ausencia en el huésped y su alta farmacobilidad la convierten en un buen objetivo para el desarrollo de nuevas drogas. El uso de plantas como fitoterapéuticos ha sido ampliamente investigado debido a que han demostrado importantes actividades leishmanicidas. **Objetivo:** analizar las interacciones de los compuestos de *Moringa oleifera* con el sitio catalítico y de unión a FAD-NADPH de la tripanotona reductasa de *L. infantum* empleando el acoplamiento molecular. **Método:** fueron evaluados treinta compuestos descritos en la especie de *M. oleifera*, estas se sometieron a ensayos computacionales de acoplamiento molecular semiflexible con el sitio catalítico de la enzima y el dominio de unión FAD-NADPH. **Resultados:** se evidencia que los compuestos que demostraron valores favorables de energía de unión con el sitio catalítico de la enzima fueron la apigenina, la quercetina, la miricetina y la isorhamnetina. Mientras que los compuestos que presentaron uniones favorables con el dominio FAD-NADPH fueron la rutina y el ácido

5,6,7,8-tetrahidrofólico. **Conclusión:** estos hallazgos sugieren que los compuestos de *M. oleifera* mencionados presentan afinidades de unión por el sitio catalítico y el dominio de unión FAD-NADPH de la tripanotona reductasa de *L. infantum*, pudiendo ser utilizados para pruebas *in vitro*.

Palabras clave: moringa, fitoconstituyentes, acoplamiento molecular, leishmania, tripanotona reductasa

SUMMARY

In silico molecular docking of *Moringa oleifera* Lam. compounds with the catalytic and FAD-NADPH-binding site of trypanothione reductase from *Leishmania infantum*

Introduction: Computational search of new compounds for future drug therapies against leishmaniasis has focused on trypanothione reductase. This enzyme is essential for the survival of *Leishmania infantum*, the absence in the host and its high druggability make it a good target for the development of new drugs. The use of plants for phytotherapeutics purpose has been widely investigated due to its important leishmanicidal activities. **Aim:** The aim of this study was to analyze the interactions of *Moringa oleifera* compounds to the catalytic and FAD-NADPH binding site of *L. infantum* trypanothione reductase using molecular docking. **Method:** Thirty compounds described in *M. oleifera* species were evaluated and subjected to computational semi-flexible molecular docking assays with the catalytic site and the FAD-NADPH binding domain of the enzyme. **Results:** The results show that the compounds that demonstrated favorable binding energy values with the catalytic site of the enzyme were apigenin, quercetin, myricetin and isorhamnetin. While the compounds that exhibited favorable binding with the FAD-NADPH domain were rutin and 5,6,7,8-tetrahydrofolic acid. **Conclusion:** These findings suggest that mentioned *M. oleifera* compounds present binding affinities for the catalytic site and the FAD-NADPH binding domain of *L. infantum* trypanothione reductase and could be used for *in vitro* assays.

Keywords: moringa, phytoconstituents, molecular docking, leishmania, trypanothione reductase.

RESUMO

Docking molecular *in silico* de compostos de *Moringa oleifera* Lam. com o sítio catalítico e de ligação FAD-NADPH da tripanotiona redutase de *Leishmania infantum*

Introdução: a busca computacional por novos compostos para futuras terapias farmacológicas contra a leishmaniose tem se concentrado na tripanotiona redutase. Esta enzima é essencial para a sobrevivência de *Leishmania infantum*, sua ausência no hospedeiro e sua alta farmacobilidade a tornam um bom alvo para o desenvolvimento de novos fármacos. O uso de plantas como fitoterápicos tem sido amplamente investigado por apresentarem importantes atividades leishmanicidas.

Objetivo: o objetivo deste estudo foi analisar as interações dos compostos da *Moringa oleifera* com o sítio catalítico e de ligação FAD-NADPH da tripanotiona redutase de *L. infantum* usando docking molecular. **Método:** foram avaliados trinta compostos descritos na espécie *M. oleifera*, os quais foram submetidos a testes computacionais de docking molecular semi-flexível com o sítio catalítico da enzima e o domínio de ligação FAD-NADPH. **Resultados:** fica evidente que os compostos que demonstraram valores de energia de ligação favoráveis com o sítio catalítico da enzima foram apigenina, quercetina, miricetina e isorhamnetina. Enquanto os compostos que apresentaram ligações favoráveis com o domínio FAD-NADPH foram a rutina e o ácido 5,6,7,8-tetraidrofólico. **Conclusão:** esses achados sugerem que os compostos de *M. oleifera* mencionados possuem afinidades de ligação para o sítio catalítico e o domínio de ligação FAD-NADPH da tripanotiona redutase de *L. infantum*, e podem ser usados para testes *in vitro*.

Palavras-chave: moringa, fitoconstituintes, acoplamiento molecular, leishmania, tripanotiona redutase

INTRODUCCIÓN

Paraguay forma parte de uno de los 13 países a nivel mundial en donde esta enfermedad se considera endémica. Según un reporte de control de Leishmaniasis Visceral, ocasionado por el parásito *Leishmania infantum*, en humanos y caninos en Paraguay, entre el 2016 al 2018 por el Programa Nacional de Control de Zoonosis y Centro Antirrábico Nacional (PNCZyCAN), la ciudad de Asunción reportó el 90% de los casos, siguiendo con cifras menores pero relevantes los departamentos; de Central, Paraguari y Cordillera [1].

La comunidad científica ha dirigido su mirada en la enzima tripanotiona reductasa (TR) en la búsqueda por nuevos compuestos y nuevas posibles terapias farmacológicas para combatir a la leishmaniasis, esta oxidorreductasa es característica de la familia Trypanosomatidae y su relevancia recae sus funciones en la supervivencia de estos parásitos, ya que protege al parásito contra el daño de los oxidantes, xenobióticos y metales pesados tóxicos, además de estar ausente en el huésped y de que presenta una alta farmacabilidad [2, 3]. Esta enzima es una flavoproteína, un homodímero simétrico doble donde cada subunidad consta de una cadena polipeptídica que se dispone en tres dominios; el dominio FAD (residuos 1-160 y residuos 289-360), el dominio de interfaz (residuos 361-488) y el dominio NADPH (residuos 161-288) [4, 5].

El tratamiento farmacológico depende de factores como la presencia de patologías de base, el estado inmunitario del paciente y principalmente la susceptibilidad del protozooario a los medicamentos [6]. Los fármacos empleados generalmente en la terapia son antimoniales pentavalentes y anfotericina B, en sus formas convencional y liposomal, sin embargo, los tratamientos disponibles no erradican la infección y por lo regular las contraindicaciones son graves, dañando órganos como el corazón, hígado y riñón, así como pérdida de la eficacia de los medicamentos, su compleja administración se suma a las tantas contrapartidas en el uso de estos fármacos [7].

La ineficacia, los efectos secundarios y el alto costo, revelan la necesidad urgente de encontrar y desarrollar potenciales compuestos con posibles aplicaciones terapéuticas con una menor toxicidad y mayor eficacia. En esto el uso de las plantas como fuentes de fitoterapéuticos ha sido ampliamente estudiado por la comunidad científica, así como por las industrias farmacéuticas debido a los compuestos presentes en diferentes órganos (raíces, tallo, hojas, flores, frutos) como los alcaloides, los flavonoides, las quinonas, las chalconas, los terpenos, entre otros, que han demostrado actividades antiparasitarias *in vitro* [8, 9]. En este punto, se han reportado que la *Moringa oleifera* podrían tener potencial para el tratamiento de la leishmaniasis [10, 11].

