



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E
INGENIERÍA

CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

**Compuestos potencialmente inhibidores de la Patulina sintasa
de *Penicillium expansum* mediante docking molecular y
cribado virtual**

TESIS

Que presenta

Evelyn Martínez Juárez

Para obtener el título de

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

Director:

Liliana Mireya Aguilar Castro

Mineral de la Reforma, Hidalgo.

2026



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería

School of Engineering and Basic Sciences

Dirección

Office of the Director

Mineral de la Reforma, Hgo., a 8 de junio de 2026

Número de control: ICBI-D/1072/2026

Asunto: Autorización de impresión.

MTRA. OJUKY DEL ROCÍO ISLAS MALDONADO DIRECTORA DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR DE LA UAEH

Con Título Quinto, Capítulo II, Capítulo V, Artículo 51 Fracción IX del Estatuto General de nuestra Institución, por este medio, le comunico que el Jurado asignado a la egresada de la Licenciatura en Biología **Evelyn Martínez Juárez**, quien presenta el trabajo de titulación **"Compuestos potencialmente inhibidores de la Patulina sintasa de *Penicillium expansum* mediante docking molecular y cribado virtual"**, ha decidido, después de revisar fundamento en lo dispuesto en el Título Tercero, Capítulo I, Artículo 18 Fracción IV; dicho trabajo en la reunión de sinodales, **autorizar la impresión del mismo**, una vez realizadas las correcciones acordadas.

A continuación, firman de conformidad los integrantes del Jurado:

Presidente: Dra. Dulce María Galván Hernández

Secretario: Dr. Raúl Velasco Azorsa

Vocal: Dra. Liliana Mireya Aguilar Castro

Suplente: Lic. en Biol. Jimena Cortés Ortiz

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente
"Amor, Orden y Progreso"

Dr. Gabriel Vergara Rodríguez
Director del ICBI

Ciudad del Conocimiento, Carretera Pachuca-Tulancingo
Km. 4.5 Colonia Carboneras, Mineral de la Reforma, Hidalgo,
México. C.P 42184

Teléfono: 52 (771) 71 720 00 Ext. 40001

direccion_icbi@uaeh.edu.mx, vergara@uaeh.edu.mx

GVR/MMM

"Amor, Orden y Progreso"



uaeh.edu.mx

ABREVIATURAS	4
Listado de figuras	4
Listado de tablas	5
Resumen	1
Abstract.....	2
1. Introducción.....	3
2. Antecedentes.....	5
2.1. Contexto histórico y relevancia de las micotoxinas	5
2.2 Importancia de la patulina en la seguridad alimentaria	5
2.3. Biosíntesis de patulina y relevancia de la Patulina sintasa.....	6
2.4. Estrategias de inhibición de micotoxinas	7
2.5. Uso de herramientas computacionales en el diseño de inhibidores.....	7
3. Hipótesis	8
4. Objetivo general	8
5. Objetivos específicos.....	8
6. Justificación	10
7. Metodología.....	11
7.1 Diseño del estudio	11
7.2 Obtención y preparación de la estructura proteica	11
7.3 Identificación del sitio activo	12
7.4 Fase I: Selección y evaluación de compuestos iniciales.....	12
7.4.1 Simulación de docking molecular	13
7.4.2 Análisis de interacciones moleculares	13
7.5 Fase II: Optimización del enfoque.....	13
7.5.1 Criterios fisicoquímicos.....	14
7.5.2 Criterios estructurales	14
7.6 Fase III: Cribado virtual (screening de 1000 moléculas)	14
7.6.1 Docking masivo	14
7.6.2 Criterios de selección de compuestos líderes	15
7.7 Evaluación farmacocinética preliminar	15
7.8 Análisis final de datos	16
8. Resultados y Discusión.....	18
8.1 Análisis estructural del blanco molecular.....	18
8.2 Fase exploratoria.....	20
8.2.1 Análisis de compuestos en la fase inicial	20
8.3 Fase III. Cribado virtual (screening de +1000 moléculas)	21

8.4 Comparación de afinidades y validación del enfoque	22
8.5 Identificación de compuestos líderes.....	23
8.6 Análisis de interacciones proteína-ligando	24
8.7 Análisis individual de los compuestos líderes	27
8.8 Relación con el cofactor FAD	29
8.9 Evaluación ADME y PASS.....	30
8.10 Limitaciones del estudio	32
8.11 Integración de resultados	32
9. Conclusión	33
10. Referencias bibliográficas	34
ANEXO 1	37

ABREVIATURAS

AFB1 Aflatoxina B1

AFB2 Aflatoxina B2

ADME Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción

FAD Flavina adenina dinucleótido

PDB Protein Data Bank

PASS Prediction of Activity Spectra for Substances

PatE Patulina sintasa

SAMSON Software for Adaptive Modeling and Simulation Of Nanosystems

GHS Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals

Listado de figuras

Figura 1. Ruta de la biosíntesis de la Patulina. El gráfico representa la ruta detallada de la síntesis, resaltando el precursor y la enzima que promueve su obtención. Tomado de: Tjallinks et al., 2023.	7
Figura 2. Flujo de trabajo empleado para la identificación de posibles inhibidores de la Patulina sintasa mediante docking molecular y cribado virtual. Imagen generada con ChatGPT (OpenAI, 2026) a partir de instrucciones del autor.	18
Figura 3. En la imagen se observan las seis cadenas polipeptídicas que conforman la enzima, las cuales presentan una alta similitud estructural entre sí.	18
Figura 4. Cadena A de la Patulina sintasa.	19
Figura 5. Sitio activo, cofactor y los residuos de la cadena A. El sitio activo está en recuadro de color verde y los residuos aromaticos en color morado.....	19
Figura 6. Comparación de las afinidades de unión (kcal/mol) obtenidas mediante docking molecular entre la fase exploratoria inicial (n = 14 compuestos) y la fase de cribado virtual (top 10 seleccionados de una biblioteca >1000 moléculas) frente a la Patulina sintasa de <i>Penicillium expansum</i> (PDB: 8BXL).	22
Figura 7. Análisis de interacciones 2D de los cinco compuestos con mayor afinidad de unión hacia la Patulina sintasa de <i>Penicillium expansum</i> (PDB: 8BXL). En la parte superior se muestran las representaciones tridimensionales de los complejos proteína-ligando, mientras que en la parte inferior se presentan los mapas de interacción bidimensional correspondientes.	26

Listado de tablas

Tabla 1. Afinidad de los posibles inhibidores. Contraste de afinidades	21
Tabla 2. Top 5 de compuestos líderes	23
Tabla 3. Análisis del tipo de interacciones presentes en los compuestos líderes 1 a 5	24
Tabla 4. Análisis de las propiedades de los compuestos líderes 1 a 5. Obtenido de: SwissADME, 2017.	30
Tabla 5. Predicciones de las actividades biológicas de los compuestos líderes 1 a 5, obtenidos a partir del programa Pass.	31
Tabla 6. Probabilidades de que los compuestos líderes cumplan con su actividad biológica.	31
A1.1 Ácidos fenólicos (derivados de ácido cafeico)	37
A1.2 Ácidos fenólicos (derivados de ácido rosmarínico).....	38
A1.3 Terpenoides y estilbenos.....	38
A2.1 Top 10 compuestos (screening inicial)	38
A2.2 Top compuestos con refinamiento (exhaustiveness = 64).....	39

Resumen

La contaminación de alimentos por micotoxinas, particularmente la patulina producida por *Penicillium expansum* (Link 1809), representa un problema relevante en la seguridad alimentaria debido a sus efectos tóxicos y su persistencia en productos derivados de frutas. En relación con esto, la inhibición de la enzima patulina sintasa (PatE), involucrada en etapas finales de su biosíntesis, constituye una estrategia potencial para reducir la producción de esta micotoxina (Index fungorum, 2026).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la afinidad de unión y las interacciones moleculares de compuestos potenciales con la patulina sintasa de *Penicillium expansum*, mediante herramientas de modelado molecular, docking computacional y cribado virtual, con el fin de identificar candidatos con posible actividad inhibidora.

La metodología se desarrolló en tres etapas: una fase exploratoria inicial con un conjunto reducido de compuestos de referencia, una fase de optimización de criterios estructurales y un cribado virtual de más de 1000 moléculas seleccionadas bajo parámetros fisicoquímicos y de complementariedad estructural. Las simulaciones de docking se realizaron utilizando el programa abierto AutoDock Vina, evaluando la afinidad de unión, la orientación del ligando y las interacciones con residuos clave del sitio activo.

En la fase inicial, los compuestos evaluados presentaron afinidades débiles (–3 a –4 kcal/mol), lo que evidenció una limitada complementariedad estructural. Sin embargo, el cribado virtual permitió identificar compuestos con afinidades moderadas (hasta –7.084 kcal/mol), destacando principalmente compuestos aromáticos con un grupo fenol. El análisis de interacciones reveló la presencia de puentes de hidrógeno, interacciones π - π y contactos hidrofóbicos con residuos catalíticos, lo que contribuye a la estabilización del complejo proteína-ligando.

En conjunto, los resultados indican que ciertos compuestos presentan afinidad moderada hacia la patulina sintasa y pueden ser considerados candidatos preliminares para el diseño de inhibidores. No obstante, debido a la naturaleza teórica del estudio, se requiere validación mediante estudios experimentales y análisis complementarios para confirmar su actividad biológica. Este trabajo demuestra la utilidad del docking molecular y el cribado virtual como herramientas para la identificación inicial de compuestos bioactivos, aportando bases para el diseño racional de estrategias orientadas a la reducción de la biosíntesis de patulina.

Palabras clave: patulina, patulina sintasa, *Penicillium expansum*, Docking molecular, Cribado virtual

Abstract

Patulin contamination by *Penicillium expansum* poses a major threat to food safety due to its cytotoxicity, genotoxicity, and stability during processing. Inhibiting patulin synthase (PatE), a crucial enzyme in the late biosynthetic pathway, offers a targeted strategy to mitigate toxin production. This study employed an *in silico* pipeline involving structure-based virtual screening (SBVS) and molecular docking to identify potential anti-mycotoxigenic leads targeting the PatE catalytic pocket.

