



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Ácido lecanórico y su posible actividad biológica mediante estudios *in silico* enfocado en Hipercolesterolemia

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO INDUSTRIAL

P R E S E N T A:

Greta Sabrina Guerrero Leyva

Asesor: *Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano*

Coasesora: *Dra. Ana María Velázquez Sánchez*

Cuautitlán Izcalli, Estado de México. 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN



ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERAMA
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis y Examen Profesional.

Ácido lecanórico y su posible actividad biológica mediante estudios *in silico* enfocado en Hipercolesterolemia.

Que presenta la pasante: Greta Sabrina Guerrero Leyva
Con número de cuenta: 418066845 para obtener el título de: Licenciada en Química Industrial

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de Febrero de 2024.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano</u>	
VOCAL	<u>Q. Mario Arturo Morales Delgado</u>	
SECRETARIO	<u>M.C. Bernardo Francisco Torres</u>	
1er. SUPLENTE	<u>Q. Laura Gómez Anzaldo</u>	
2do. SUPLENTE	<u>L. F. Miguel Ángel Trejo Rodríguez</u>	

NOTA: Los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.
En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, gracias a los proyectos PAPIIT 206023, PIAPI CI2201 y LANCAD-UNAM-DGTIC-034. Gracias a Moisés Hernández y Draucin Jiménez por su asistencia técnica.

DEDICATORIAS

- Para mi madre por enseñarme y guiarme a cada paso en ser la persona que soy. Gracias por apoyarme en todo y darme ánimos cuando las cosas se complicaban, gracias por enseñar a ser fuerte, gracias por animarme en seguir adelante, por ser mi mamá y cuidarme siempre. Te amo mami, tú y mi hermanita son mi motor.
- Para mi hermana la pequeña Tasmania, la que canta y baila por toda la casa, por enseñarme a ser más amorosa y cariñosa. Gracias por animarme cuando más nerviosa estaba y más lo necesitaba, gracias por hacerme reír, gracias por molestarme y ser como eres, aunque seas la más chiquita he aprendido mucho de ti. Te amo tubeamiga, gracias por ser mi hermanita que tanto pedí.
- A mi tía Ruth, gracias por estar para mí en cada momento de mi vida, por apoyarme, guiarme y alentarme para no rendirme por nada. Gracias por todo lo que ha hecho por mí, por el cariño y el amor dado. Te quiero mucho tía.
- A mi tío Ángel y Migue, por estar para mí, por ser mi familia. Gracias por todas las pláticas y los consejos que me han dado. Los quiero.
- A mi tía Dalinda, gracias por estar al pendiente de mi cuando llegue a una ciudad desconocida, gracias por cuidarme, por todos los chocolates que me regalabas, por las historias que me contabas y por aparecerte en mis sueños. Se que desde donde estás, celebras este momento.
- Para mi abuelita Adolfina por transmitir con el ejemplo visto en mi madre, como ser líder y estar al frente ante cualquier adversidad. Gracias por todo lo que me diste en vida.

- A mi Mima gracias por estar cuando los momentos difíciles se presentaban, por ayudarme demasiado cuando lo necesité, gracias por hacerme reír, por sacarme de la mesa cuando más estresada estaba, por darme ánimos cuando los días de la universidad los sentía difíciles, por escucharme y por desvelarnos por esas noches de películas y series. Te quiero mucho mima.
- Para la píldora y los chapulines (Olga, Bere, Carina, Jean, Niab, David y Adrián), gracias por ser las personas que me acobijaron siendo una foránea que no sabía en lugar estaba y me enseñaron muchas cosas que desconocía. Gracias por estar para mí, gracias por las risas, las salidas, por las comidas, las fiestas, por cuidarme cuando salía dopada por tanto disolventes, los abrazos tan fuertes que me dieron, por todos los hermosos momentos, por ser parte esencial en toda esta etapa que culmina y por la que falta por vivir todos juntos. Son mis personas favoritas Los quiero mucho hoy y siempre.
- Para Juanito, Juan Luis, Grecia y Victoria, muchas gracias por su amistad de todos estos años, por escucharme, por ser unas personas maravillosas que se han cruzado en mi vida, por sus consejos, regaños, festejos y por el apoyo en esta aventura. Agradezco tenerlos en mi vida. Los quiero mucho.
- A la Dra. Anita, muchas gracias por creer en mí, por sus palabras que dejó por siempre en mis memorias, agradezco mucho cada enseñanza que dio dentro y fuera de las aulas, por el apoyo que en todo momento me brindó, por cada asesoría y correcciones que hacía. Gracias por ser un ejemplo para mí y por todo lo que ha hecho por cada uno de sus alumnos.

- Al Dr. Enrique Ángeles, gracias por enseñarme el lado bonito de la química, por retarme a adquirir más conocimiento y ver más allá, gracias por darme la oportunidad para ser una mejor profesionalista.
- Para el LQM Pablo, Pablin, Poncho, Victor, Omar, Yoshio, Alex, Eli, Jair, Monica y los Erick's, muchas gracias por todo el apoyo a cada uno de ustedes, por compartir sus conocimientos y enseñármelos, por las risas, por el pan, por la buena música que animaba todo el labo y por aguantar todo el aroma a líquen que dejaba en el laboratorio.
- Para Rodo el mejor amigo que encontré en la universidad, con quién comparto la misma pasión por los libros y por la química, aunque en diferentes áreas, gracias por levantarme, por animarme, por permitirme estar en tú vida y compartirla contigo. Gracias por ser como eres y por crecer juntos para ser mejores personas, gracias por intentar consentirme, mimarme e iluminar mi vida, Te amo mucho Bartolo.