Debido a los registros generados acerca de las actividades beneficiosas de la *M. oleifera* contra la leishmaniasis y a los posibles principios activos presentes en esta especie, se ha propuesto como objetivo analizar las afinidades de interacción de los compuestos de *M. oleifera* con el sitio catalítico y de unión a FAD-NADPH de la tripanotiona reductasa de *L. infantum* empleando el método *in silico* del acoplamiento molecular.

METODOLOGÍA

Cribado virtual y acoplamiento molecular de fitoconstituyentes de *M. oleifera* con sitios activos de tripanotiona reductasa de *L. infantum*

Se emplearon las estructuras moleculares de treinta compuestos descritos en *M. oleifera*, los cuales fueron obtenidos de la base de datos PubChem [12-15]. La estructura molecular de la enzima tripanotiona reductasa de *L. infantum* (PDB: 2X50, 4ADW) fue obtenida de la base de datos Protein Data Bank [16].

La preparación y minimización de energía de las estructuras de los compuestos de *M. oleifera* y de la tripanotiona reductasa fueron llevadas a cabo con el algoritmo de campo de fuerza universal (UFF) empleando cuatro pasos por actualización y gradientes conjugados con un ciclo consistente en 50.000 pasos y un criterio de convergencia de $0,001 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{Å}^{-1}$, también se añadieron cargas parciales y átomos de hidrógeno polares a pH 7,4, para ello se utilizó el programa Avogadro [17].

El cribado virtual se llevó a cabo empleando los programas AutoDock Vina V.01 [18] y PyRx [19], evaluando la afinidad de unión de los fitoconstituyentes de *M. oleifera* con los sitios activos de la tripanotiona reductasa (sitio catalítico y dominio de unión FAD-NADPH) para ello se utilizó una caja de interacción de $96\times 95\times 70 \text{ Å}^3$, y como controles se emplearon las moléculas de tripanotiona y de NADPH [20].

Aquellos compuestos que demostraron valores de energía libre de unión menor o igual a los obtenidos con los controles fueron seleccionados para llevar a cabo ensayos exhaustivos (exhaustividad = 16) de acoplamiento molecular, los cuales se llevaron a cabo en diez repeticiones de cada simulación, para ello se utilizó el programa AutoDock Vina V.01 [18] y cajas de interacción de dimensiones $15,1\times 15,2\times 15,2 \text{ Å}^3$ y $31,7\times 26,6\times 41,2 \text{ Å}^3$ para el sitio catalítico y el dominio de unión FAD-NADPH, respectivamente. Los cálculos de energía libre de unión (ΔG) se llevaron a cabo teniendo en cuenta variables de contribuciones energéticas en términos estéricos gaussianos, aportes energéticos de repulsiones, hidrofóbicos, puentes de hidrógenos y el número de enlaces rotables del complejo [18].

El análisis y visualización de los resultados se realizaron empleando los programas Chimera 1.15 [21], Chimera X [22] y PoseView [23, 24]. La validación de la simulación se llevó a cabo con el re-acoplamiento de los ligandos co-cristalizados (tripanotiona y NADPH) mediante la medición del RMSD de los ligandos.

Predicciones de biodisponibilidad, absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET)

Las predicciones de las propiedades farmacocinéticas y tóxicas (ADMET) de los compuestos de *M. oleifera*, así como la biodisponibilidad mediante la regla modificada de Lipinski (peso molecular < 500 g·mol⁻¹, número de aceptores de puentes de hidrógeno < 10, número donadores de puentes de hidrógeno < 5), coeficiente de reparto agua:octanol de Moriguchi < 4,15 [25], estos análisis predictivos fueron llevados a cabo mediante el uso de la herramienta SwissADME [26-28] y ProTox-II [29].

Análisis de datos

Los datos de energía libre de Gibbs de interacción que fueron obtenidos en las simulaciones de acoplamiento molecular fueron analizados mediante el test de Kruskal-Wallis [30] y el test *post-hoc* de Dunn [31], todos los análisis se realizaron con 5% de nivel de significancia. Las pruebas y gráficos estadísticos se llevaron a cabo con el programa Past v. 4.12 [32].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el cribado virtual llevados a cabo entre las estructuras de los fitoconstituyentes de *M. oleifera* y los sitios activos de la tripanotona reductasa se pueden observar en la Tabla 1.

Estos compuestos fueron seleccionados y sometidos a simulaciones exhaustivas para identificar a las moléculas que presentan valores de energía de interacción significativamente favorables en comparación a los controles empleados (Figura 2). Los controles empleados en este estudio fueron la tripanotona y la molécula de NADP (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato), los mismos son sustratos naturales de la enzima [20]. La tripanotona se localiza en el sitio catalítico y es una análoga de la molécula de glutatión, la cual protege al parásito del estrés oxidativo generado por el hospedero mediante reacciones redox mediadas por la tripanotona reductasa y con la participación de la NADP/NADPH, la cual se encuentra en el dominio de unión a NADP-FAD [20].

Las simulaciones de acoplamiento molecular que fueron llevados a cabo entre los fitoconstituyentes seleccionados en unión con el sitio catalítico reveló que los compuestos que demostraron valores significativamente favorables ($P < 0,001$) de energía de unión con el sitio catalítico de la enzima fueron la apigenina, la quercetina, la miricetina, la luteolina, el kaempferol y la isorhamnetina, en comparación a lo obtenido con la tripanotona (Figura 1A).

El complejo formado entre la apigenina y la tripanotona reductasa en el sitio catalítico reveló una energía de unión promedio de $-8,8 \pm 1,87 \times 10^{-15}$ kcal·mol⁻¹. Las interacciones presentes entre el compuesto y los aminoácidos, entre estos se identificaron la formación de puentes de hidrógeno y los residuos de Thr335, Ala365, Lys60 y Ser178, también se registró interacciones de Van der Waals con los residuos Cys57 y Gly56. El complejo quercetina-tripanotona reductasa demostró una energía libre de interacción de $-8,77 \pm 0,095$ kcal·mol⁻¹. En el mismo se identificaron puentes de hidrógeno con los residuos Met333, His461 y Ala365, e interacciones de Van der Waals con el residuo Leu334 (Figura 2.A,B).

Tabla 1. Resultados obtenidos en el cribado virtual de los fitoconstituyentes de *M. oleifera* y la tripanotona reductasa de *L. infantum*.