The computational workflow proceeded in three stages: (i) exploratory docking of reference ligands, (ii) structural optimization of selection criteria, and (iii) high-throughput virtual screening of >1,000 compounds filtered by physicochemical descriptors. Simulations were executed via AutoDock Vina to determine binding free energies (ΔG), pose stability, and specific intermolecular architectures within the active site.

While reference compounds exhibited poor complementarity (ΔG : -3 to -4 kcal/mol), the SBVS identified several candidates with significantly enhanced profiles, reaching affinities of -7.08 kcal/mol. These top-ranked molecules, primarily flavonoid-based scaffolds, established robust hydrogen bonding, π - π stacking, and hydrophobic networks with key catalytic residues. Our findings suggest these compounds are viable leads for developing PatE inhibitors. Nevertheless, experimental validation (e.g., *in vitro* enzymatic assays and microbiological tests) remains essential to corroborate their bioactivity. This work demonstrates the efficacy of rational drug design in food safety, providing a scaffold-based foundation for controlling patulin biosynthesis at the source.

Keywords: patulin, patulin synthase, *Penicillium expansum*, molecular docking, virtual screening

1. Introducción

La contaminación de alimentos por micotoxinas constituye un problema relevante en la seguridad alimentaria a nivel mundial, debido a su amplia distribución, estabilidad química y efectos adversos en la salud humana y animal. Estas sustancias, producidas como metabolitos secundarios por diversos hongos filamentosos, pueden encontrarse en productos agrícolas durante etapas de cultivo, almacenamiento y procesamiento, lo que dificulta su control y eliminación (Xu et al., 2023).

Entre las micotoxinas de mayor interés se encuentra la patulina, producida principalmente por *Penicillium expansum*, un hongo asociado a la descomposición de frutas, especialmente manzanas y sus derivados (Zhong et al., 2018).

Este hongo pertenece al filo Ascomycota, dentro de la familia Aspergillaceae. Macroscópicamente, se caracteriza por formar colonias aterciopeladas de micelio filamentoso superficial. En cultivo, el reverso de la colonia presenta una pigmentación amarilla. Es el agente causal del “moho azul” en pomáceas (manzanas, peras y membrillos). Microscópicamente, produce conidióforos con apariencia de pincel, de paredes lisas, que pueden ser simples o ramificados. Estos culminan en fiálides lageniformes, dispuestas en cabezas conidiales generalmente asimétricas. Los conidios son elípticos, de pared lisa, con tonalidad verde y se producen en cadenas desde el ápice de las fiálides, por lo que la espora más joven se ubica en la base de la cadena. La ramificación de sus conidióforos es terverticilada (como racimo): del estípite principal surgen ramas primarias, estas dan origen a un segundo nivel de ramas o métulas, y finalmente se desarrollan las fiálides (Errampalli, 2014).

La exposición a la patulina se ha relacionado con efectos tóxicos que incluyen alteraciones gastrointestinales, inmunológicas y estrés oxidativo, lo que ha llevado a establecer límites regulatorios estrictos para su presencia en alimentos (Duncan et al., 2021). No obstante, su capacidad de difundirse en los tejidos vegetales hace que su eliminación mediante métodos convencionales resulte limitada, lo que plantea la necesidad de desarrollar estrategias alternativas orientadas a su control desde la biosíntesis.

La producción de patulina ocurre a través de una ruta metabólica compleja que involucra múltiples enzimas, entre las cuales la patulina sintasa (PatE) cataliza una de las etapas finales (Tjallinks et al., 2023). Debido a su papel en la síntesis de la micotoxina, esta enzima representa un blanco molecular estratégico para el diseño de compuestos capaces de interferir en su actividad y, potencialmente, reducir la formación de patulina.

En este contexto, el uso de herramientas computacionales como el docking molecular y el cribado virtual ha emergido como una estrategia eficiente para el análisis de interacciones proteína-ligando y la identificación preliminar de posibles inhibidores. Estas metodologías permiten evaluar grandes conjuntos de compuestos en tiempos reducidos, estimando su afinidad de unión y su capacidad de interacción con sitios activos específicos, lo que facilita el desarrollo de enfoques de diseño racional (Deepa et al., 2026).

El presente estudio se enfocó en la evaluación de compuestos potenciales capaces de interactuar con la patulina sintasa de *Penicillium expansum*, mediante una estrategia metodológica escalonada que incluye una fase exploratoria inicial, la optimización de criterios de selección y un cribado virtual de más de 1000 moléculas. Este enfoque permite ampliar el espacio químico analizado y aumentar la probabilidad de identificar compuestos con afinidad relevante hacia el sitio activo de la enzima.

A través de este análisis, se busca no solo identificar candidatos con potencial inhibidor, sino también establecer relaciones entre las características estructurales de los compuestos y su capacidad de interacción con la proteína blanco. De esta manera, el estudio contribuye al entendimiento de los mecanismos de reconocimiento molecular en sistemas enzimáticos y proporciona bases para el diseño de estrategias dirigidas a la reducción de la biosíntesis de la patulina.

Finalmente, este trabajo se inserta dentro del campo del descubrimiento racional de compuestos bioactivos mediante herramientas *in silico*, ofreciendo una aproximación metodológica que puede ser aplicada en estudios posteriores de validación experimental y optimización estructural, con implicaciones potenciales en la industria alimentaria y la salud pública.

2. Antecedentes

2.1. Contexto histórico y relevancia de las micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de naturaleza orgánica producidos por hongos filamentosos que han representado un problema para la salud humana y animal a lo largo de la historia. Su impacto se ha documentado desde eventos como el ergotismo, asociado al consumo de granos contaminados por *Claviceps purpurea* (Fr, 1853), hasta episodios más recientes relacionados con la presencia de aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus* (Link, 1809), las cuales han ocasionado pérdidas económicas y sanitarias significativas en diversos sistemas agrícolas (Meneelyn et al., 2023, Index fungorum, 2026).

El reconocimiento de las micotoxinas como agentes tóxicos relevantes se consolidó durante el siglo XX, particularmente a partir de estudios que evidenciaron su relación con enfermedades en humanos y animales, así como su persistencia en alimentos almacenados. Este contexto histórico ha permitido comprender que la contaminación por micotoxinas no es un fenómeno aislado, sino un problema estructural vinculado a prácticas de producción, almacenamiento y distribución de alimentos (Zhong et al., 2018).

2.2 Importancia de la patulina en la seguridad alimentaria

Dentro del grupo de micotoxinas, la patulina ha adquirido especial relevancia debido a su frecuente presencia en frutas, particularmente en manzanas y productos derivados, como jugos y sidras. Esta micotoxina es producida principalmente por *Penicillium expansum*, un hongo necrotrófico que prolifera durante el almacenamiento y poscosecha (Xu et al., 2023).

Diversos estudios han reportado niveles significativos de contaminación en alimentos, se han registrado una incidencia del 61.7% en mangos y en derivados de este en Pakistán; en México en un estudio realizado en manzanas el 8.6% de las muestras estaban contaminadas con patulina (Hussain et al., 2020, Moreno 2015). Lo que ha llevado a organismos internacionales a establecer límites máximos permisibles para su consumo, la FDA limita la presencia de la patulina a 50 ppb en los alimentos que sean de consumo humano. Para alimentos de tipo jugos de frutas y jugos concentrados se establece que el consumo debe de ser de 50 ppb, 25 ppb para sólidos de manzana, para el caso de bebés y lactantes se establece

que el consumo debe de ser de 10 ppb y Codex Alimentarius establece que el límite permitido es de 50 µg/kg (Moreno 2015 y Alshannaq y Yu., 2017). La exposición a patulina se ha asociado con efectos tóxicos en humanos, incluyendo alteraciones gastrointestinales, inmunológicas, genotóxicas y estrés oxidativo, derivados de su capacidad para reaccionar con biomoléculas celulares y generar especies reactivas de oxígeno (Duncan et al., 2021).

Un aspecto crítico de esta micotoxina es su capacidad de difusión en los tejidos vegetales, lo que dificulta su eliminación mediante métodos convencionales, como la remoción de las partes visiblemente dañadas del alimento. Esta característica resalta la necesidad de desarrollar estrategias enfocadas en la prevención de su biosíntesis.

2.3. Biosíntesis de patulina y relevancia de la Patulina sintasa

La biosíntesis de la patulina es un proceso complejo que involucra múltiples reacciones enzimáticas a partir de precursores metabólicos como el acetyl-CoA. Dentro de esta ruta, la enzima patulina sintasa (PatE) cataliza una de las etapas finales, lo que la posiciona como un blanco molecular estratégico para la inhibición de la producción de la micotoxina (Tjallinks et al., 2023).

Estudios estructurales han demostrado que esta enzima presenta un sitio activo asociado a un cofactor flavina adenina dinucleótido (FAD), característico de enzimas oxidoreductasas. La presencia de residuos específicos, como la histidinas (HIS526-catalítica e HIS570-donador de hidrógenos) y aminoácidos aromáticos (Tyr111, Phe416 y Phe525), sugiere un entorno catalítico capaz de establecer interacciones tanto polares como no polares, debido a que HIS526 promueve la unión con los posibles inhibidores, los 3 tipos de aminoácidos son muy versátiles, 2 de estos cuentan con anillos de benceno con cargas móviles (-), que tienen la capacidad de ser donadores o aceptores de hidrógeno (para generar interacciones fuertes); lo cual es relevante para el diseño de moléculas inhibitoras (Tjallinks et al., 2023).