ÍNDICE

ÍNDICE.....	2
ÍNDICE DE IMÁGENES	4
ÍNDICE DE TABLAS	5
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	6
I. INTRODUCCIÓN	7
II. ANTECEDENTES	8
2.1 Hipercolesterolemia.....	8
2.1.1 Colesterol.....	9
2.1.2 Lipoproteínas	10
2.1.3 Estatinas.....	11
2.1.4 Atorvastatina	12
2.2 Liquen.....	13
2.2.1 Localización o Distribución Geográfica de los Líquenes	14
2.2.2 Morfología y Anatomía del Talo	15
2.3 Sustancias liquénicas.....	16
2.3.1 Ácido lecanórico	17
2.4 Métodos generales de extracción.....	18
2.5 Métodos de purificación y separación.....	18
2.6 Estudios <i>in silico</i>	20
2.7 PASS (Prediction of Activity Spectra for Biologically Active Substances).....	21
2.8 Consenso de Proteínas.....	22
2.9 Acoplamiento Molecular (Docking)	23
2.10 Molecular Operating Environment (MOE).....	23
2.11 Diagrama de Ramachandran.....	23
2.12 Dinámica Molecular	25
2.12.1 Root Mean Square Derivation (RMSD).....	25
2.12.2 Root Mean Square Fluctuation (RMSF).....	26
2.12.3 Radio de Giro	27
III. JUSTIFICACIÓN.....	28
IV. OBJETIVOS	29
V. METODOLOGÍA.....	30
5.2 Metodología Experimental	30
5.3 Estudios <i>in silico</i> del Ácido lecanórico.....	31
VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	32

VII.	CONCLUSIONES	49
VIII.	PERSPECTIVAS	50
IX.	REFERENCIAS	51
X.	ANEXOS.....	54

ÍNDICE DE IMÁGENES

Figura 1. Estructura de la enzima hidroximetil glutaril-coenzima A.....	8
Figura 2. Estructura química del Colesterol.....	9
Figura 3. Imagen modificada. Estructura de la lipoproteína ⁹	10
Figura 4. Mecanismo de acción de las estatinas: la inhibición de la enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A) reductasa bloquea la producción de mevalonato, precursor del colesterol ¹²	11
Figura 5. Estructura de la Atorvastatina	12
Figura 6. Líquen en la corteza de un árbol.	13
Figura 7. Especies de líquenes conocidas en la República Mexicana, tomando en cuenta 1424 especies únicamente ¹⁶	14
Figura 8. Estructura del Ácido lecanórico	17
Figura 9. Ejemplo de consenso de proteínas.....	22
Figura 10. Imagen modificada de un ejemplo representativo del Diagrama de Ramachandran ⁴⁰	24
Figura 11. Ejemplo de gráfico de RMSD (nm) con respecto al tiempo (ps) ⁴¹	26
Figura 12. Ejemplo de gráfico de RMSF (Å) con respecto al número de átomos que fluctúan ⁴²	26
Figura 13. Ejemplo de gráfico de Radio de giro (nm) con respecto al Tiempo en (ps) ⁴²	27
Figura 14. Compuesto sólido de Ácido Lecanórico color café claro, extraído por medio de la maceración.	32
Figura 15. Compuesto sólido desconocido nacarado, extraído por medio del proceso de digestión con un rendimiento de 1.21%	33
Figura 16. IR Ácido lecanórico	34
Figura 17. IR Compuesto Desconocido.....	35
Figura 18. Posible estructura del Compuesto Desconocido.....	36
Figura 19. Alineación y superposición de las proteínas (imagen generada en MOE).	38
Figura 20. Diagrama de Ramachadran de la proteína 1HWK generada en MOE.....	40
Figura 21. Selección del sitio activo, por medio del SiteFinder en el software MOE.....	41
Figura 22. Cluster de le las interacciones de las conformaciones del ligando en el sitio activo.	42
Figura 23. PLIF de los aminoácidos que interacción con el ácido lecanórico en la HMG-Coa Reductasa.....	43
Figura 24. Interacción de los aminoácidos de HMG-Coa reductasa con el ácido lecanórico.....	44
Figura 25. Demostración de la dinámica molecular de la HMG-CoA reductasa con el ácido lecanórico.....	45
Figura 26. RMSD de los resultados obtenidos de la HMG CoA reductasa con Ácido lecanórico, Atorvastatina y sin ningún ligando.....	46
Figura 27. RMSF de HMG-CoA reductasa con Ácido lecanórico y Atorvastatina	47
Figura 28. Radio de Giro de HMG-CoA reductasa con Ácido lecanórico y Atorvastatina.	48
Figura 29. Diagrama de Ramachadran de las proteínas analizadas de HMG CoA reductasa.....	54
Figura 30. RMN H ¹ del Ácido Lecanórico	55

Figura 31. RMN ¹ H del Compuesto Desconocido.	56
Figura 32. RMN ¹³ C del Compuesto Desconocido	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las Estatinas de acuerdo con su origen.	11
Tabla 2. Cuadro comparativo de formas de crecimiento de líquenes.	15
Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del Ácido lecanórico ²¹	17
Tabla 4. Métodos generales de extracción.....	18
Tabla 5. Tipos de métodos de purificación y separación.	19
Tabla 6. Características de los compuestos obtenidos experimentalmente.....	33
Tabla 7. Resultados de RMN 1H para el Ácido Lecanorico.....	34
Tabla 8. Resultados de RMN del Compuesto Desconocido.....	35
Tabla 9. Resultados obtenidos mediante al programa PASS.....	37
Tabla 10. Selección de estructuras proteicas para analizar.	38
Tabla 11. Comparación del RMSD entre las proteínas HMG-CoA reductasa encontradas en PDB.	39
Tabla 12. Valores atípicos de Residuos en la proteína 1HWK generado en MOE.....	40
Tabla 13. Energías de interacción entre el Ácido lecanórico y la Atorvastatina	44

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

Å: Ångstrom.

HC: Hipercolesterolemia.

HDL: lipoproteínas de alta densidad (Por sus siglas en inglés).

HMG-CoA: Hidroximetilglutaril Coenzima A.

ILD: lipoproteínas de densidad intermedia (Por sus siglas en inglés).

IR: Infrarrojo.

LDL: lipoproteínas de baja densidad (Por sus siglas en inglés).

NAMD: Dinámica Molecular a Nanoescala (Por sus siglas en inglés).

nm: Nanómetros.

ns: Nanosegundos.

PDB: Banco de Proteínas (Por sus siglas en inglés).

PLIF: Patrones de Interacción Proteína-Ligando (Por sus siglas en inglés).

ps: Picosegundos.