Compuestos	PubChem CID	ΔG de union (kcal·mol ⁻¹)	
		Sitio catalítico	Dominio NADPH-FAD
Tripanotona*	-	-6,6	-
NADPH*	-	-	-10,6
Ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico	135444742	-6,3	-10,8
Ácido 5-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico	135415868	-5,8	-10,3
Ácido 10-formilfólico	135405023	-7,7	-10,6
Ácido α -linolénico	5280934	-5,6	-6,8
Apigenina	5280443	-8,8	-8,8
Bencilamina	7504	-4,7	-5,0
Fralato de bis(2-etilhexilo)	8343	-7,0	-7,4
Ácido cafeico	689043	-6,1	-7,1
Ácido clorogénico	1794427	-8,2	-9,0
Ácido cumarínico	10752	-7,2	-7,4
Daidzeína	5281708	-8,3	-8,3
D-alose	439507	-5,4	-6,1
Epicatequina	72276	-8,2	-8,2
Eugenol	3314	-5,2	-6,3
Ácido ferúlico	445858	-5,9	-7,1
Ácido gálico	370	-5,7	-6,6
Genisteína	5280961	-8,4	-8,4
Hexadecanal	984	-5,1	-5,0

(Continúa)

Compuestos	PubChem CID	ΔG de union (kcal·mol ⁻¹)	
		Sitio catalítico	Dominio NADPH-FAD
Isorhamnetina	5281654	-8,6	-9,2
Kaempferol	5280863	-8,6	-9,0
l-galactosa, 6-desoxi	3034656	-5,0	-5,5
Ácido linoleico	5280450	-6,0	-5,7
Luteolina	5280445	-8,9	-9,0
Miricetina	5281672	-8,9	-8,6
Ácido palmítico	985	-5,5	-6,1
Quercetina	5280343	-8,5	-9,3
Rutina	5280805	-3,7	-10,9
Ácido sinápico	637775	-6,3	-7,3
Ácido siríngico	10742	-5,9	-7,0
Vanilina	1183	-5,6	-6,0

*Control

En el complejo formado entre la miricetina y la tripanotona reductasa evidenció valores promedio de energía de unión de $-8,84 \pm 0,13$ kcal·mol⁻¹, también se registró la formación de puentes de hidrógeno con los residuos His461, Lys60, Ser14, Ser 162 y Asp327, e interacciones de Van der Waals con los residuos Thr335 y Cys57. Así también se el complejo isorhamnetina-tripantotona reductasa reveló un promedio de energía de unión de $-8,6 \pm 1,87 \times 10^{-15}$ kcal·mol⁻¹, donde se registraron puentes de hidrógeno con los residuos Ser162, Ser14 y Lys60, e interacciones de Van der Waals con el residuo Cys57 (Figura 2.C,D).

Así también, entre los fitoconstituyentes que demostraron afinidades de interacción con el dominio de unión FAD-NADPH en el cribado virtual, fueron solo el ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico y la rutina los compuestos que presentaron valores de energía significativamente favorables ($P < 0,05$) en comparación a lo detectado con el control (NADPH) (Figura 1.B).

En el complejo formado por el ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico y el dominio de unión FAD-NADPH de la tripanotona reductasa se registró valores de energía de interacción de $-10,65 \pm 0,23$ kcal·mol⁻¹, en el mismo se registraron puentes de hidrógeno con los residuos Ser14, Thr51, Cys52, Gly16, Gly15, Asp35 y Gly127, interacciones hidrofóbicas con el residuo Phe126 y uniones de Van der Waals con el residuo Thr160. El complejo rutina-tripantotona reductasa reveló valores promedios de energía de unión

de $-10,78 \pm 0,063 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, en el mismo se identificaron puentes de hidrógeno con los residuos Ser178, Val55, Lys60 y Ala365, uniones hidrofóbicas con el residuo Tyr198 e interacciones de Van der Waals con los residuos Leu334, Tyr198 y Ile199 (Figura 3.A,B).

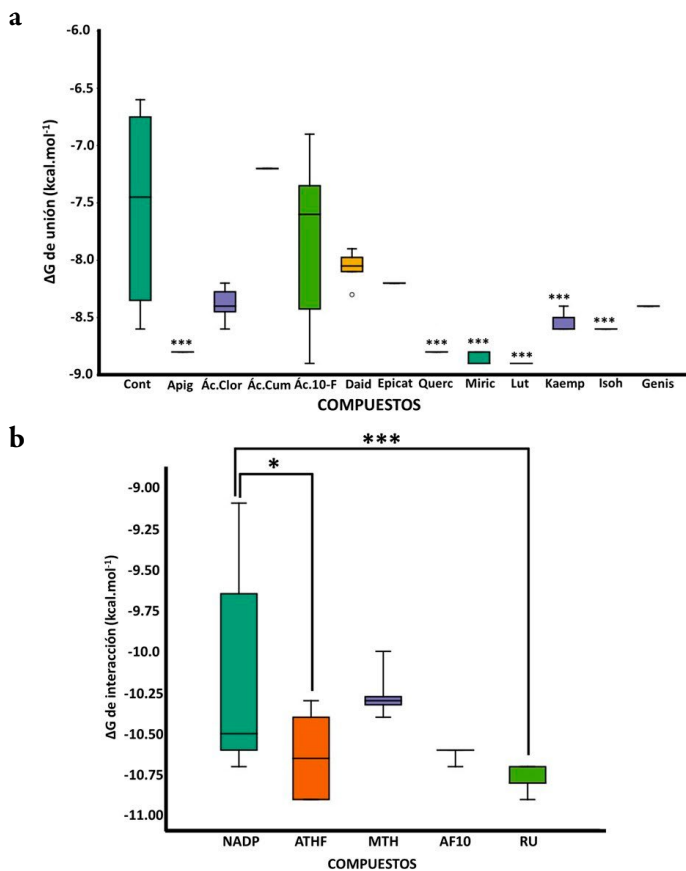


Figura 1. Análisis estadísticos de las pruebas de acoplamiento molecular entre fitoconstituyentes seleccionados de *M. oleifera* y la tripanotona reductasa. **A.** Fitoconstituyentes en interacción con el sitio catalítico de la tripanotona reductasa. **B.** Fitoconstituyentes en interacción con el sitio de unión FAD-NADPH de la tripanotona reductasa. Cont: Tripanotona, Apig: apigenina. Ác. Clor: ácido clorogenico Ác. Cum: ácido cumarinico Ác.10-F: ácido 10-formilico, Daid: daidzeina, Epicat: epicatequina, Querc: quercetina, Miric: miricetina, Lut: luteolina, Kaemp: kaempferol, Isoh: isohramnetina, Genis: genisteina, NADP: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, ATHF: ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico, MTH: ácido 5-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico, AF10: Ácido 10-formilfólico, Ru: rutina. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$.