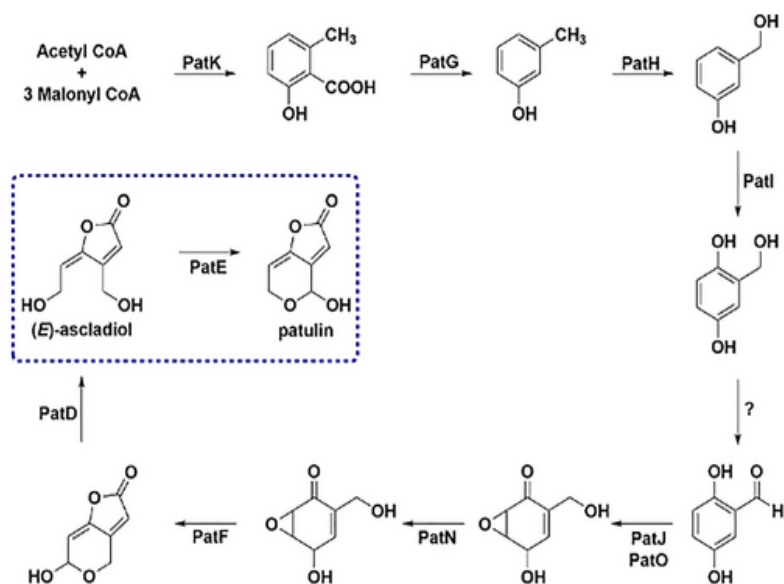


Figura 1. Ruta de la biosíntesis de la Patulina. El gráfico representa la ruta detallada de la síntesis, resaltando el precursor y la enzima que promueve su obtención. Tomado de: Tjallinks et al., 2023.

2.4. Estrategias de inhibición de micotoxinas

Tradicionalmente, el control de micotoxinas se ha basado en prácticas agrícolas y el manejo poscosecha al hacer uso de agentes antifúngicos. Sin embargo, estas estrategias presentan limitaciones, como la resistencia de los microorganismos, la persistencia de las toxinas y posibles efectos adversos en la salud y el ambiente (Xu et al., 2023).

En este sentido, ha surgido el interés por desarrollar estrategias dirigidas a la inhibición de rutas biosintéticas específicas mediante compuestos químicos, particularmente aquellos derivados de metabolitos secundarios de plantas, como flavonoides, terpenoides y compuestos fenólicos, los cuales han mostrado actividad antifúngica y capacidad de interactuar con proteínas, lo que los convierte en candidatos potenciales para estudios de inhibición enzimática (Luna et al., 2018).

2.5. Uso de herramientas computacionales en el diseño de inhibidores

El avance de la bioinformática y la química computacional ha permitido el desarrollo de herramientas como el docking molecular y el cribado virtual, las cuales facilitan el análisis de interacciones entre ligandos y proteínas a nivel atómico (Deepa et al., 2026).

El docking molecular permite predecir la orientación y afinidad de unión de un ligando dentro del sitio activo de una proteína, mientras que el cribado virtual posibilita la evaluación de grandes bibliotecas de compuestos en tiempos reducidos. Estas metodologías han sido ampliamente utilizadas en el descubrimiento de fármacos y en el diseño racional de inhibidores enzimáticos, ya que permiten priorizar compuestos antes de su validación experimental (Fan et al., 2019).

3. Hipótesis

Los compuestos seleccionados mediante criterios estructurales y fisicoquímicos presentarán afinidades de unión moderadas o superiores (≤ -6 kcal/mol) y establecerán interacciones moleculares relevantes con los residuos clave del sitio activo de la patulina sintasa de *Penicillium expansum*, evaluadas mediante docking molecular y cribado virtual, lo que permitirá identificar candidatos con potencial inhibidor de la enzima y base para su optimización estructural.

4. Objetivo general

Evaluar la afinidad de unión y las interacciones moleculares de compuestos (con potencial antifúngico) con la enzima Patulina sintasa de *Penicillium expansum*, mediante herramientas de modelado molecular, docking computacional y cribado virtual, para identificar compuestos candidatos que sirvan como punto de partida en el desarrollo de futuros inhibidores de la biosíntesis de patulina.

5. Objetivos específicos

1. Caracterizar estructuralmente la enzima Patulina sintasa de *Penicillium expansum*, mediante el análisis de su estructura tridimensional y la identificación de residuos catalíticos y del sitio activo, para definir el entorno molecular relevante en el que ocurren las interacciones ligando-proteína.
2. Seleccionar y preparar un conjunto de compuestos potencialmente inhibidores, con antecedente antifúngico, mediante la búsqueda en bases de datos químicas y la optimización estructural de los ligandos, para generar un sistema adecuado para la evaluación computacional de su interacción con la enzima.
3. Evaluar la afinidad de unión de compuestos seleccionados con la Patulina sintasa, mediante simulaciones de docking molecular utilizando AutoDock Vina, para determinar su capacidad de interacción y estabilidad dentro del sitio activo.
4. Analizar las interacciones moleculares entre los ligandos y la enzima, mediante herramientas de visualización estructural, para identificar los tipos de interacciones (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y π - π) que favorecen la estabilización del complejo proteína-ligando.
5. Diseñar y ejecutar un cribado virtual de una biblioteca de más de 1000 moléculas, mediante criterios fisicoquímicos y estructurales previamente definidos, para ampliar el espacio químico explorado e identificar compuestos con mayor afinidad de unión.
6. Seleccionar y priorizar compuestos líderes, mediante el análisis comparativo de afinidad, calidad de pose e interacciones con residuos clave, para proponer candidatos con potencial inhibidor de la Patulina sintasa.
7. Evaluar de manera preliminar las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de los compuestos seleccionados, mediante herramientas computacionales como SwissADME, para estimar su viabilidad como posibles agentes bioactivos.

6. Justificación

La micotoxina patulina producida principalmente por *Penicillium expansum*, es una toxina de interés en la seguridad alimentaria debido a su alta incidencia en frutas y productos derivados, así como a sus efectos adversos en la salud humana, incluyendo toxicidad gastrointestinal, inmunológica y genotóxica (Pal et al., 2017, Duncan et al., 2021).

Un problema asociado a esta micotoxina es que su presencia no se elimina únicamente con la remoción del tejido dañado, ya que el compuesto puede extenderse por difusión a otras partes del tejido, por lo tanto, resulta fundamental desarrollar estrategias orientadas no solo a la detección, sino también a la inhibición de su biosíntesis.

La enzima Patulina sintasa (PatE) participa en una de las etapas finales de la ruta biosintética de la patulina, lo que la convierte en un blanco molecular estratégico para la inhibición de su producción (Tjallinks et al., 2023).

El uso de herramientas computacionales, como el docking molecular y el cribado virtual, permiten evaluar de manera preliminar la interacción entre compuestos químicos y proteínas blanco, facilitando la identificación de posibles inhibidores con base en su afinidad de unión y tipo de interacciones..

Es por esto que en este trabajo, se propone una estrategia de descubrimiento racional de inhibidores basada en tres niveles de análisis: una fase exploratoria inicial, la optimización de criterios estructurales y un cribado virtual ampliado de más de 1000 moléculas para aumentar la probabilidad de identificar compuestos con afinidad relevante hacia la Patulina sintasa.

Los resultados obtenidos pueden servir como base para el desarrollo de estrategias dirigidas a la reducción de la biosíntesis de la patulina, con posibles implicaciones en la industria alimentaria y la salud pública.

7. Metodología

7.1 Diseño del estudio

Se realizó un estudio *in silico* basado en herramientas de modelado molecular, docking computacional y cribado virtual, con el objetivo de evaluar la afinidad de unión y las interacciones moleculares entre diversos compuestos y la enzima Patulina sintasa de *Penicillium expansum*.

El diseño metodológico se estructuró en tres fases secuenciales:

1. Fase exploratoria: evaluación de un conjunto reducido de compuestos de referencia
2. Fase de optimización: análisis de tendencias estructurales y ajuste de criterios de selección
3. Fase de cribado virtual masivo: evaluación de una biblioteca de más de 1000 moléculas

Esta estrategia permitió transitar de un enfoque inicial exploratorio a un modelo de descubrimiento racional de inhibidores.

7.2 Obtención y preparación de la estructura proteica

La estructura tridimensional de la Patulina sintasa fue obtenida de la Protein Data Bank (PDB ID: 8BXL), determinada mediante cristalografía de rayos X.

La preparación de la proteína se realizó utilizando el software UCSF Chimera, siguiendo los pasos:

- Selección de la cadena A como unidad funcional de análisis
- Conservación del cofactor FAD en el sitio activo
- Eliminación de moléculas de agua no estructurales
- Adición de hidrógenos polares
- Asignación de cargas parciales
- Preparación del archivo en formato compatible con docking

7.3 Identificación del sitio activo

El sitio activo fue definido mediante análisis estructural y revisión de literatura, considerando:

- Presencia del cofactor FAD
- Residuos catalíticos reportados (His526, His570)
- Residuos asociados al reconocimiento del sustrato (Tyr111, Phe416, Phe525) (Tjallinks et al., 2023)

Se delimitó una región de exploración (grid box) centrada en dicha cavidad, asegurando la inclusión de los residuos catalíticos y el entorno inmediato del cofactor.

7.4 Fase I: Selección y evaluación de compuestos iniciales

En la fase exploratoria se seleccionó un conjunto de 14 compuestos, incluyendo:

- 10 confórmeros de 1-Octen-3-ol
- Ácido (2R,3S)-2-amino-3-metil-pentanoico
- 6-hidroxycumarina
- Fludioxonil
- Meticrane
- (E)-ascladiol (control de referencia)

Los ligandos fueron obtenidos de bases de datos químicas (principalmente PubChem) y preparados mediante:

- Optimización geométrica
- Adición de hidrógenos
- Conversión a formato compatible con docking

7.4.1 Simulación de docking molecular

Las simulaciones de acoplamiento molecular se realizaron utilizando AutoDock Vina integrado en la plataforma SAMSON.

Parámetros utilizados:

- Número de modos (num_modes): 10
- Exhaustividad: 8 (fase inicial)
- Rango energético: 3–4 kcal/mol

Para cada ligando se evaluaron:

- Energía de afinidad (kcal/mol)
- Orientación dentro del sitio activo
- Interacciones con residuos clave

7.4.2 Análisis de interacciones moleculares

Las conformaciones con menor energía de unión fueron analizadas mediante:

- UCSF Chimera
- BIOVIA Discovery Studio Visualizer

Se identificaron los siguientes tipos de interacciones:

- Puentes de hidrógeno
- Interacciones hidrofóbicas
- Interacciones π - π
- Contactos de Van der Waals

7.5 Fase II: Optimización del enfoque

A partir de los resultados iniciales, se identificó que los compuestos evaluados presentaban afinidades bajas, lo que indicó una limitada exploración del espacio químico.