Rg: Radio de giro.

RMN: Resonancia Magnética Nuclear.

RMSD: Desviación Cuadrática Media de las Posiciones Atómicas (Por sus siglas en inglés).

RMSF: Fluctuación Cuadrática media (Por sus siglas en inglés).

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad (Por sus siglas en inglés).

VMD: Dinámica Molecular Visual (Por sus siglas en inglés).

I. INTRODUCCIÓN

El presente estudio tiene como objetivo investigar los beneficios y la utilidad del ácido lecanórico presente en la mayor parte de las especies de liquen el cual, es considerado un organismo estable en varios ecosistemas terrestres en el mundo¹. Las actividades biológicas de los metabolitos secundarios del liquen se confirmaron en varios estudios, como la acción antiviral, antibacteriana, antitumoral, antioxidante, antipirética y analgésica o fotoprotectora².

El ácido lecanórico es un metabolito secundario que muestra una posible polifarmacológica en diversos padecimientos de importancia clínica como lo es para el desarrollo de fibrinolíticos, antiinflamatorios, inhibidor de síntesis de colesterol y regulador del metabolismo de los lípidos.

Dicho lo anterior, se pretende extraer el ácido lecanórico a partir de liquen (*Parmelia flaventior*), para su caracterización e investigación, en conjunto a la realización de ensayos *in silico* que ayuden a hacer una aproximación viable de la acción farmacológica como inhibidor de la síntesis de colesterol.

La importancia de esto se debe a que en México los padecimientos causados por llevar una mala alimentación⁴⁵ o de origen hereditario han sido responsables del incremento de casos de infartos tanto en mujeres como en hombres adultos. Unido a esto, los niveles altos de colesterol malo en la sangre facilitan que diversas enfermedades se desarrollen como lo es la hipercolesterolemia, que en relación con las enfermedades cardiovasculares contribuyeron en México en el 2018 a 143 916 muertes, presentando una alta incidencia entre la población que fallece a partir de los 35 años y las cifras van aumentando cada año, por lo que estas enfermedades representan en nuestro país un problema de salud pública³.

II. ANTECEDENTES

2.1 Hipercolesterolemia

Se conoce como hipercolesterolemia al aumento del nivel de colesterol que se encuentra presente en la sangre, esto conduce a que se generen complicaciones posteriormente si la persona que lo padece no tiene un control o no se realiza los estudios sanguíneos preventivos para detectarlo.

Los niveles de colesterol total se pueden clasificar de la siguiente manera⁴:

- Deseables: < 200 mg/dL.
- Límite alto: 200-239 mg/dL.
- Alto: \geq 240 mg/dL.

Se ha escuchado en diversas ocasiones en medios, la gran preocupación en los altos niveles de colesterol en el cuerpo humano, ya que cuando estos niveles sobrepasan los niveles normales, no tienden a presentar algún síntoma. La enzima hidroximetil glutaril-coenzima A (ver figura 1) representa un paso limitante en la biosíntesis del colesterol, ya que convierte la HMG-CoA en mevalonato⁵ siendo parte fundamental para el desarrollo de medicamentos que inhiben esta enzima para ayudar a reducir el colesterol.



Figura 1. Estructura de la enzima hidroximetil glutaril-coenzima A.

De acuerdo con la OMS las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Se calcula que en 2015 murieron por esta causa 17,7 millones de personas, lo cual representa un 31% de todas las muertes registradas en el mundo⁶.

En México, durante los últimos años, las cifras de personas que sufren niveles de colesterol alto se han incrementado; en el 2018, en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición se reportó una prevalencia del 19.5% en personas mayores de 20 años, incrementándose hasta un 28% en pacientes de 50 a 79 años³.

2.1.1 Colesterol

El colesterol es una sustancia presente en el cuerpo que, por tener un carácter hidrofóbico en sangre es transportado cuando se encuentra unido a las lipoproteínas⁷ (se puede observar su estructura en la figura 2). Esta sustancia es importante para la digestión de las grasas, las hormonas dentro del sistema tiroideo y las membranas celulares⁵, el colesterol es precursor de lipoproteínas, sales biliares y vitamina D.

Las dos fuentes principales de colesterol en el organismo son: la fuente exógena, que es obtenida por su consumo en la dieta y la fuente endógena, en el que casi todas las células del organismo tienen la capacidad de sintetizar el colesterol, principalmente por las del hígado⁴. Sin embargo, entendemos que la presencia del colesterol es de vital importancia, pero el tener un exceso ya es considerado como un riesgo para la salud.

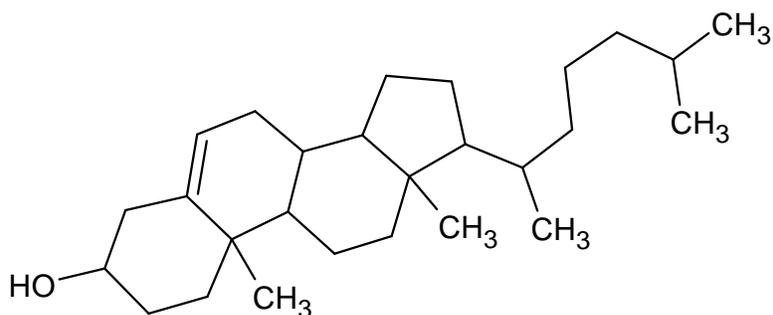


Figura 2. Estructura química del Colesterol

2.1.2 Lipoproteínas

Son complejos de lípidos y proteínas específicas, que se denominan también como apolipoproteínas, que tienen como función el transporte de lípidos en un medio acuoso como es la sangre. Las apolipoproteínas (apo) son proteínas que tienen la capacidad de solubilizar los lípidos en la sangre. Las lipoproteínas son esféricas como se puede ver en la figura 3; en el núcleo se encuentran los lípidos más hidrófobos (ésteres de colesterol y triglicéridos), mientras que forman parte de la corteza los dominios más polares de los fosfolípidos y el colesterol no esterificado, además de los dominios más polares de las apolipoproteínas⁸.