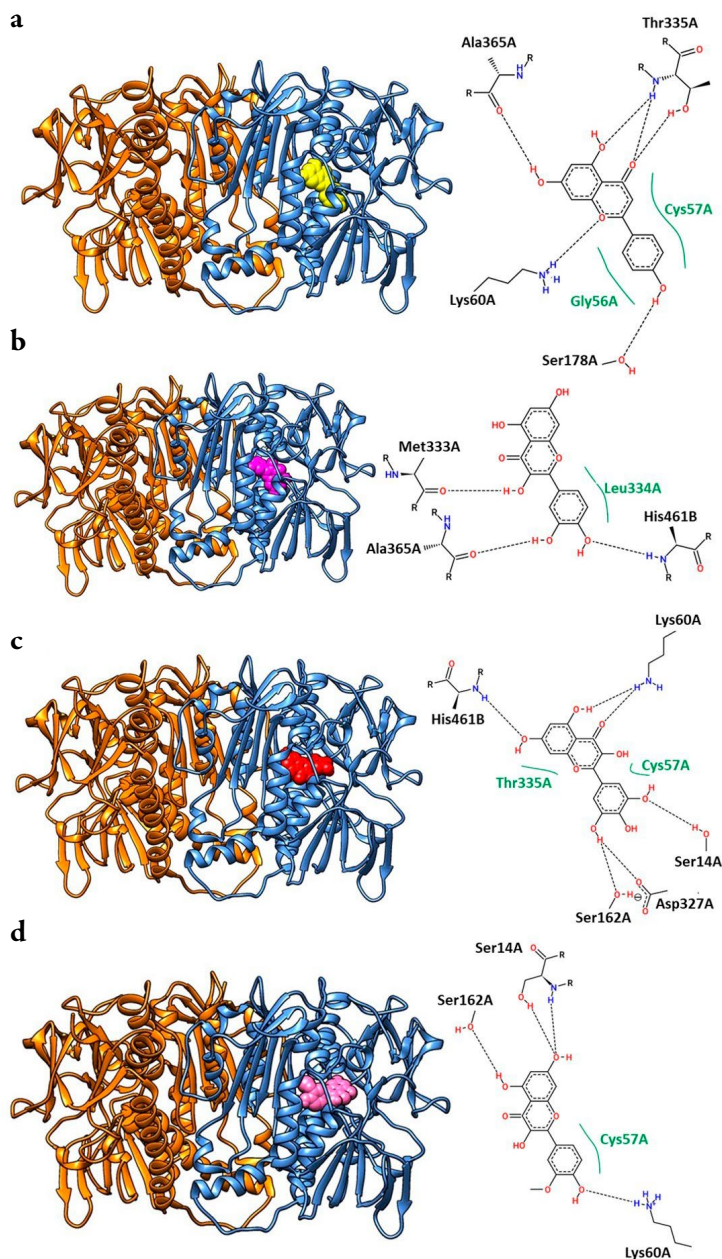


Figura 2. Representaciones tridimensionales y bidimensionales de los compuestos con el sitio catalítico de la tripanotona reductasa. **A.** Apigenina. **B.** Quercetina. **C.** Miricetina. **D.** Isorhamnetina. Línea punteada negra: puente de hidrógeno, línea punteada verde: interacciones hidrofóbicas, línea continua verde: interacciones de Van der Waals.

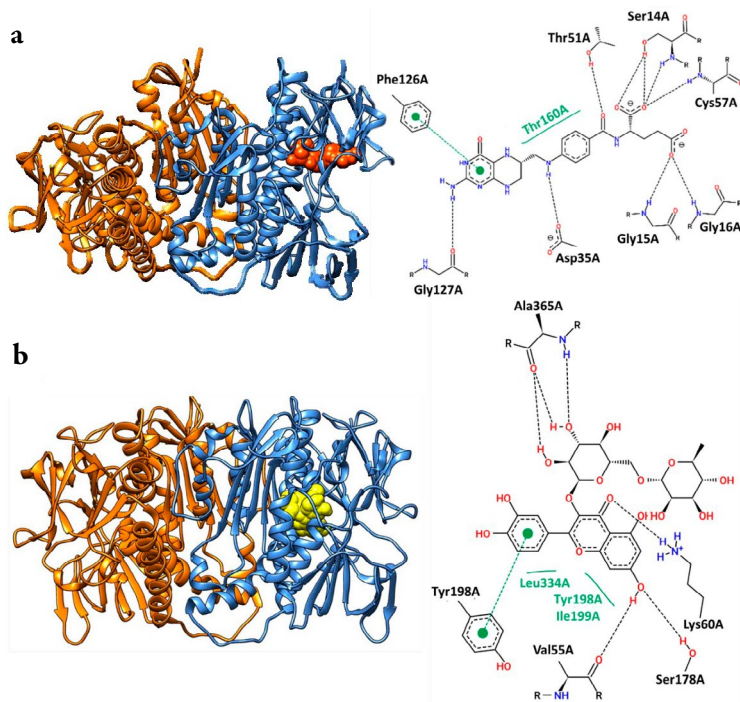


Figura 3. Representaciones tridimensionales y bidimensionales de los compuestos en unión al dominio FAD-NADPH de la tripanotona reductasa. **A.** Ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico. **B.** Rutina. Línea punteada negra: puente de hidrógeno, línea punteada verde: interacciones hidrofóbicas, línea continua verde: interacciones de Van der Waals.

Las validaciones de re-docking del sistema empleado evidenciaron valores de RMSD de 0,82 Å en interacción entre la enzima y la tripanotona.

Las predicciones de biodisponibilidad de los compuestos seleccionados, según la regla modificada de los cinco de Lipinski, revelaron que el ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico y la rutina infringen con dicha regla, en ambas moléculas se observa un número mayor de grupos donadores de puentes de hidrógeno recomendados por la regla (<5), sin embargo, la rutina también presenta otras infracciones como un peso molecular mayor a lo indicado en la regla (<500 g·mol⁻¹), y un número mayor de grupos aceptores de puentes de hidrogeno (<10), esta abundancia en grupos donadores y aceptores de puentes de hidrogeno se debe principalmente a la abundancia de grupos hidroxilos (-OH), aminos (-NH, -NH₂), y de átomos de oxígeno (O) en la estructura molecular del compuesto [33]. La miricetina presenta una infracción en la cantidad de grupos

donadores de puentes de hidrógeno, el cual también resultó ser mayor a lo establecido en la regla empleada (<5), debido a la presencia de un grupo hidroxilo (-OH) demás en la molécula [34].

En cuanto a la quercetina, la apigenina y la isorhamnetina no demostraron infracciones a la regla resultando favorable para su biodisponibilidad en el organismo (Tabla 2).

A su vez, la evaluación de las propiedades farmacocinéticas (ADME) de los compuestos evaluados demostró que tanto el ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico, la miricetina y la rutina presentaron una baja absorción gastrointestinal, lo cual representa una barrera para la eficiencia del consumo oral de estas moléculas con fines farmacológicos, de entre los cuales solo la miricetina demostró capacidades de ser inhibidoras de las isoformas del citocromo P450 CYP1A2 y CYP3A4, lo cual nos indica que este compuesto podría interactuar con ambas proteínas, en cuanto a sus actividades tóxicas la miricetina demostró probabilidades de presentar actividades mutagénicas y carcinogénicas, lo cual fue reportado por Hobbs *et al.* en el año 2015 [35] quienes reportaron actividades mutagénicas de la miricetina empleando el test de AMES (Tabla 3).

Por lo demás, las moléculas de quercetina, la apigenina y la isorhamnetina presenta alta absorción gastrointestinal, sin embargo, presentan probabilidades de ser inhibidores de las isoformas CYP1A2, CYP2D6 y CYP3A4 del citocromo P450, siendo solo la molécula de quercetina la que demuestra probabilidades de ser mutagénica y carcinogénica, lo cual fue anteriormente descrito por Vrijisen *et al.* en el año 1990 [36] quienes reportaron actividades mutagénicas *in vitro* de la molécula de quercetina (Tabla 3).