Con base en este análisis, se definieron criterios de selección racional para una nueva biblioteca de compuestos:

7.5.1 Criterios fisicoquímicos

- Peso molecular: 100–300 g/mol
- LogP: -1 a 3
- Donadores de H: 0–5
- Aceptores de H: 1–10

7.5.2 Criterios estructurales

- Presencia de al menos un anillo aromático
- Grupos funcionales polares (OH, NH, carbonilo)
- Capacidad de interacción con residuos catalíticos
- Compatibilidad geométrica con el sitio activo

7.6 Fase III: Cribado virtual (screening de 1000 moléculas)

Se construyó una biblioteca de más de 1000 moléculas organizada en tres grupos:

1. Productos naturales (flavonoides, cumarinas, terpenoides)
2. Análogos aromáticos oxigenados
3. Compuestos con actividad antifúngica reportada

7.6.1 Docking masivo

El cribado virtual se realizó utilizando AutoDock Vina con los mismos parámetros base.

Posteriormente:

- Se realizó un ranking basado en afinidad
- Se seleccionaron los mejores ~50 compuestos
- Se aplicó un refinamiento con mayor exhaustividad (hasta 64)

7.6.2 Criterios de selección de compuestos líderes

Los compuestos fueron seleccionados considerando múltiples filtros:

1. Afinidad de unión

- ≤ -6.0 kcal/mol: moderada
- ≤ -7.0 kcal/mol: favorable

2. Interacciones clave

- Contacto con al menos dos residuos del sitio activo
- Presencia de puentes de hidrógeno o interacciones π - π

3. Calidad de la pose

- Orientación dentro del bolsillo catalítico
- Ausencia de choques estéricos
- No exposición excesiva al solvente

4. Propiedades químicas

- Estabilidad estructural
- Diversidad química

7.7 Evaluación farmacocinética preliminar

Los compuestos seleccionados fueron evaluados *in silico* mediante SwissADME para estimar:

- Lipofilicidad
- Solubilidad
- Propiedades de absorción

Estos parámetros fueron utilizados como criterio complementario de selección.

7.8 Análisis final de datos

Se registraron para cada compuesto:

- ID y nombre
- Afinidad de unión
- Tipo y número de interacciones
- Residuos implicados
- Interacción con FAD (sí/no)
- Observaciones estructurales

Los resultados fueron organizados en tablas comparativas y mapas de interacción 2D para su interpretación. Cabe señalar que el enfoque de docking molecular constituye una aproximación predictiva, por lo que los resultados deben ser validados mediante estudios experimentales posteriores.

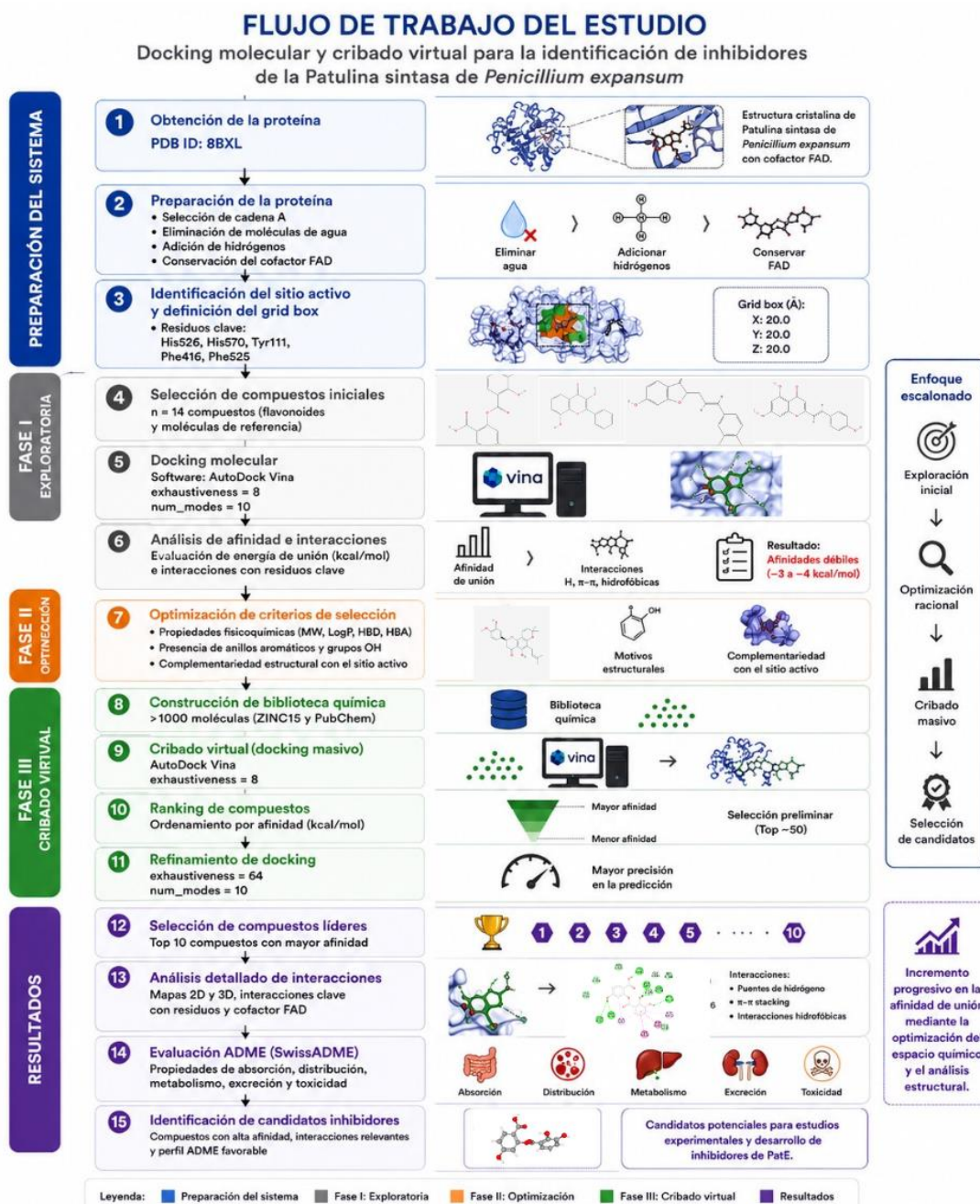


Figura 2. Flujo de trabajo empleado para la identificación de posibles inhibidores de la Patulina sintasa mediante docking molecular y cribado virtual. *Imagen generada con ChatGPT (OpenAI, 2026) a partir de instrucciones del autor.*

8. Resultados y Discusión

8.1 Análisis estructural del blanco molecular

El análisis de la estructura tridimensional (**Figura 3**) de la Patulina sintasa de *Penicillium expansum* (PDB ID: 8BXL) permitió identificar un sitio activo localizado en una cavidad próxima al cofactor flavina adenina dinucleótido (FAD). La enzima presenta una organización oligomérica compuesta por seis cadenas polipeptídicas con alta similitud estructural, lo que sugiere una conservación funcional del sitio catalítico.

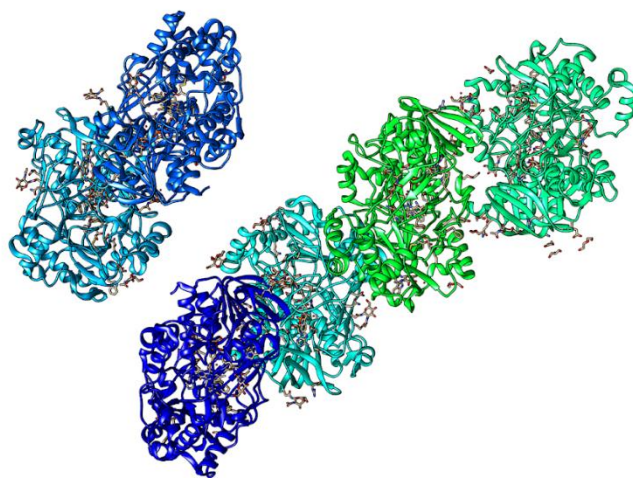


Figura 3. En la imagen se observan las seis cadenas polipeptídicas que conforman la enzima, las cuales presentan una alta similitud estructural entre sí.

Para los estudios de docking molecular se seleccionó la cadena A (**Figura 4**), la cual contiene el bolsillo catalítico funcional. El sitio activo fue delimitado con base en reportes estructurales previos, identificando los residuos clave His526, His570, Tyr111, Phe416 y Phe525. Estos aminoácidos participan en el reconocimiento del sustrato y en la estabilización del estado de transición (Tjallinks et al., 2023)

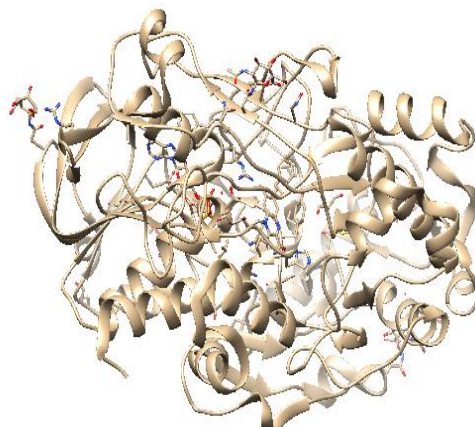


Figura 4. Cadena A de la *Patulina sintasa*.

Desde una perspectiva estructural de la Figura 5, la presencia de residuos aromáticos como fenilalanina y tirosina sugiere la relevancia de interacciones π - π en el reconocimiento molecular, mientras que los residuos polares e ionizables permiten la formación de enlaces de hidrógeno. Asimismo, la proximidad al cofactor FAD indica que la enzima pertenece a la familia de oxidoreductasas, lo que sugiere que los mecanismos de inhibición pueden estar asociados tanto a bloqueo estérico del sitio activo como a la alteración del microambiente catalítico.