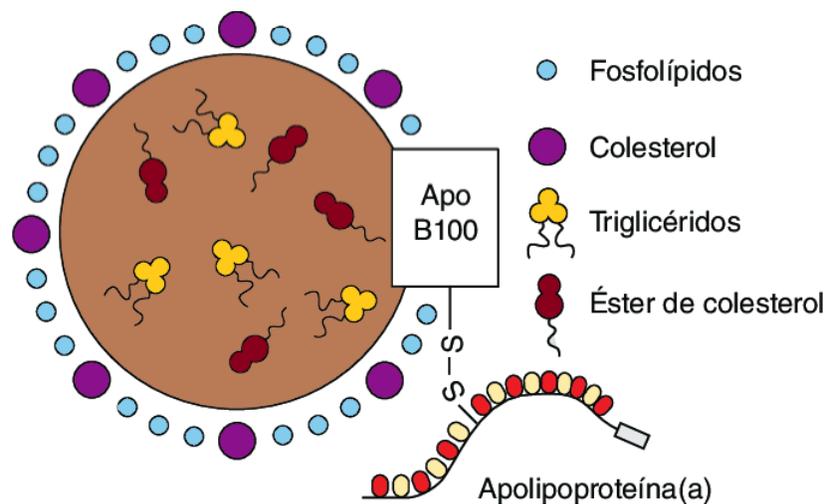


Figura 3. Imagen modificada. Estructura de la lipoproteína⁹.

Las lipoproteínas son partículas heterogéneas que se pueden clasificar según sus propiedades físicas en cuatro categorías diferentes⁴, en función de su densidad que viene en buena parte condicionada por su tamaño y por su relación lípido-proteína. Así, las lipoproteínas menos densas son las más grandes y con mayor contenido en lípidos⁸:

- **Quilomicrones** (<1,000 g/ml)
- **VLDL. Lipoproteínas de muy baja densidad** Partículas grandes poco densas (<1,006 g/ml)
- **LDL: Lipoproteínas de baja densidad** (1,019 g/ml-1,063 g/ml)
- **IDL. Lipoproteínas de densidad intermedia** (1,006 g/ml-1,019 g/ml)
- **HDL. Lipoproteínas de alta densidad** (1,063 g/ml-1,210 g/ml)

2.1.3 Estatinas

Para tratar con los niveles de colesterol alto se busca darle al paciente un tratamiento adecuado, es por lo que comúnmente se recurre a unos inhibidores llamados estatinas¹⁰, que son inhibidores competitivos de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A (HMG-Co A) reductasa (ver Figura 4), una enzima implicada en la síntesis del colesterol, especialmente en el hígado. Son más efectivas que otros tipos de medicamentos reduciendo el colesterol-LDL¹¹.

Se pueden clasificar de acuerdo con su origen:

Sintéticos	Naturales
Fluvastatina	Pravastatina
Atorvastatina	Mevastatina
Rosuvastatina	Lovastatina
-	Simvastatina

Tabla 1. Clasificación de las Estatinas de acuerdo con su origen.

Además de su principal mecanismo de acción, también hay evidencia de que poseen otras propiedades, más allá de la reducción del colesterol-LDL, que podrían ser útiles tanto en la prevención y el tratamiento de la enfermedad aterosclerótica, su diana biológica fundamental, como en otras afecciones pueden tener una serie de efectos extralipídicos o pleotrópicos. Entre ellos destacan la mejoría de la función endotelial y las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antitrombótica¹².

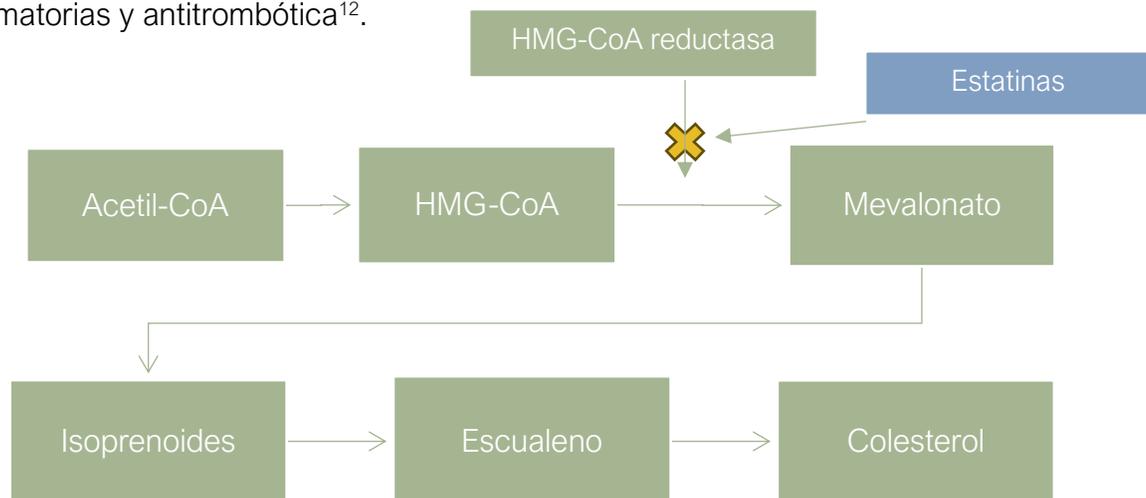


Figura 4. Mecanismo de acción de las estatinas: la inhibición de la enzima HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A) reductasa bloquea la producción de mevalonato, precursor del colesterol¹².

2.1.4 Atorvastatina

La atorvastatina pertenece al grupo de medicamentos llamados inhibidores de la enzima hidroximetil glutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa o estatinas (ver figura 5). Está indicada para reducir el colesterol total, el colesterol LDL, la apoproteína B y los triglicéridos en pacientes con hipercolesterolemia primaria, incluyendo hipercolesterolemia familiar, cuando la respuesta obtenida con dieta no ha sido adecuada para reducir los niveles de colesterol¹³. La atorvastatina reduce las concentraciones plasmáticas de colesterol y de lipoproteínas inhibiendo la HMG-Co A reductasa en el hígado, demostrándose una reducción de sus concentraciones de colesterol total en un 30-46%, de colesterol¹³.