A su vez, las predicciones de actividades inhibitorias de isoformas de citocromo P450 (CYP) nos da un indicio de que los compuestos capaces de inhibir alguna de ellas podrían interferir con las funciones enzimáticas de estas proteínas alterando el metabolismo de otros fármacos/compuestos, dando paso a la acumulación de xenobióticos en el organismo pudiendo generarse efectos adversos [37].

El análisis de los complejos formados entre los compuestos evaluados de *M. oleifera* y la estructura de la tripanotona reductasa de *L. infantum*, reveló afinidades de interacción tanto por el sitio catalítico y por el dominio de unión FAD-NAPH.

En los complejos se registraron interacciones moleculares importantes, uno de ellos fueron los puentes de hidrógeno, con un aporte energético en la formación de los complejos de entre 0,25 kcal·mol⁻¹ a 40 kcal·mol⁻¹, estas son interacciones electrostáticas entre un átomo donante de hidrógeno y un átomo aceptor de hidrógeno en una molécula vecina. Estas interacciones son importantes para la estabilización de la conformación de la proteína y para la formación de complejos proteicos, impactando en gran

medida sobre la acción farmacológica de ligandos [38-40]. Esta interacción se da principalmente entre grupos hidroxilos (-OH), aminos (-NH, -NH₂) y átomos de oxígeno (O) presentes principalmente en los fitoconstituyentes evaluados, así como también presentes en los residuos activos involucrados en la formación de los puentes de hidrógeno [33, 34, 41-43].

Otra interacción importante registrada fueron las interacciones hidrofóbicas en las moléculas de ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico y rutina, los cuales contienen grupos aromáticos hidrofóbicos que permiten interactuar con los residuos de igual propiedad fisicoquímica, como la fenilalanina (Phe) y la tirosina (Tyr), los cuales presentan también en sus cadenas laterales grupos aromáticos, estas interacciones son débiles con aportes de entre 1,5 a 2 kcal·mol⁻¹, sin embargo, son importantes para la unión específica de la proteína y el ligando y para la estabilización de la proteína [44].

A su vez, las fuerzas de Van der Waals son interacciones débiles entre moléculas que surgen debido a las fluctuaciones en las cargas eléctricas de estas. Estas interacciones son importantes para la estabilización de la estructura de la proteína y para la formación de complejos proteicos [45].

Tabla 2. Evaluación de la regla de los cinco modificada de Lipinski de los compuestos evaluados.

Compuesto	Peso Molecular	Donadores de PH	Aceptores de PH	MlogP	Número de infracciones
Kaempferol	270,24	3	5	0,52	0
l-galactosa, 6-desoxi	164,16	4	5	-2,1	0
Fralato de bis(2-etilhexilo)	390,56	0	4	5,24	1
Hexadecanal	240,42	0	1	4,31	1
Ácido 5-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico	459,46	7	7	-0,48	1
Ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico	445,43	8	7	-1,12	1
Ácido 10-formilfólico	469,41	5	10	-0,39	0
Quercetina	302,24	5	7	-0,56	0
Apigenina	270,24	3	5	0,52	0
Isorhamnetina	316,26	4	7	-0,31	0
Ácido a-linolénico	278,43	1	2	4,38	1
Ácido linoleico	280,45	1	2	4,47	1
Ácido palmítico	256,42	1	2	4,19	1
Ácido clorogénico	354,31	6	9	-1,05	1

(Continúa)

Compuesto	Peso Molecular	Donadores de PH	Aceptores de PH	MlogP	Número de infracciones
Miricetina	318,24	6	8	-1,08	1
Bencilamina	107,15	1	1	1,54	0
Rutina	610,52	10	16	-3,89	3
Ácido gálico	170,12	4	5	-0,16	0
Ácido cumarínico	190,15	1	4	1,22	0
Ácido cafeico	180,16	3	4	0,7	0
Ácido siríngico	198,17	2	5	0,49	0
Luteolina	286,24	4	6	-0,03	0
Genisteína	270,24	3	5	0,52	0
Daidzeína	254,24	2	4	1,08	0
D-Alose	180,16	5	6	-2,75	0
Epicatequina	290,27	5	6	0,24	0
Ácido ferúlico	194,18	2	4	1	0
Ácido sinápico	224,21	2	5	0,73	0
Vanilina	152,15	1	3	0,51	0
Eugenol	164,2	1	2	2,01	0

PH: puente de hidrogeno; MlogP: coeficiente de reparto octanol-agua de Moriguchi.

En el sitio catalítico unos de los residuos activos identificados fueron la Cys57 y la His461, estos residuos cumplen un papel fundamental en la transferencia de electrones desde NADPH hasta la tripanotona [46]. La Cys57 forma parte del puente disulfuro Cys52-Cys57 que se reduce durante la catálisis, mientras que His461 actúa como un ácido/base en el proceso de transferencia de protones que acompaña la transferencia de electrones [47].

Con respecto al dominio de unión FAD-NADPH, los residuos activos importantes fueron Gly11, Gly13, Ser14, Gly15, Val134, Asp35, Val36, Ala46, Ala47, Gly50, Thr51, Cys52, Lys60, Phe126, Gly127, Ala159, Thr168, Gly161, Gly196, Gly197, Tyr198, Ile199, Glu282, Tyr221, Arg222, Arg228, Asn254, Ala284, Ile285, Gly286, Arg287, Arg290, Leu294, Gly326, Asp327, Met333, Leu334, Thr335, Pro336, A1-365, Phe367.

Fonseca *et al.* (2011) [48] estudiaron la actividad leishmanicida de la quercetina y describió su actividad frente a promastigotes de *Leishmania amazonensis*, ya que este bioactivo tiene una amplia gama de efectos biológicos informados que incluyen actividades antioxidantes, antihipertensivas, antiinflamatorias, antimicrobianas y antiprotozoarias.

Así también Mercado-Camargo *et al.* (2020) [49], mencionaron que los flavonoides poseen actividad leishmanicida, entre ellos, a una concentración de 45 μM , la quercetina mostró una reducción del 70% en la carga intracelular.

Por otro lado, Das *et al.* (2013) [50] demostraron la actividad antileishmania de la quercetina en nanopartículas de oro conjugadas con el compuesto, los cuales fueron expuestas a macrófagos infectado con *L. donovani*, obteniendo una IC_{50} de $15 \pm 3 \mu\text{M}$. La concentración inhibitoria para el aglicón de quercetina en amastigote de *L. donovani* fue de (IC_{50} $30 \pm 6 \mu\text{M}$) [50]. Sousa *et al.* (2017) [51] evaluaron la eficacia oral mejorada de la quercetina en la leishmaniasis cutánea después de la encapsulación en nanocápsulas de núcleo lipídico a ratones infectados con *Leishmania amazonensis*, el tratamiento redujo el tamaño de las lesiones y la carga parasitaria en un 38% y un 71%, respectivamente.

En una actualización de las actividades leishmanicidas de hierbas medicinales y fitoconstituyentes *in vitro* e *in vivo* realizado por Hassan *et al.* (2022) [52] mencionaron que la apigenina podría ser un compuesto prometedor para el desarrollo de nuevos fármacos contra la leishmaniasis.

Así también, Chandrasekar *et al.* (2018) [53] plantearon la acción de este flavonoide para luchar contra la *L. infantum* y *L. amazonensis*. Otros reportes señalan también que la isorhamnetina demuestra potencial antiprotozoario contra *L. donovani* (IC_{50} 1,20 μM) [54].