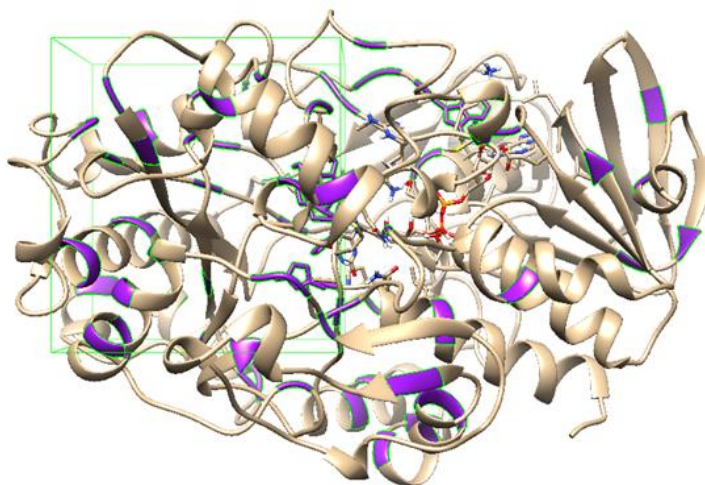


Figura 5. Sitio activo, cofactor y los residuos de la cadena A. El sitio activo está en recuadro de color verde y los residuos aromaticos en color morado.

8.2 Fase exploratoria

En una primera etapa, se evaluaron 14 compuestos, incluyendo confórmers de 1-Octen-3-ol, ácido (2R,3S)-2-amino-3-metil-pentanoico, 6-hidroxycumarina, fludioxonil, meticrane y el precursor (E)-ascladiol.

Los valores de afinidad obtenidos se situaron en un rango aproximado de -3 a -4 kcal/mol, lo que indica interacciones débiles entre los ligandos y el sitio activo de la enzima. Este comportamiento sugiere que los compuestos evaluados presentan una baja estabilidad en el complejo proteína-ligando y, por tanto, un potencial inhibidor limitado.

Desde una perspectiva estructural, estas bajas afinidades pueden explicarse por:

- Tamaño molecular reducido
- Baja complementariedad con la cavidad enzimática
- Número limitado de interacciones estabilizantes

Estos resultados evidencian que el espacio químico inicialmente explorado fue restringido, lo que motivó la implementación de un cribado virtual ampliado.

8.2.1 Análisis de compuestos en la fase inicial

Los confórmers de 1-Octen-3-ol mostraron las afinidades más favorables dentro de esta primera fase. Sin embargo, debido a su naturaleza hidrofóbica y tamaño reducido, presentan una capacidad limitada para formar interacciones específicas, particularmente puentes de hidrógeno, lo que restringe su potencial como inhibidores eficaces. A pesar de sus limitaciones, este es un compuesto oleoso volátil que funciona como atrayente de insectos, es un agente antimicrobiano y se encuentra en la naturaleza al menos en *Nepeta nepetella* (hierba gatera) y *Origanum syriacum* (orégano sirio) (NCBI, 2024).

Por otro lado, el ácido (2R,3S)-2-amino-3-metil-pentanoico mostró afinidades ligeramente superiores, atribuibles a la presencia de grupos funcionales polares capaces de establecer interacciones con residuos del sitio activo. No obstante, la orientación del ligando dentro del

bolsillo catalítico no favoreció una estabilización significativa del complejo. Este compuesto no cuenta con información acerca de su toxicidad, pero cabe resaltar que no tiene declaraciones de peligro del GHS (NCBI, 2024).

En el caso de la 6-hidroxycumarina, fludioxonil y meticrane, las afinidades obtenidas fueron bajas, lo que podría explicarse por limitaciones estéricas o por una orientación desfavorable dentro del sitio activo. Los compuestos tienen la capacidad de eliminar en cierto porcentaje la producción de patulina, en el caso de la 6-hydrocumarina genera una inhibición dependiente de la dosis (17-81%) en un rango de concentración de 10 μ M a 1 mM y Meticrane tuvo una inhibición de 43% en una concentración de 10 μ M. 6-hydrocumarina también generó una reducción de la producción de la patulina del 60%, en manzanas *in vivo* a 100 μ g/vuelta y Meticrano generó una disminución del 41% en la producción de patulina (Tragni et al., 2021).

8.3 Fase III. Cribado virtual (screening de +1000 moléculas)

Con el objetivo de ampliar el espacio químico explorado, se realizó un cribado virtual de más de 1000 moléculas seleccionadas bajo criterios fisicoquímicos y estructurales específicos.

Como resultado de este proceso, se identificaron aproximadamente 35 compuestos con afinidades en el rango de -5 a -7 kcal/mol, lo que corresponde a interacciones de tipo moderado, como se muestra en la **tabla 1**. Entre los compuestos identificados, los que son aromáticos con un grupo fenol destacaron como el grupo químico con mejor desempeño, lo cual puede atribuirse a su arquitectura molecular rica en sistemas aromáticos y grupos funcionales capaces de formar enlaces de hidrógeno.

Tabla 1. Afinidad de los posibles inhibidores. Contraste de afinidades	
Afinidad (kcal/mol)	interpretación
-10 a -12	Excelente
-8 a -10	buena
-6 a -8	moderada

Tabla 1. Afinidad de los posibles inhibidores. Contraste de afinidades	
-4 a -6	débil
mayor a -4	no significativa

8.4 Comparación de afinidades y validación del enfoque

La comparación entre la fase exploratoria inicial y el cribado virtual (**Figura 6**) evidenció una mejora significativa en los valores de afinidad, pasando de un rango de -3 a -4 kcal/mol a valores de hasta -7.084 kcal/mol.

Este comportamiento confirma que la optimización del espacio químico y el uso de criterios de selección racional permiten incrementar la probabilidad de identificar compuestos con mayor afinidad de unión. En este sentido, el cribado virtual se consolida como una herramienta eficiente para la identificación preliminar de posibles inhibidores en estudios *in silico*.

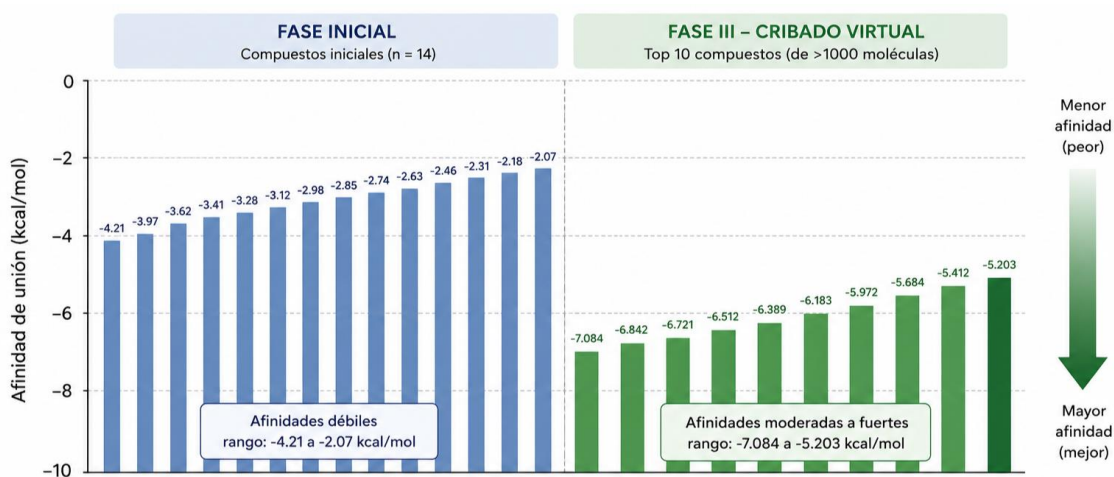
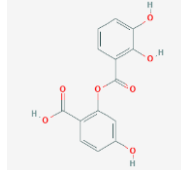
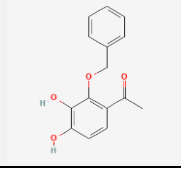
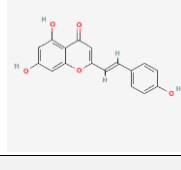
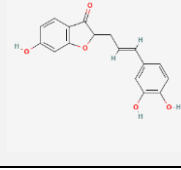
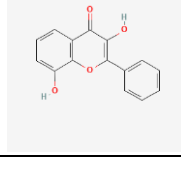


Figura 6. Comparación de las afinidades de unión (kcal/mol) obtenidas mediante docking molecular entre la fase exploratoria inicial (n = 14 compuestos) y la fase de cribado virtual (top 10 seleccionados de una biblioteca >1000 moléculas) frente a la Patulina sintasa de *Penicillium expansum* (PDB: 8BXL).

El cribado virtual permitió identificar compuestos con afinidades significativamente más favorables, lo que fundamenta la selección de los compuestos líderes para su análisis detallado.

8.5 Identificación de compuestos líderes

Con base en los valores de afinidad obtenidos, se seleccionaron cinco compuestos como candidatos principales, con afinidades comprendidas entre -6.627 y -7.084 kcal/mol. En la **Tabla 2**, se muestran los cinco candidatos principales con base en sus valores de afinidad.

Tabla 2. Top 5 de compuestos líderes				
Compuesto	Estructura	Nombre	ID del compuesto	Afinidad (kcal/mol)
1		ácido 2-[(2,3-dihidroxi-benzoil)oxi]-4-hidroxi-benzoico	90754373	-7.084
2		1-[3,4-dihidroxi-2-(fenilmetoxi)fenil]etan-1-ona	169146921	-6.913
3		5,7-Dihidroxi-2-(4-hidroxiestiril)-4H-chromen-4-ona	6477682	-6.776
4		2-[(2E)-3-(3,4-dihidroxi-fenil)prop-2-en-1-il]-6-hidroxi-1-benzofuran-3(2H)-ona	167437449	-6.760
5		8-hidroxi-2-fenil-4H-cromen-4-ona-3-ol	53934628	-6.627

El compuesto **1** presentó la mayor afinidad de unión, colocándose como el candidato más prometedor dentro del estudio. Su alta afinidad y eficacia para los fines que se tienen previstos se puede apoyar por sus propiedades antimicóticas, se ha probado que reduce el crecimiento micelial e inhibe la biosíntesis de aflatoxinas B1 y B2 (Zi et al., 2023).