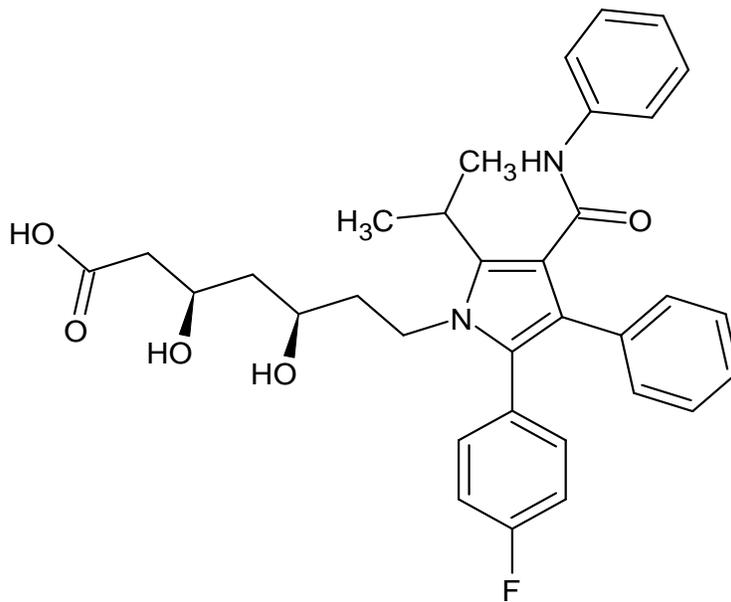


Figura 5. Estructura de la Atorvastatina

2.2 Líquen

Los líquenes están formados por la simbiosis de un hongo filamentoso y un alga (clorofita o cianobacteria), en la cual teniendo en cuenta la asociación de estos microorganismos cada uno recibe un nombre de acuerdo con el papel que desempeña¹⁴.

El hongo recibe el nombre de micobionte, el cual se encarga de proteger al alga de las radiaciones que recibe del sol, además de proporcionarle agua y sales minerales (figura 6). Por otra parte, el alga o bien conocido como el componente fotobionte, realiza la fotosíntesis y proporciona al hongo alimento y vitaminas. Los líquenes aprovechan la capacidad del fotobionte de sintetizar hidratos de carbono para su desarrollo y la producción de metabolitos secundarios conocidos como sustancias o metabolitos liquénicos¹⁴.



Figura 6. Líquen en la corteza de un árbol.

Debido a su sensibilidad a cambios abruptos en sus hábitats, así como a la contaminación atmosférica, los líquenes se emplean en el monitoreo de contaminación ambiental. Asimismo, también se ocupan como indicadores de bosques con altos valores de conservación y para la identificación y mapeo de sitios críticos de biodiversidad¹⁵.

2.2.1 Localización o Distribución Geográfica de los Líquenes

El estudio de la liquenología en México es considerado por muchos muy reciente, dado que todavía se desconoce la cantidad de especies que existen en el país y solo se tiene un número aproximado. Se estima, por ejemplo, que sólo en la porción tropical del país puede haber 3,600 especies que es la mitad de las calculadas para todo el neotrópico. Si se toma en cuenta que México es también diverso en climas y tipos de vegetación no tropicales, el número de especies de líquenes quizás alcance las 5000¹⁶, se puede ver en la Figura 7, las especies conocidas en México.

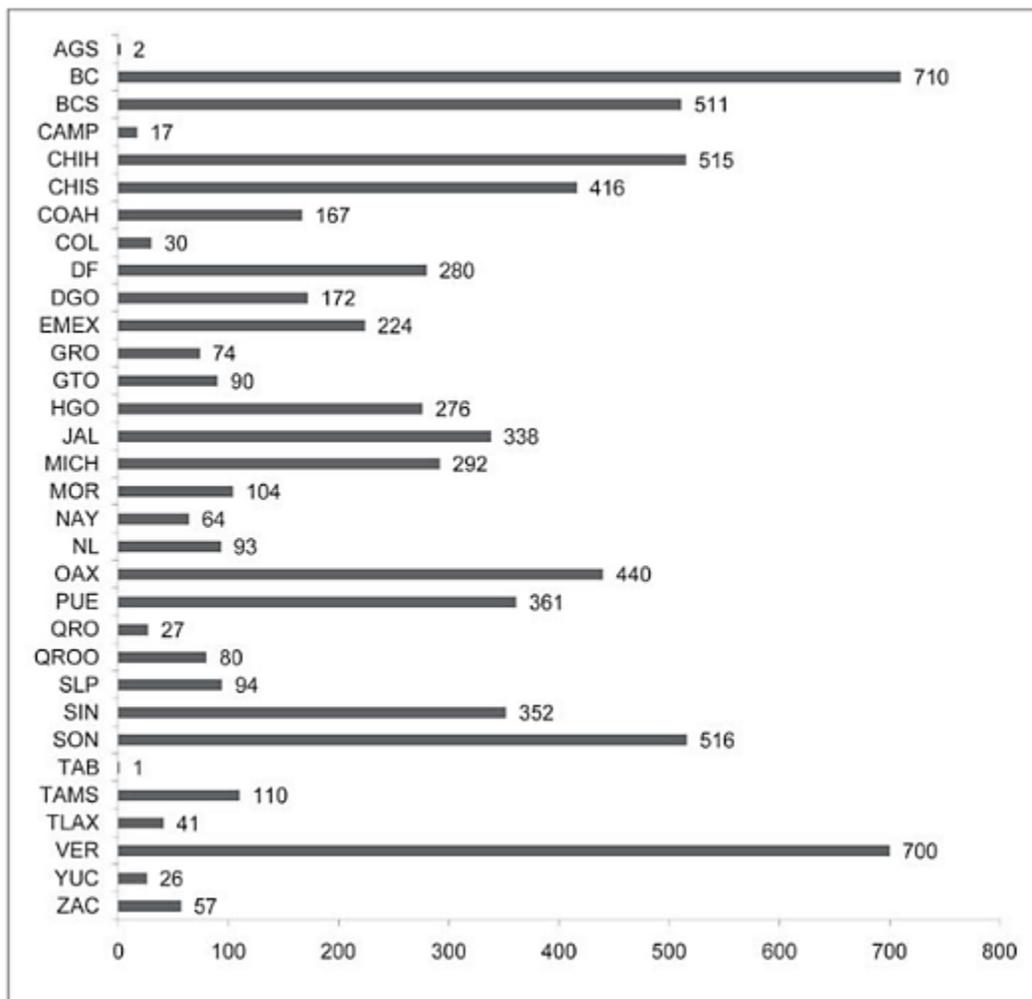


Figura 7. Especies de líquenes conocidas en la República Mexicana, tomando en cuenta 1424 especies únicamente¹⁶.