De igual manera, Tasdemir *et al.* (2006) [55] validaron a la quercetina como agente leishmanicida contra amastigotes *L. donovani* en forma *in vitro* con un IC_{50} de $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y descubrió también que la miricetina puede tener la misma actividad anti-protozoaria con un valor de (IC_{50} de $1,3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), esto también fue mencionado por Neto *et al.* (2022) [56] y Vidal (2019) [57]. Ensayos llevados a cabo por Vila-Nova *et al.* (2012) [58] con flavonoides (quercetina y rutina) presentaron resultados en contra *L. infantum* comparables al fármaco de control positivo que fue la anfotericina B, frente a las formas amastigotes con EC_{50} para quercetina y rutina de $10,6 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ y $43,3 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, respectivamente.

Tabla 3. Predicciones de las propiedades farmacocinéticas y tóxicas de los compuestos evaluados (ADME-Tox).

Compuesto	Absorción GI	Inhibición					Toxicidad			
		CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4	MU	CA	CI	HE
Kaempferol	Alto	Si	No	No	Si	Si	I	I	I	I
l-galactosa, 6-desoxi	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Fralato de bis(2-etilhexilo)	Alto	No	No	Si	No	Si	I	A	I	I
Hexadecanal	Alto	Si	No	No	No	No	I	I	I	I
Ácido 5-metil-5,6,7,8-tetrahidrofólico	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Ácido 10-formilfólico	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Quercetina	Alto	Si	No	No	Si	Si	A	A	I	I
Apigenina	Alto	Si	No	No	Si	Si	I	I	I	I
Isorhamnetina	Alto	Si	No	No	Si	Si	I	I	I	I
Ácido a-linolénico	Alto	Si	No	Si	No	No	I	I	I	I
Ácido linoleico	Alto	Si	No	Si	No	No	I	I	I	I
Ácido palmítico	Alto	Si	No	Si	No	No	I	I	I	I
Ácido clorogénico	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Miricetina	Bajo	Si	No	No	No	Si	A	A	I	I

(Continúa)

Compuesto	Absorción GI	Inhibición				Toxicidad				
		CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4	MU	CA	CI	HE
Bencilamina	Alto	Si	No	No	No	No	I	A	I	I
Rutina	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Ácido gálico	Alto	No	No	No	No	Si	I	A	I	I
Ácido cumarínico	Alto	Si	No	No	No	No	I	A	I	I
Ácido cafeico	Alto	No	No	No	No	No	I	A	I	I
Ácido siríngico	Alto	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Luteolina	Alto	Si	No	No	Si	Si	A	A	I	I
Genisteína	Alto	Si	No	No	Si	Si	I	I	I	I
Daidzeína	Alto	Si	No	No	Si	Si	I	I	I	I
D-Alose	Bajo	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Epicatequina	Alto	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Ácido ferúlico	Alto	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Ácido sinápico	Alto	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Vanilina	Alto	No	No	No	No	No	I	I	I	I
Eugenol	Alto	Si	No	No	No	No	I	I	I	I

GI: Gastrointestinal; A: Activo; I: Inactivo.

CONCLUSIONES

Los hallazgos *in silico* encontrados en este estudio evidenciaron que los compuestos descritos en la *M. oleifera* que presentaron potenciales afinidades de interacción con la tripanotiona reductasa de *L. infantum* y con valores de energía libre de unión significativamente favorables fueron la apigenina, la quercetina, la miricetina y la isorhamnetina en el sitio catalítico de la enzima, y las moléculas de rutina y de ácido 5,6,7,8-tetrahidrofólico en el dominio FAD-NADPH. Los resultados de biodisponibilidad y ADME-Tox demuestran infracciones, sin embargo, pueden ser considerados candidatos para llevar a cabo pruebas *in vitro* sobre las actividades enzimáticas de la tripanotiona reductasa de *L. infantum*, así como continuar llevando a cabo estudios *in silico* para el diseño de nuevos derivados de estos compuestos con la finalidad de optimizar a los compuestos mediante herramientas QSAR (relación cuantitativa estructura-actividad).

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

SF: Diseño del estudio, marco metodológico, pruebas computacionales, análisis de resultados, escritura de artículo. EG: Diseño del estudio, marco metodológico, análisis de resultados, escritura de artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores manifiestan no poseer conflictos de intereses.

REFERENCIAS

1. República de Paraguay, Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, *Reporte de Leishmaniasis Visceral en humanos y caninos, Paraguay, período 2016 al 2018*, DGVS, Asunción, Paraguay, 2018. URL: https://dgvs.mspbs.gov.py/files/boletines_anuales/15_2018_BoletinAnual.pdf
2. L. Turcano, E. Torrente, A. Missineo, M. Andreini, M. Gramiccia, T. Di Muccio, I. Genovese, A. Fiorillo, S. Harper, A. Bresciani, G. Colotti, A. Ilari, Identification and binding mode of a novel Leishmania Trypanothione reductase inhibitor from high throughput screening, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **12**(11), e0006969 (2018). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006969>

3. P.R.T. Romão, J. Tovar, S.G. Fonseca, R. H. Moraes, A.K. Cruz, J.S. Hother-sal, A.A. Noronha-Dutra, S.H. Ferreira, F.Q. Cunha, Glutathione and the redox control system trypanothione/trypanothione reductase are involved in the protection of *Leishmania* spp. against nitrosothiol-induced cytotoxicity, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **39**(3), 355–363 (2006). <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2006000300006>
4. B.K. Singh, N. Sarkar, M.V. Jagannadham, V.K. Dubey, Modeled structure of trypanothione reductase of *Leishmania infantum*, *BMB Reports*, **41**(6), 444–447 (2008). <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2008.41.6.444>
5. F. Saccoliti, G. Angiulli, G. Pupo, L. Pescatori, V.N. Madia, A. Messore, G. Colotti, A. Fiorillo, L. Scipione, M. Gramiccia, T. Di Muccio, R. Di Santo, R. Costi, A. Ilari, Inhibition of *Leishmania infantum* trypanothione reductase by diaryl sulfide derivatives, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, **32**(1), 304–310 (2017). <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1250755>
6. J.A. Gómez-Intriago, J. Cañarte-Alcivar, Leishmaniasis: un tema siempre de actualidad, *Revista Científica Arbitrada en Investigaciones de la Salud "GESTAR"*, **5**(10), 2–21 (2022). URL: <https://journalgestar.org/index.php/gestar/article/view/75/134>
7. A. Kaur, P.K. Kaur, S. Singh, I. P. Singh, Antileishmanial compounds from *Moringa oleifera* Lam., *Zeitschrift für Naturforschung C*, **69**(3-4), 110–116 (2014). <https://doi.org/10.5560/znc.2013-0159>
8. M.K. Singh, J. Paul, T. De, T. Chakraborti, Bioactivity guided fractionation of *Moringa oleifera* Kam. flower targeting *Leishmania donovani*, *Indian Journal of Experimental Biology*, **53**, 747–752 (2015). URL: <https://nopr.niscpr.res.in/bitstream/123456789/33101/1/IJEB%2053%2811%29%20747-752.pdf>
9. F.A. Espinosa-Méndez, *Leishmanicidal activity of ishpingo and moringa plants*, Tesis de Maestría en Microbiología, Universidad San Francisco de Quito (USFQ), Quito, Ecuador, 2019. URL: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/9185/1/140970.pdf>
10. I.A. Raubilu, U. Isah, M.A. Ahmad, Antimicrobial activity of *Moringa oleifera*: A short review, *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*, **12**(1), 128–132 (2019). <https://doi.org/10.4314/bajopas.v12i1.21S>