8.6 Análisis de interacciones proteína-ligando

El análisis detallado de las interacciones moleculares reveló que los compuestos líderes establecen un patrón consistente de interacciones no covalentes que contribuyen a la estabilización del complejo proteína-ligando (Mora et al., 2020). Como se observa en la **Tabla 2**, el análisis detallado de las interacciones moleculares reveló que el compuesto **1** establece múltiples interacciones estabilizantes, incluyendo:

- Puentes de hidrógeno con residuos GLU, ALA, TYR, ASP y PRO
- Interacciones π - π con residuos aromáticos como PHE y TYR
- Interacciones de tipo Van der Waals con diversos residuos del sitio activo, como se muestra en la figura 7.0

Tabla 3. Análisis del tipo de interacciones presentes en los compuestos líderes 1 a 5					
Compuesto	Puentes de hidrógeno	Interacciones hidrofóbicas	Interacciones π - π	Interacciones de tipo Van der Waals	Interacción con FAD
1	6	2	4	4	no
2	1	1	6	7	no
3	1	2	2	3	no
4	3	0	3	0	no
5	2	0	4	0	no

Estas interacciones contribuyen de manera significativa a la estabilización del complejo proteína-ligando, lo que explica su mayor afinidad relativa en comparación con otros compuestos (Inemesit et al., 2021).

De manera general, se observó que los compuestos con mayor afinidad comparten características estructurales comunes, tales como:

- Presencia de anillos aromáticos
- Grupos funcionales capaces de formar puentes de hidrógeno
- Tamaño molecular intermedio (250–300 Da)
- Estructuras relativamente planas

Estas propiedades favorecen el acoplamiento dentro del sitio activo y la formación de interacciones específicas.

El análisis de las interacciones bidimensionales (2D) de los cinco compuestos con mayor afinidad (**Figura 7**) hacia la Patulina sintasa reveló un patrón consistente de interacciones no covalentes que contribuyen a la estabilización del complejo proteína-ligando. En todos los casos, se observaron interacciones de tipo Van der Waals con residuos del sitio activo, destacando principalmente aminoácidos aromáticos y polares como PHE, TYR, GLU y PRO, los cuales favorecen el anclaje inicial del ligando. Asimismo, los compuestos presentaron múltiples enlaces de hidrógeno, particularmente con residuos como ASP, TYR, GLU e HIS, lo que sugiere una contribución significativa a la especificidad y estabilidad del acoplamiento.

Adicionalmente, se identificaron interacciones π - π y π -alquilo con residuos aromáticos como PHE y TYR, especialmente en los compuestos aromáticos con un grupo fenol, lo que refuerza la importancia de los sistemas aromáticos en la afinidad de unión. En algunos casos, se observaron interacciones tipo π -catión con residuos como LYS, lo que indica un posible refuerzo electrostático en la interacción. En conjunto, estos resultados sugieren que la combinación de interacciones hidrofóbicas, enlaces de hidrógeno y contactos aromáticos contribuye de manera sinérgica a la estabilización de los complejos, lo cual es consistente con los valores de afinidad obtenidos en el docking molecular.

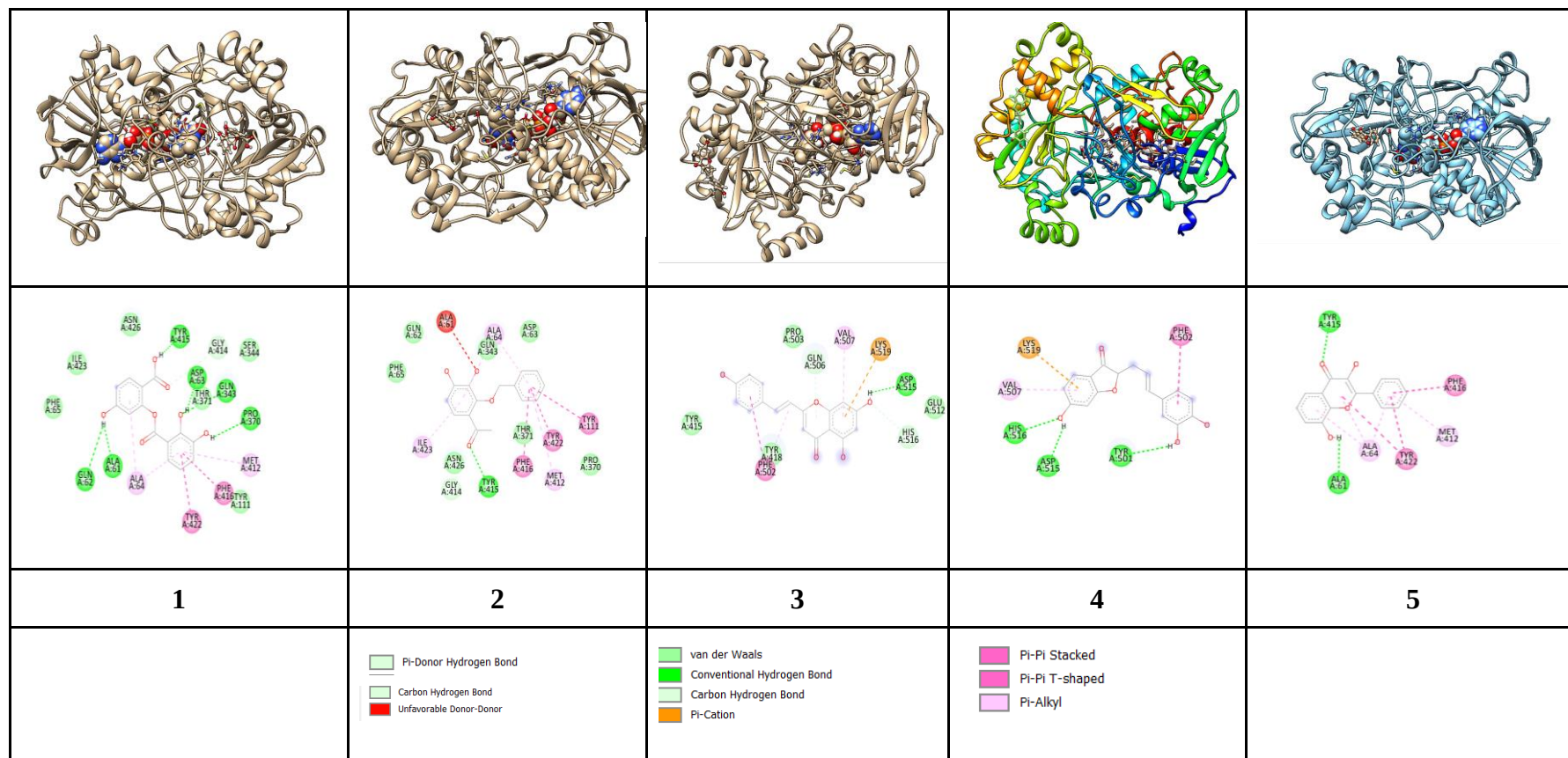


Figura 7. Análisis de interacciones 2D de los cinco compuestos con mayor afinidad de unión hacia la Patulina sintasa de *Penicillium expansum* (PDB: 8BXL). En la parte superior se muestran las representaciones tridimensionales de los complejos proteína-ligando, mientras que en la parte inferior se presentan los mapas de interacción bidimensional correspondientes.

8.7 Análisis individual de los compuestos líderes

El compuesto **1** presentó la mayor afinidad de unión, lo que sugiere una elevada estabilidad del complejo proteína-ligando. Al ser un compuesto aromático con un grupo fenol su estructura favorece la formación de múltiples interacciones, incluyendo enlaces de hidrógeno con residuos polares como GLU62, ASP63, TYR415 y PRO370, así como interacciones de tipo Van der Waals con PHE y SER. La presencia de sistemas aromáticos permite interacciones π - π con residuos como PHE65 y TYR111, lo que contribuye significativamente a su afinidad. En conjunto, la combinación de interacciones polares y aromáticas explica su mejor desempeño dentro del estudio.

El segundo compuesto mostró una afinidad ligeramente menor, pero aún dentro del rango moderado-alto. Se observaron múltiples interacciones de tipo Van der Waals con residuos como GLN62 y 343, ASP63, THR371, ASN426 y PRO370, lo que indica un buen ajuste estérico dentro del sitio activo. Asimismo, presenta enlaces de hidrógeno con TYR422 Y 111 y contactos aromáticos con PHE416, lo que refuerza la estabilidad del complejo. La presencia de una interacción no favorable (donador-donador) con ALA61 sugiere una ligera penalización energética, lo que podría explicar su menor afinidad relativa respecto al compuesto **1**.

El compuesto **3** presenta un perfil de interacción equilibrado, con contribuciones tanto de interacciones hidrofóbicas como polares. Se identificaron interacciones de Van der Waals con TYR415, PRO503 y GLU512, así como enlaces de hidrógeno con ASP515. Además, presenta enlaces carbono-hidrógeno con GLN506 y HIS516, y una interacción π -catión con LYS519, lo que sugiere un componente electrostático adicional en la estabilización del complejo. Las interacciones π con PHE502 refuerzan la importancia del carácter aromático en su afinidad.

El compuesto **4** mostró una afinidad similar al compuesto **3**, con un patrón de interacción dominado por enlaces de hidrógeno con residuos clave como HIS516, ASP515 y TYR501. Estas interacciones contribuyen a la orientación específica del ligando dentro del sitio activo. Asimismo, presenta interacciones aromáticas con PHE502 y contactos hidrofóbicos con VAL507, además de una interacción π -catión con LYS519. Este conjunto de interacciones

sugiere una estabilización adecuada del complejo, aunque ligeramente inferior al compuesto 3.

El compuesto 5 presentó la menor afinidad dentro del grupo líder, aunque aún dentro del rango moderado. Sus interacciones están dominadas por enlaces de hidrógeno con TYR415 y ALA61, así como interacciones no covalentes con residuos aromáticos como PHE416 y TYR422. Además, se identificaron interacciones tipo alquilo con MET412 y ALA64, lo que indica una contribución hidrofóbica a la estabilización del complejo. Sin embargo, la menor cantidad y diversidad de interacciones en comparación con los otros compuestos podría explicar su menor afinidad relativa.