2.2.2 Morfología y Anatomía del Talo

La simbiosis es ampliamente aceptada como una fuente de innovación evolutiva en la que dos organismos se benefician. La morfología y anatomía de los líquenes son muy adaptadas a las restricciones impuestas por el medio ambiente a la simbiosis mutualista¹⁷. La forma del talo de liquen lo determina principalmente por el hongo¹⁷.

2.2.2.1 Formas de crecimiento de los líquenes

Los líquenes se encuentran en cuatro formas de crecimiento: crustáceos, foliosos, fruticulosos y escuamuloso, descritas en la tabla 2. Estas formas representan esencialmente diferentes hifas fúngicas que constituye la mayor parte del talo del liquen¹⁸.

Forma de crecimiento	Lugares de crecimiento	Descripción
Crustosa o crustáceos	Aparece en superficies de muchos tipos de sustratos diferentes en lo que se incluye rocas, madera, suelo, vidrio, tejas, pavimento y corteza de los árboles, donde usualmente están adheridos ¹⁸ .	En la mayoría de los líquenes, la superficie superior del talo está formada por hifas densamente agregadas, tienen paredes gruesas y muy gelatinizadas formando una capa protectora conocida como corteza superior. Los pigmentos son importantes para el fotobionte ya que reduce los niveles de radiación solar que llegan al interior del talo, ya que las células de las algas pueden dañarse al estar expuestas a demasiada luz ¹⁸ .
Foliosa o foliáceo	Algunos tipos de líquenes foliosos se adhieren a sus sustratos más o menos en el centro del sustrato en la parte inferior de la corteza. Esta forma de fijación recuerda en cierto modo a un cordón umbilical. Existe otro tipo de adherencia en la que carecen de corteza inferior, y el talo está adherido directamente al sustrato en el que se encuentra mediante hifas procedentes de la médula ¹⁸ .	Los líquenes foliosos tienen forma de hoja, son planos y sólo están parcialmente adheridos al sustrato ¹⁷ .
Fruticulosa	Están unidos a su sustrato por uno o varios puntos ¹⁵ . Siempre sobresalen de la superficie de la superficie del sustrato. Los líquenes fruticulosos se encuentran en una amplia gama de climas, desde el desierto hasta la selva húmeda y en varios tipos de sustratos ¹⁷ .	El talo de un liquen fruticuloso es una estructura tridimensional. Existen muchas formas diferentes, desde relativamente sencillas, con forma de pelo o de dedo, hasta otras con forma de tira o intrincadamente ramificados ¹⁸ .
Escuamulo	El talo de estos líquenes parece estar formado por numerosas escamas pequeñas que suelen estar parcialmente libres del sustrato en el que se encuentran ¹⁸ .	Particularmente son comunes en el suelo, pero también pueden encontrarse en otros sustratos como troncos vivos y muertos ¹⁸ .

Tabla 2. Cuadro comparativo de formas de crecimiento de líquenes.

2.3 Sustancias liquénicas

Las condiciones en las cuales viven los líquenes son la razón de la producción de muchos metabolitos que proporcionan una buena protección contra diversas influencias físicas y biológicas negativas. Los metabolitos sintetizados por los líquenes se dividen en dos grupos¹⁹:

- Primarios (Intracelulares): Incluyen proteínas, aminoácidos, carotenoides, polisacáridos y vitaminas.
- Secundarios:

La mayoría de los compuestos orgánicos que se encuentran en los líquenes son metabolitos secundarios. Se conocen más de 700 metabolitos secundarios de los líquenes, la mayoría de los cuales son exclusivos de estos organismos¹⁹.

Cuando están formados, los metabolitos secundarios de los líquenes parecen ser extremadamente estables y la producción del compuesto puede fluctuar con los cambios de temperatura. Una de las principales funciones es proteger de los niveles de luz, especialmente en el rango ultravioleta¹⁹.

Los líquenes y otros productos naturales siguen siendo una reserva sin explotar de compuestos químicos potencialmente útiles no sólo como fármacos; más del 50 % de todos los medicamentos modernos son de origen natural, y los productos naturales desempeñan un papel importante en los programas de desarrollo de fármacos de la industria farmacéutica¹⁹.

Las sustancias secundarias de los líquenes presentan una enorme gama de actividades farmacéuticas notables y que estas importantes propiedades de las sustancias de los líquenes las convierten en posibles productos farmacéuticos. Los líquenes y sus metabolitos secundarios presentan muchas funciones biológicas como: antimicrobianos, antioxidantes, antivirales, anticancerosas, antígenotóxicos, antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos¹⁹.

2.3.1 Ácido lecanórico

El ácido lecanórico es un dépsido (figura 8), los cuales son compuestos polifenólicos formados por dos o más unidades aromáticas monocíclicas unidas por un enlace éster. Los más comunes son productos de esterificación intermolecular de unidades similares o idénticas²⁰.

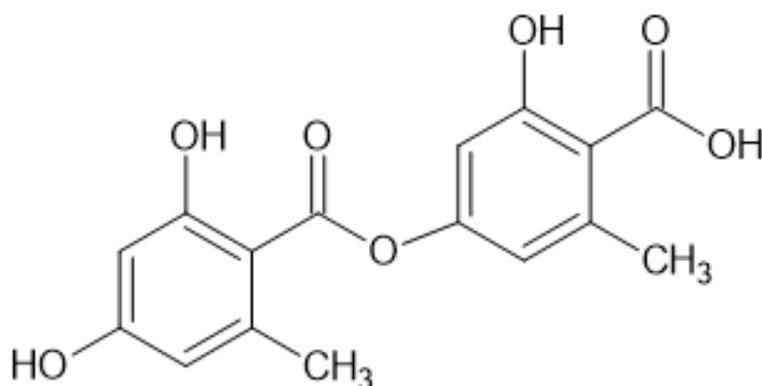


Figura 8. Estructura del Ácido lecanórico

En la tabla 3 podemos observar las propiedades fisicoquímicas del ácido lecanórico.