11. K.A. Hammi, R. Essid, O. Tabbene, S. Elkahoui, H. Majdoub, R. Ksouri, Anti-leishmanial activity of *Moringa oleifera* leaf extracts and potential synergy with amphotericin B, *South African Journal of Botany*, **129**, 67–73 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.01.008>
12. A.R. Nur-Zahirah, H. Khairana, K. Endang, Moringa genus: A review of phytochemistry and pharmacology, *Frontiers in Pharmacology*, **9**, 108 (2018). <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00108>
13. R.K. Saini, I. Sivanesan, Y.S. Keum, Phytochemicals of *Moringa oleifera*: A review of their nutritional, therapeutic and industrial significance, *3 Biotech*, **6**(2), 203 (2016). <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0526-3>
14. S.J. Stohs, M.J. Hartman, Review of the safety and efficacy of *Moringa oleifera*, *Phytotherapy Research*, **29**(6), 796–804 (2015). <https://doi.org/10.1002/ptr.5325>
15. S. Kim, J. Chen, T. Chen, A. Gindulyte, J. He, S. He, Q. Li, B.A. Shoemaker, P.A. Thiessen, B. Yu, L. Zaslavsky, J. Zhang, E.E. Bolton, PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces, *Nucleic Acids Res.*, **49**(D1), D1388–D1395 (2021). <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>
16. P. Baiocco, G. Poce, S. Alfonso, M. Cocozza, G.C. Porretta, G. Colotti, M. Biava, F. Moraca, B. Botta, V. Yardley, A. Fiorillo, A. Lantella, F. Malatesta, A. Ilari, Inhibition of *Leishmania infantum* trypanothione reductase by azole-based compounds: A comparative analysis with its physiological substrate by x-ray crystallography, *ChemMedChem*, **8**(7), 1175–1183 (2013). <https://doi.org/10.1002/cmdc.201300176>
17. M.D. Hanwell, D.E. Curtis, D.C. Lonie, T. Vandermeersch, E. Zurek, G.R. Hutchison, Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform, *Journal of Cheminformatics*, **4**(1), 17 (2012). <https://doi.org/10.1186/1758-2946-4-17>
18. O. Trott, A.J. Olson, AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading, *Journal of Computational Chemistry*, **31**(2), 455–461 (2010). <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
19. S. Dallakyan, A.J. Olson, Small-molecule library screening by docking with PyRx, *Chemical Biology: Methods and Protocols*, **1263**, 243–250 (2015). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2269-7_19

20. E. Gayozo, L. Rojas, Análisis estructural de interacciones *in silico* de fitoconstituyentes de *Solanum americanum* Mill., *Solanum guaraniticum* A. St.-Hil. y *Solanum lycopersicum* L. con la proteína tripanotona reductasa de *Leishmania infantum*, *Steviana*, **12**(2), 31–54 (2022). https://doi.org/10.56152/Steviana-FacenV12N2A2_2020
21. E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, G.S. Couch, D.M. Greenblatt, E.C. Meng, T.E. Ferrin, UCSF Chimera—A visualization system for exploratory research and analysis, *Journal of Computational Chemistry*, **25**(13), 1605–1612 (2004). <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
22. E.F. Pettersen, T.D. Goddard, C.C. Huang, E.C. Meng, G.S. Couch, T.I. Croll, T.E. Ferrin, UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers, *Protein Science*, **30**(1), 70–82 (2021). <https://doi.org/10.1002/pro.3943>
23. P.C. Fricker, M. Gastreich, M. Rarey, Automated generation of structural molecular formulas under constraints, *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, **44**(3), 1065–1078 (2004). <https://doi.org/10.1021/ci049958u>
24. K. Stierand, P. Maaß, M. Rarey, Molecular complexes at a glance: Automated generation of two-dimensional complex diagrams, *Bioinformatics*, **22**(14), 1710–1716 (2006). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl150>
25. C.A. Lipinski, F. Lombardo, B.W. Dominy, P.J. Feeney, Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **46**(1-3), 3–26 (2001). [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)
26. A. Daina, O. Michielin, V. Zoete, iLOGP: A simple, robust, and efficient description of n-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach, *Journal of Chemical Information and Modeling*, **54**(12), 3284–3301 (2014). <https://doi.org/10.1021/ci500467k>
27. A. Daina, V. Zoete, A boiled-egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules, *ChemMedChem*, **11**(11), 1117–1121 (2016). <https://doi.org/10.1002/cmdc.201600182>
28. N. Daina, A. Sivakumar, J.W. Polak, Electric vehicle charging choices: Modelling and implications for smart charging services, *Transportation Research Part C: Emerging Technologies*, **81**, 36–56 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.trc.2017.05.006>

29. P. Banerjee, A.O. Eckert, A.K. Schrey, R. Preissner, ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals, *Nucleic Acids Research*, **46**(W1), W257–W263 (2018). <https://doi.org/10.1093/nar/gky318>
30. W.H. Kruskal, W.A Wallis, Use of ranks in one-criterion variance analysis, *Journal of the American Statistical Association*, **47**(260), 583–621 (1952). <https://doi.org/10.1080/01621459.1952.10483441>
31. O.J. Dunn, Multiple comparisons using rank sums, *Technometrics*, **6**(3), 241–252 (1964). <https://doi.org/10.1080/00401706.1964.10490181>
32. Ø. Hammer, D.A. Harper, P.D. Ryan, PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis, *Palaeontologia electronica*, **4**(1), 9 (2001).
33. P. Matteini, A. Goti, G. Agati, Theoretical conformational analysis of rutin, *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, **141**, 793–800 (2010). <https://doi.org/10.1007/s00706-010-0330-4>
34. X. Song, L. Tan, M. Wang, C. Ren, C. Guo, B. Yang, Y. Ren, Z. Cao, Y. Li, J. Pei, Myricetin: A review of the most recent research, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **134**, 111017 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111017>
35. C.A. Hobbs, C. Swartz, R. Maronpot, J. Davis, L. Recio, M. Koyanagi, S.M. Hayashi, Genotoxicity evaluation of the flavonoid, myricitrin, and its aglycone, myricetin, *Food and Chemical Toxicology*, **83**, 283–292 (2015). <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.06.016>
36. R. Vrijssen, Y. Michotte, A. Boeyé, Metabolic activation of quercetin mutagenicity. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **232**(2), 243–248 (1990). [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(90\)90130-V](https://doi.org/10.1016/0027-5107(90)90130-V)
37. J.H. Lin, A. Y. Lu, Role of pharmacokinetics and metabolism in drug discovery and development, *Pharmacological Reviews*, **49**(4), 403–449 (1997).
38. P. Zhou, J. Huang, F. Tian, Specific noncovalent interactions at protein-ligand interface: Implications for rational drug design, *Current Medicinal Chemistry*, **19**(2), 226–238 (2012). <https://doi.org/10.2174/092986712803414150>