En conjunto, los compuestos analizados presentan un patrón común de interacción basado en la combinación de enlaces de hidrógeno, interacciones aromáticas y contactos hidrofóbicos, lo que sugiere que estas características estructurales son determinantes en la afinidad de unión hacia la Patulina sintasa.

Los compuestos con mayor afinidad identificados en este estudio presentan, en su mayoría, características estructurales asociadas a compuestos aromáticos, los cuales son de naturaleza orgánica y sirven como sustrato para el crecimiento de diversos organismos. Además de que cuentan con anillos aromáticos (Xue et al., 2023).

Desde el punto de vista químico, los compuestos aromáticos son caracterizados por su volatilidad y solubilidad en lípidos y disolventes orgánicos. Estas propiedades, junto con su reconocida actividad antifúngica, han favorecido su aplicación en la industria alimentaria como agentes de conservación. En este aspecto, la presencia de estructuras similares en los compuestos evaluados podría contribuir a su capacidad de interacción con la Patulina sintasa, lo que sugiere una posible relación entre su naturaleza química y el potencial inhibitorio observado (Che et al., 2022).

Los 5 compuestos líderes se ubican dentro del grupo de compuestos fenólicos tienen actividad antifúngica. Estos se encuentran dentro de una gran variedad de plantas y existe una gran diversidad de ellos. En general estos son metabolitos secundarios y son solubles en agua y alcohol. De acuerdo a Nazdar et al. (2024) los extractos alcalinos obtenidos a partir de

jengibre, curcuma y tomillo son eficaces para mitigar la toxicidad de AFB1 en células de macrófagos RAW264.7, asimismo se encontró que el extracto de hojas de albahaca dulce (*Ocimum basilicum*) degradaron AFB1 en un porcentaje del 90.4% y AFB2 en un porcentaje de 88,6%. Igualmente el extracto de frijol tepari exhibe un efecto antiaflotoxina debido a ácidos fenólicos que posee como los ácidos 4-hidroxibenzoico y protocatecuico (León et al., 2024).

6-hydroxicumarina también es un metabolito secundario que se ha probado que genera una inhibición dependiente de la dosis (17-81%) en un rango de concentración de 10 μ M a 1 mM y generó una reducción de la producción de la patulina del 60%, en manzanas in vivo a 100 μ g/vuelta (Tragni et al., 2021).

El extracto de soja cuenta con la capacidad de proporcionar actividad micotoxigénica debido a la presencia de ácidos siríngico, *p* -hidroxibenzoico y *p* -cumárico, esto se demostró debido a que la presencia de aflatoxina B1 se detectó en niveles menores (0,96 a 1,67 ng g⁻¹) (Silva et al., 2020).

8.8 Relación con el cofactor FAD

Un hallazgo relevante del estudio fue que ninguno de los compuestos evaluados mostró interacción directa con el cofactor FAD. Esto sugiere que los posibles mecanismos de inhibición no implican una interferencia directa con el proceso redox de la enzima, sino más bien un bloqueo parcial del sitio activo o una inhibición competitiva respecto al sustrato.

Los resultados obtenidos muestran una progresión clara en la estrategia de estudio:

1. Fase exploratoria: identificación de afinidades débiles
2. Optimización del enfoque: selección de criterios estructurales
3. Screening masivo: identificación de compuestos con afinidad moderada

Este comportamiento valida la implementación del cribado virtual como herramienta para la identificación preliminar de posibles inhibidores.

Es importante considerar que los resultados obtenidos corresponden a simulaciones *in silico*, por lo que presentan ciertas limitaciones:

- Las energías de afinidad son estimaciones teóricas
- No se evaluó la dinámica conformacional del sistema
- No se realizaron cálculos de energía libre más precisos
- No existe validación experimental de los compuestos

Por lo tanto, los resultados deben interpretarse como una aproximación inicial en la identificación de candidatos potenciales.

8.9 Evaluación ADME y PASS

Los datos obtenidos acerca de ADME, se realizaron en SwissADME. Este programa para poder evaluar la lipofilicidad, hace uso de un coeficiente de reparto octanol-agua. Esta característica se refiere a la absorción o bioacumulación. La solubilidad en agua hace referencia a la buena absorción y distribución en el cuerpo. La propiedades de absorción se determina en base a un programa predictivo que se llama “BOILED-Egg”, para poder tener una noción de la permeación intestinal y cerebral de las moléculas-inhibidores (Daina et al., 2017).

Tabla 4. Análisis de las propiedades de los compuestos líderes 1 a 5. Obtenido de: SwissADME, 2017.			
Compuesto	Lipofilicidad	Solubilidad	Propiedades de absorción
1	1.52	Si	Alta absorción gastrointestinal.
2	2.23	Moderada	Alta absorción gastrointestinal, permea la barrera hematoencefálica, se une a la enzima CYP1A2 y CYP3A4.
3	2.57	Moderada	Alta absorción gastrointestinal, se une a las enzimas CYP2C9, CYP2D6 y CYP3A4.
4	2.36	Si	Alta absorción gastrointestinal, se une a las enzimas CYP2C9 y CYP2D6.

Tabla 4. Análisis de las propiedades de los compuestos líderes 1 a 5. Obtenido de: SwissADME, 2017.			
5	2.37	Moderada	Alta absorción gastrointestinal, permea la barrera hematoencefálica, se une a las enzimas CYP1A2, CYP2D6 y CYP3A4.

También se evaluaron los compuestos en el programa de Pass para la predicción de su actividad biológica.

Tabla 5. Predicciones de las actividades biológicas de los compuestos líderes 1 a 5, obtenidos a partir del programa Pass.	
Compuesto	Actividad biológica
1	Antiséptico, antiinflamatorio, antiinfecciosa, antifúngico, antibacteriano.
2	Antifúngico.
3	Antifúngico, antimicobacterial, antibacteriano.
4	Antifúngico.
5	Sin actividad biológica de interés.

En la **Tabla 6** se observan las probabilidades de que los compuestos cumplan con las funciones resultantes, si el valor es superior a 0.7, hay más probabilidad de que se cumpla con la función.

Tabla 6. Probabilidades de que los compuestos líderes cumplan con su actividad biológica.				
Compuesto 1				
Antiséptico	Antiinflamatorio	Antiinfeccioso	Antifúngico	Antibacteriano
0.972	0.760	0.716	0.475	0.428
Compuesto 2				
Antifúngico				
0.368				
Compuesto 3				
Antifúngico		Antimicobacterial		Antibacteriano
0.601		0.575		0.442
Compuesto 4				
Antifúngico				
0.351				
Compuesto 5				

Tabla 6. Probabilidades de que los compuestos líderes cumplan con su actividad biológica.
--

Sin actividad biológica de interés.

8.10 Limitaciones del estudio

Es importante señalar que los resultados obtenidos corresponden a simulaciones *in silico*, por lo que presentan ciertas limitaciones. No se evaluó la dinámica conformacional del sistema y no se realizaron cálculos de energía libre más precisos. Aunque las afinidades obtenidas representan estimaciones teóricas, el patrón consistente de interacciones observado entre los compuestos fenólicos y residuos clave del sitio activo sugiere que el enfoque metodológico empleado posee capacidad predictiva para la identificación preliminar de candidatos inhibidores.

Asimismo, no se cuenta con validación experimental de los compuestos, por lo que los resultados deben interpretarse como una etapa inicial en la identificación de candidatos potenciales.

8.11 Integración de resultados

En conjunto, el estudio muestra una progresión clara desde la identificación de compuestos con baja afinidad que fueron los utilizados en la Fase I hasta la selección de candidatos con afinidad moderada observados en la **Tabla 6** mediante cribado virtual.

Los resultados permiten establecer que la afinidad de unión hacia la Patulina sintasa está fuertemente influenciada por la presencia de sistemas aromáticos, grupos funcionales capaces de formar enlaces de hidrógeno y una adecuada complementariedad estructural con el sitio activo.

La limitada disponibilidad de estudios dirigidos específicamente a Patulina sintasa resalta la relevancia exploratoria del presente trabajo. Estos hallazgos proporcionan una base racional para el diseño de nuevos inhibidores con mayor potencial, así como para la realización de estudios experimentales que permitan validar los resultados obtenidos.

9. Conclusión

El presente estudio permitió evaluar, mediante herramientas de modelado molecular y docking computacional, la interacción entre diversos compuestos y la enzima Patulina sintasa de *Penicillium expansum*, identificando tendencias estructurales relevantes (anillos aromáticos, grupos funcionales para formar puentes de hidrógeno, tamaño molecular intermedio, estructuras planas) para el diseño de posibles inhibidores de la biosíntesis de patulina.

El compuesto **1** (2-(2,3-Dihydroxybenzoyl)oxy-4-hydroxybenzoic acid) destacó como el candidato más prometedor, al presentar la mayor afinidad de unión (-7.084 kcal/mol) y un perfil de interacción caracterizado por múltiples puentes de hidrógeno, interacciones π - π y contactos hidrofóbicos con residuos clave del sitio activo. Este patrón de interacción sugiere una adecuada complementariedad estérica y electrónica con la cavidad catalítica, se posicionó como un punto de partida sólido para futuras estrategias de optimización estructural.

A nivel mecanístico, los resultados indican que los compuestos evaluados tienden a interactuar principalmente con residuos del bolsillo catalítico, sin establecer interacción directa con el cofactor FAD. Esto sugiere que el posible mecanismo de inhibición sería de tipo competitivo o de bloqueo estérico del acceso al sitio activo, más que una interferencia directa con los procesos redox de la enzima.

De manera global, el estudio permitió establecer criterios estructurales clave asociados a una mayor afinidad de unión, entre los que destacan: (i) la presencia de sistemas aromáticos capaces de participar en interacciones π - π , (ii) la disponibilidad de grupos funcionales donadores y aceptores de enlaces de hidrógeno, y (iii) un tamaño molecular compatible con la geometría del sitio activo. Estos elementos constituyen una base racional para el diseño de nuevos inhibidores con mayor potencia.