Propiedades	
Peso molecular	318.28 g/mol
Punto de fusión experimental	176°C
Punto de ebullición	557.1 +/- 50.0°C
Presión	760 Torr
Densidad	1.492 a 20 °C
pKa	2.57 +/- 0.25
Solubilidad	Acetona y Metanol

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del Ácido lecanórico²¹.

2.4 Métodos generales de extracción

Para la obtención de principios activos del material vegetal es importante que se considere el método de extracción pertinente para tener el mayor rendimiento posible con el cual sea posible trabajar, para ser considerado rentable y reproducible.

Teniendo conocimiento del material vegetal con el cual se trabajará, se busca un método extractivo adecuado para aislar el principio activo. Dentro de la gran variedad de métodos que se emplean podemos encontrar los más utilizados en la tabla 4²²:

Método de extracción	Definición	Tipos
Extracción mecánica	En esta técnica los principios activos están disueltos en los propios fluidos de la planta.	Expresión, Calor e Incisiones
Extracción por destilación	La técnica se basa en la diferencia de volatilidad de los componentes que tiene el principio activo o material vegetal, permitiendo la separación de componentes ²² .	Por arrastre de vapor, simple, fraccionada y al vacío.
Extracción por disolventes	El proceso consiste en que la droga vegetal tiene que estar en contacto con el disolvente en el cual el principio activo deseado sea soluble ²² .	Discontinuas Maceración, Digestión, Infusión y Decocción
		Continuas Percolación y Soxhlet

Tabla 4. Métodos generales de extracción.

2.5 Métodos de purificación y separación

La purificación y aislamiento de los principios activos se pueden llevar a cabo por métodos fisicoquímicos o por métodos cromatográficos²² como se muestran en la tabla 5, siendo los métodos fisicoquímicos el modo directo de hacerlo, ya que estos métodos incluyen toda una serie de operaciones como la sedimentación, decantación, centrifugación, filtración, cristalización, extracción, etc.

Por otra parte, los métodos cromatográficos la separación de mezclas (algunas veces mezclas muy complejas de multicomponentes) se logra por exposición de la mezcla a un sistema bifásico que se deja llegar a equilibrio²².

MÉTODO	TIPO	DESCRIPCIÓN DEL TIPO DE MÉTODO
Fisicoquímico	Filtración	Se usa para retirar componentes sólidos presentes en líquidos o soluciones.
	Decantación	La decantación consiste en una separación por densidad.
	Cristalización	La cristalización es usualmente el mejor método para la purificación de un sólido ²² . En este proceso, las moléculas se van uniendo de manera ordenada en una red cristalina.
Cromatográficos	Capa fina	Este método es utilizado en la separación de mezclas de toda clase de productos naturales y está reconocido como técnica analítica importante ²⁵ en ciertas condiciones de separación, elegidas en función de las características de la mezcla que se necesita separar ²⁶ .
	Columna	Consiste en colocar una muestra en una columna cilíndrica que contiene una fase estacionaria sólida, permitiendo que su fase móvil líquida sea contenida en la columna mientras fluye a través de ella por medio de la gravedad o presión aplicada en la parte superior del disolvente ²⁵ .
	Flash	Consiste en desarrollar una columna cromatográfica mediante la aplicación de una presión en la parte superior o inferior de la columna con objeto de acortar los tiempos de separación, para evitar la alteración de los compuestos ²³ .

Tabla 5. Tipos de métodos de purificación y separación.

2.6 Estudios *in silico*

Los estudios *in silico* son aquellos que tienen por objetivo realizar simulaciones utilizando métodos computacionales mediante el procesamiento de datos²⁷.

Cuando nos encontramos con nuevos compuestos extraídos de productos naturales o sintetizados experimentalmente, de los cuales se desconoce su actividad biológica, enfrentamos un mundo de posibilidades para encontrar el uso adecuado de ellos. Particularmente cuando se intenta determinar si sería candidato para un posible fármaco o actividad biológica.

Actualmente la química computacional nos ha ayudado a predecir si ciertos compuestos son compatibles con blancos biológicos determinados o si es un compuesto viable para realizarle más estudios en un futuro. Tal como se menciona en el libro *Introducción a la química computacional*, dentro la gran diversidad de definiciones sobre la química computacional, la que mejor puede identificarse en esta investigación es:

“la química computacional pretende brindar tanto técnicas operacionales para resolver los formalismos de los modelos teóricos como probar su validez mediante la comparación simultánea con los datos experimentales”²⁶.

Por otra parte, los diferentes softwares que existen actualmente nos pueden ayudar a determinar qué tan buena es la interacción de las macromoléculas con los nuevos ligandos (compuestos), complementando la investigación enfocada hacia algún padecimiento y pueda ser escalado a pruebas *in vitro* e *in vivo*.

Todos los métodos mencionados tienen como propósito realizar un estudio de compuestos para mejorar su afinidad y selectividad hacia un objetivo farmacológico específico. O bien se pueden utilizar para estimar las propiedades fisicoquímicas y biológicas, como la solubilidad, biodisponibilidad o la toxicidad²⁷.

2.7 PASS (Prediction of Activity Spectra for Biologically Active Substances)

El software PASS (por su traducción en español como Predicción de Espectros de Actividad para Sustancias) predice más de 300 efectos farmacológicos y mecanismos bioquímicos sobre la base de la fórmula estructural de una sustancia y presenta los resultados de la predicción como una lista de tipos de actividades, con las probabilidades de presencia (P_a) y ausencia (P_i)²⁸.

Este recurso está diseñado para la predicción de las actividades biológicas (más de 4.000 tipos) de compuestos orgánicos, con una precisión promedio superior al 95% de acuerdo con la investigación realizada por Filimonov D & Poroikov. La predicción se basa en un análisis de las relaciones estructura-actividad, que contiene información sobre la estructura y actividad biológica de más de 300.000 compuestos orgánicos²⁹.