39. C.N. Pace, H. Fu, K.L. Fryar, J. Landua, S.R. Trevino, D. Schell, R.L. Thurlkill, S. Imura, J.M. Scholtz, K. Gajiwala, J. Sevcik, L. Urbanikova, J.K. Myers, K. Takano, E.J. Hebert, B.A. Shirley, G.R. Grimsley, Contribution of hydrogen bonds to protein stability, *Protein Science: A Publication of the Protein Society*, **23**(5), 652–661 (2014). <https://doi.org/10.1002/pro.2449>
40. A. Khaldan, S. Bouamrane, R. El-mernissi, H. Maghat, A. Sbai, M. Bouachrine, T. Lakhlifi, Molecular docking, ADMET prediction, and quantum computational on 2-methoxy benzoyl hydrazone compounds as potential antileishmanial inhibitors, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, **13**(4), 302 (2022). <https://doi.org/10.33263/BRIAC134.302>
41. Y.Z. Zheng, Y. Zhou, Q. Liang, D.F. Chen, R. Guo, R.C. Lai, Hydrogen-bonding interactions between Apigenin and ethanol/water: a theoretical study, *Scientific Reports*, **6**(1), 34647 (2016). <https://doi.org/10.1038/srep34647>
42. M. Rossi, L.F. Rickles, W.A. Halpin, The crystal and molecular structure of quercetin: A biologically active and naturally occurring flavonoid, *Bioorganic Chemistry*, **14**(1), 55–69 (1986). [https://doi.org/10.1016/0045-2068\(86\)90018-0](https://doi.org/10.1016/0045-2068(86)90018-0)
43. G. Gong, Y.Y. Guan, Z.L. Zhang, K. Rahman, S.J. Wang, S. Zhou, X. Luan, H. Zhang, Isorhamnetin: A review of pharmacological effects, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **128**, 110301 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110301>
44. R. Patil, S. Das, A. Stanley, L. Yadav, A. Sudhakar, A.K. Varma, Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of drug-designing, *PLoS One*, **5**(8), e12029 (2010). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012029>
45. C. M. Roth, B.L. Neal, A.M. Lenhoff, Van der Waals interactions involving proteins, *Biophysical Journal*, **70**(2), 977–987 (1996). [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(96\)79641-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(96)79641-8)
46. L. Turcano, E. Torrente, A. Missineo, M. Andreini, M. Gramiccia, T. Di Muccio, I. Genovese, A. Fiorillo, S. Harper, A. Bresciani, G. Colotti, A. IlariI, Identification and binding mode of a novel *Leishmania* trypanothione reductase inhibitor from high throughput screening, *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **12**(11), e0006969 (2018). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006969>

47. T. Battista, G. Colotti, A. Ilari, A. Fiorillo, Targeting trypanothione reductase, a key enzyme in the redox trypanosomatid metabolism, to develop new drugs against leishmaniasis and trypanosomiasis, *Molecules* (Basel), **25**(8), 1924 (2020). <https://doi.org/10.3390/molecules25081924>
48. F. Fonseca-Silva, J.D.F Inacio, M.M. Canto-Cavalheiro, E.E. Almeida-Amaral, Reactive oxygen species production and mitochondrial dysfunction contribute to quercetin induced death in *Leishmania amazonensis*, *PLoS One*, **6**(2), e14666 (2011). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014666>
49. J. Mercado-Camargo, L. Cervantes-Ceballos, R. Vivas-Reyes, A. Pedretti, M.L. Serrano-García, H. Gómez-Estrada, Homology modeling of leishmanolysin (gp63) from *Leishmania panamensis* and molecular docking of flavonoids, *ACS Omega*, **5**(24), 14741–14749 (2020). <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01584>
50. S. Das, P. Roy, S. Mondal, T. Bera, A. Mukherjee, One pot synthesis of gold nanoparticles and application in chemotherapy of wild and resistant type visceral leishmaniasis, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **107**, 27–34 (2013). <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.01.061>
51. A. Sousa-Batista, F. Poletto, C. Philipon, S. Guterres, A. Pohlmann, B. Rossi-Bergmann, Lipid-core nanocapsules increase the oral efficacy of quercetin in cutaneous leishmaniasis, *Parasitology*, **144**(13), 1769–1774 (2017). <https://doi.org/10.1017/S003118201700097X>
52. A. A. Hassan, H.E. Khalid, A.H. Abdalla, M.M. Mukhtar, W.J. Osman, T. Efferth, Antileishmanial activities of medicinal herbs and phytochemicals *in vitro* and *in vivo*: An update for the years 2015 to 2021, *Molecules*, **27**(21), 7579 (2022). <https://doi.org/10.3390/molecules27217579>
53. R. Chandrasekar, D. Subasish, B. Sivagami, P. Jayasree, M. Niranjana Babu, Therapeutic efficacy of flavonoids and terpenoids an ongoing herbal therapy in the treatment of leishmaniasis, *Natural Products: An Indian Journal*, **14**(2), 124 (2018). URL: <https://www.tsijournals.com/articles/therapeutic-efficacy-of-flavonoids-and-terpenoids-an-ongoing-herbal-therapy-in-the-treatment-of-leishmaniasis-13903.html>

54. J.L. Baldim, B.G.V. de Alcântara, O.d.S. Domingos, M.G. Soares, I.S. Caldas, R.D. Novaes, T.B. Oliveira, J.H.G. Lago, D.A. Chagas-Paula, The correlation between chemical structures and antioxidant, prooxidant, and antitrypanosomatid properties of flavonoids, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, **2017**, ID3789856 (2017). <https://doi.org/10.1155/2017/3789856>
55. D. Tasdemir, M. Kaiser, R. Brun, V. Yardley, T.J. Schmidt, F. Tosun, P. Rüedi, Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: *In vitro*, *in vivo*, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **50**(4), 1352–1364 (2006). <https://doi.org/10.1128/AAC.50.4.1352-1364.2006>
56. P.T.P.P. Neto, T.R. Santos, C.J.M. Tellis, Desenvolvimento de novos derivados de plantas medicinais para doenças negligenciadas: uma análise bibliométrica, *Revista Fitos*, **16**(Supl. 2), 267–292 (2022). URL: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/51650>
57. M.G. Vidal-Sampaio, *Avaliação do perfil fitoquímico e antiparasitário dos óleos essenciais extraídos de espécies eugenia provenientes da Caatinga*, Tesis de Doctorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2016. URL: <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/36898>
58. N.S. Vila-Nova, S.M. Morais, M.J. Falcão, C.M. Bevilaqua, F. Rondon, M.E. Wilson, H.F. Andrade, Leishmanicidal and cholinesterase inhibiting activities of phenolic compounds of *Dimorphandra gardneriana* and *Platymiscium floribundum*, native plants from Caatinga biome, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **32**(11), 1164–1168 (2012). <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2012001100015>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

S. Fernández, E. Gayozo, Acoplamiento molecular *in silico* de compuestos de *Moringa oleifera* Lam. con el sitio catalítico y de unión a FAD-NADPH de la tripanotona reductasa de *Leishmania infantum*, *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **52**(3), 1421–1445 (2023). <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n3.110211>