No obstante, es fundamental reconocer que las afinidades obtenidas corresponden a predicciones teóricas derivadas de modelos de docking, por lo que no pueden extrapolarse directamente a actividad biológica real. En este sentido, los resultados deben considerarse como una etapa inicial en el proceso de descubrimiento de inhibidores, requiriendo

validación mediante estudios más avanzados, como dinámica molecular, cálculos de energía libre y ensayos experimentales in vitro.

Finalmente, este trabajo demuestra que el uso de herramientas computacionales constituye una estrategia eficiente y de bajo costo para la identificación preliminar de compuestos bioactivos, contribuyendo al entendimiento de la interacción molecular en sistemas enzimáticos complejos. Asimismo, abre la posibilidad de desarrollar estrategias dirigidas a la inhibición de la biosíntesis de patulina, lo cual tiene implicaciones relevantes en el ámbito de la seguridad alimentaria y la salud pública.

10. Referencias bibliográficas

- Alshannaq, A., & Jae-Hyuk, Y. (2017). Occurrence, toxicity, and analysis of major mycotoxins in food. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **14**(6), Artículo 632. <https://doi.org/10.3390/ijerph14060632>
- Che, J., Pan, F., Chen, X., Zhang, Y., Tao, N. Fu, & Y. (2022). Screening of Oxygenated Aromatic Compounds for Potential Antifungal Activity against *Geotrichum citri-aurantii* through Structure-Activity Relationship Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; **70**(42), Artículo 13787-13795. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c04955>
- Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, **7**, Artículo 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- Deepa, R., Govindamy, S., Sujith Kumar, S., Dhamodhara, P., & Vigneshwaran, L. V. (2026). An overview of molecular docking. *International Journal of Pharmacy and Industrial Research*, **16**(1), 164–173. <https://doi.org/10.61096/ijpir.v16.iss1.2026.164-173>
- Duncan, H., Mercader, J. V., Agulló, C., Sepulcre, M. G., Somovilla, A. A., & Fuentes, A. A. (2021). Chemical strategies for triggering the immune response to the mycotoxin patulin. *Scientific Reports*, **11**, Artículo 23438. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02916-6>

- Errampalli, D. (2014). *Penicillium expansum* (Blue Mold). En S. Bautista-Baños (Ed.), *Postharvest decay* (pp. 189–231). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00006-5>
- Fan, J., Fu, A., & Zhang, L. (2019). Progress in molecular docking. *Quantitative Biology*, 7(2), 83–89. <https://doi.org/10.1007/s40484-019-0172-y>
- Gheorghe, I., Tăpăloagă, D., Tăpăloagă, R., Ilie, I., Șonea, C., & Irimie, S. (2022). Mycotoxins and essential oils—From a meat industry hazard to a possible solution: A brief review. *Foods*, 11(22), Artículo 3666. <https://doi.org/10.3390/foods11223666>
- Hussain, S., Asi, M. R., Iqbal, M., Khalid, N., Hassan, S. W., & Ariño, A. (2020). Patulin mycotoxin in mango and orange fruits, juices, pulps, and jams marketed in Pakistan. *Toxins*, 12(1), Artículo 52. <https://doi.org/10.3390/toxins12010052>
- Index Fungorum. (2025). *Index Fungorum*. The Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.indexfungorum.org>
- Inemesit, A., Gbayo, K., Oloba-Whenu, O., Ogunbayo, T., & Insabor, C. (2021). In silico studies of selected multi-drug targeting against 3CLpro and nsp12 RNA-dependent RNA-polymerase proteins of SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Network Modeling Analysis in Health Informatics and Bioinformatics*, 10(1), Artículo 22. <https://doi.org/10.1007/s13721-021-00299-2>
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2025). PubChem 2025 update. *Nucleic Acids Res.*, 53(D1), D1516–D1525. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae1059>
- León, C., Arce, V., Bogantes, L., Irías, M., Chaves, B., & Viñas, M. (2025). Anti-aflatoxin potential of phenolic compounds from common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Chemistry*, 469, Artículo 142597. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142597>

- Luna-Vazquez, F., Ibarra-Alvarado, C., Camacho-Corona, M., Rojas-Molina, A., Rojas-Molina, J., García, A., & Bah, M. (2018). Vasodilator activity of compounds isolated from plants used in Mexican traditional medicine. *Molecules*, **23**(6), Artículo 1474. <https://doi.org/10.3390/molecules23061474>
- Meneely, J., Greer, B., Kolawole, O., & Elliott, C. (2023). T-2 and HT-2 toxins: Toxicity, occurrence and analysis: A review. *Toxins*, **15**(8), Artículo 481. <https://doi.org/10.3390/toxins15080481>
- Mora, L., Minosvki, N., Caballero, A., Benfenati, E., Wellens, S., Culot, M., Gosselet, F., & Novic, M. (2020). Homology Modeling of the Human P-glycoprotein (ABCB1) and Insights into Ligand Binding through Molecular Docking Studies. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Artículo 4058. <https://doi.org/10.3390/ijms21114058>
- Moreno, H. G., Viay, Q. M. Y., Lara, M. J., Bustamante, P. S., & Márquez, T. M. A. (2015). Detección de patulina en manzana “Golden Delicious” y en productos derivados elaborados industrial y artesanalmente comercializados en México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, **16**(2), 281–286.
- National Center for Biotechnology Information. (2024). *PubChem compound summary for CID 18827, 1-octen-3-ol*. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Octen-3-OL>
- Nazdar, N., Imani, A., Abtahi, F., Farzaneh, M., & Sarvi, M. (2024). Antioxidative properties, phenolic compounds, and in vitro protective efficacy of multi-herbal hydro-alcoholic extracts of ginger, turmeric, and thyme against the toxicity of aflatoxin B1 on mouse macrophage RAW264.7 cell line. *Food Science & Nutrition*, **12**(10), 8013–8029. <https://doi.org/10.1002/fsn3.4257>
- OneAngstrom. (2023). *SAMSON* (Versión 2023.1) [Software de computación]. <https://www.samson-connect.net>
- OpenAI. (2026). *ChatGPT* (versión utilizada) [Modelo de lenguaje de gran escala]. <https://chatgpt.com>

- Silva, B., Souza, M., & Badiale, F. (2020). Antioxidant and antifungal activity of phenolic compounds and their relation to aflatoxin B1 occurrence in soybeans (*Glycine max* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **100**(3), 1256–1264. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10137>
- Tjallinks, G., Boverio, A., Marić, I., Rozeboom, H., Arentshorst, M., Visser, J., Ram, A. F. J., Mattevi, A., & Fraaije, M. W. (2023). Structure elucidation and characterization of patulin synthase: Insights into the formation of a fungal mycotoxin. *The FEBS Journal*, **290**(21), 5114–5126. <https://doi.org/10.1111/febs.16804>
- Tragni, V., Cotugno, P., Grassi, A., Cavalluzzi, M., Mincuzzi, A., Lentini, G., Sanzani, S. M., Ippolito, A., & Pierri, C. L. (2021). Targeting *Penicillium expansum* GMC oxidoreductase with high-affinity small molecules for reducing patulin production. *Biology*, **10**(1), Artículo 21. <https://doi.org/10.3390/biology10010021>
- Xue, S., Li, P., Sun, L., An, L., Q., D., Wang, X., Sun, Z. (2023). The Formation Process and Mechanism of Carbon Dots Prepared from Aromatic Compounds as Precursors: A Review. *Small***2023**, **19**, 2206180. <https://doi.org/10.1002/sml.202206180>
- Zi, Y., Xin, C., Yan, X., Young, H., Gui, Y., Herrera, B., Su, Y., & Laborda, P. (2023). Antifungal and elicitor activities of *p*-hydroxybenzoic acid for the control of aflatoxigenic *Aspergillus flavus* in kiwifruit. *Food Research International*, **173**(Parte 1), Artículo 113331. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113331>

ANEXO 1

Los resultados completos del cribado virtual, organizados por bloques químicos y criterios de afinidad, se presentan en el Anexo

A1.1 Ácidos fenólicos (derivados de ácido cafeico)

ID (CID)	Afinidad (kcal/mol)	Ki (μM)	PM (Da)
----------	---------------------	---------	---------

141417350	-6.457	18.49	220.2
-----------	--------	-------	-------

89404903	-6.379	21.09	270.3
55255958	-6.358	21.85	194.2
42552859	-6.241	26.62	208.2
141306786	-6.127	32.27	222.2

A1.2 Ácidos fenólicos (derivados de ácido rosmarínico)

ID (CID)	Afinidad (kcal/mol)	Ki (μM)	PM (Da)
639655	-6.030	38.01	360.3
5099	-6.018	38.79	360.3
6479915	-5.876	49.30	374.3
25244691	-5.843	52.12	344.3
156024072	-5.322	125.58	360.3

A1.3 Terpenoides y estilbenos

ID (CID)	Afinidad (kcal/mol)	Ki (μM)	PM (Da)
150381818	-5.965	42.42	216.3
146242102	-5.931	44.93	216.3
13436098	-5.837	52.65	156.3
85683153	-5.825	53.73	226.4
15695533	-5.754	60.57	214.3

A2.1 Top 10 compuestos (screening inicial)

ID (CID)	Afinidad (kcal/mol)	Ki (μM)	PM (Da)
6477682	-6.753	11.22	296.3
6477679	-6.626	13.90	280.3
11042902	-6.626	13.90	242.2
5493678	-6.564	15.43	280.3
9900573	-6.441	18.99	288.2
9922266	-6.421	19.65	298.3
22998348	-6.628	13.85	228.2
15703606	-6.527	16.43	286.3
12214328	-6.448	18.77	228.2
15512486	-6.396	20.49	272.3

A2.2 Top compuestos con refinamiento (exhaustiveness = 64)

ID (CID)	Afinidad (kcal/mol)	Ki (μM)	PM (Da)
90754373	-7.084	6.41	290.2
169146921	-6.913	8.56	258.3
6477682	-6.776	10.79	296.3
167437449	-6.760	11.08	298.3
53934628	-6.627	13.87	254.2