Para la interpretación de los resultados obtenidos, los valores que nos da el software se pueden interpretar de la siguiente manera:

→ Si $P_a > 0.7$, es muy probable que la sustancia muestre la actividad en el experimento, pero la probabilidad de que la sustancia sea el análogo de un agente farmacéutico conocido también es alta³⁰.

→ Si $0.5 < P_a < 0.7$, es probable que la sustancia muestre la actividad en el experimento, pero la probabilidad de que sea un análogo de un agente farmacéutico conocido también es alta. Significa que la actividad en el experimento es grande, pero la probabilidad de que la sustancia sea análogo de los agentes farmacéuticos conocidos es menor³⁰.

→ Si $P_a < 0.5$, es poco probable que la sustancia muestre la actividad en el experimento. Sin embargo, si la presencia de esta actividad se confirma en el experimento, la sustancia podría ser una nueva entidad química³⁰.

2.8 Consenso de Proteínas

Es el análisis de un conjunto de estructuras proteicas, tratándose de la superposición de varias proteínas para observar las similitudes en las secuencias de aminoácidos de dos o más proteínas. A partir de estos hallazgos es posible determinar si existe una semejanza significativa entre los aminoácidos de las proteínas cuando se están realizando una comparación³¹.

La coincidencia máxima se puede definir como el mayor número de aminoácidos de una proteína que se puede emparejar con los de otra proteína al tiempo que permite todas las eliminaciones posibles³¹, esto puede evaluarse con los valores obtenidos del RMSD al momento de realizar un alineamiento y superposición de las proteínas (como se puede ver en la figura 9) en las que se está realizando una comparación. Si la proteína tiene un valor menor a 4 Å, se considera que las proteínas son similares, si estos valores son mayores a 4 Å, ya se puede comenzar a considerar que tienen ciertas diferencias.

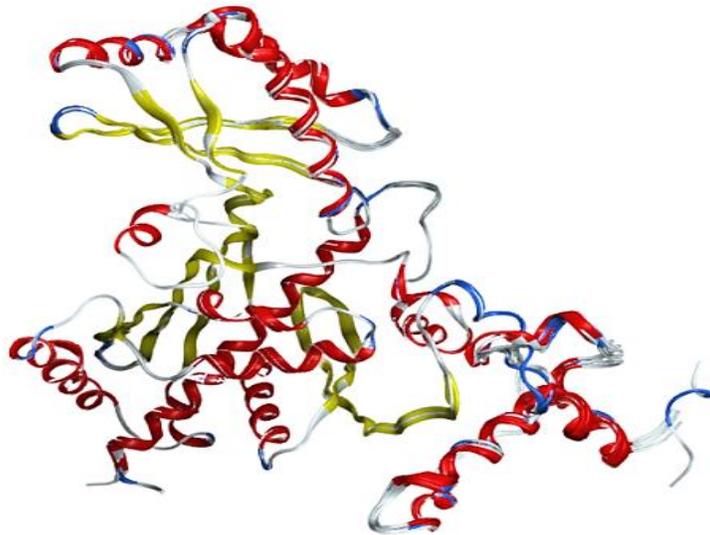


Figura 9. Ejemplo de consenso de proteínas

2.9 Acoplamiento Molecular (Docking)

El acoplamiento molecular es un método bioinformático que permite predecir y calcular computacionalmente la posición más favorable de interacción entre un ligando y un blanco (usualmente proteico) a partir de sus representaciones tridimensionales³².

Los ligandos son un amplio grupo de: macromoléculas, moléculas pequeñas de diferente naturaleza, desde hormonas, neurotransmisores, fármacos o compuestos aislados a partir de diferentes fuentes naturales (como los alcaloides presentes en extractos de plantas) y ligandos inorgánicos. Mientras que, los blancos terapéuticos son generalmente moléculas grandes como ácidos nucleicos (DNA/RNA) o proteínas. De esta forma, un ligando que se une a su blanco correspondiente puede tener una actividad biológica de inhibición o activación³².

2.10 Molecular Operating Environment (MOE)

Es un software de paga en el que se requiere una licencia para su uso. Es de utilidad en la investigación de nuevos fármacos, siendo un programa que integra la visualización, preparación, acoplamiento y simulación molecular, facilitando el desarrollo y diseño de nuevas moléculas, permitiendo su estudio de acuerdo con el enfoque que sea de interés.

Para este proyecto fue indispensable el uso del programa, para conocer la actividad biológica entre el ligando obtenido a partir del líquen y la proteína de interés relacionada con la hipercolesterolemia. No obstante, el estudio resulta de apoyo para obtener un análisis y determinar si podría funcionar como el principio activo de un nuevo fármaco, observando su representación en 3D junto con las interacciones en el moldeado molecular.

2.11 Diagrama de Ramachandran

Hablando desde el punto de vista teórico, el “Diagrama de Ramachandran inicio para poder explicar la conformación de los aminoácidos estableciendo reglas muy lógicas de atracción y repulsión interatómicas en un mapa simple³³.

La conformación de la estructura secundaria de una proteína puede expresarse en función de algunos ángulos en su columna vertebral expresados en pares (ϕ , ψ) que pueden representarse en un gráfico tipo Ramachandran para facilitar su interpretación³³. El ángulo Phi (ϕ) está constituido por los enlaces C-N-C α -C (C es parte del carbonilo) y C α -C, y el ángulo Psi (ψ) está definido por los átomos en los enlaces N-C α -C-N³⁴.

Por lo que, el diagrama de Ramachandran es una representación de la distribución de los ángulos de torsión en la estructura de una proteína y cómo influye en su función biológica. Existen mayoritariamente dos zonas de ángulos ϕ y ψ permitidos, ambas con valores negativos del ángulo ϕ , y que se diferencian por el valor positivo o negativo del ángulo ψ . Cada punto (ϕ , ψ) en el diagrama representa a un aminoácido de la cadena polipeptídica³⁴, como se muestra a continuación en la figura 10.

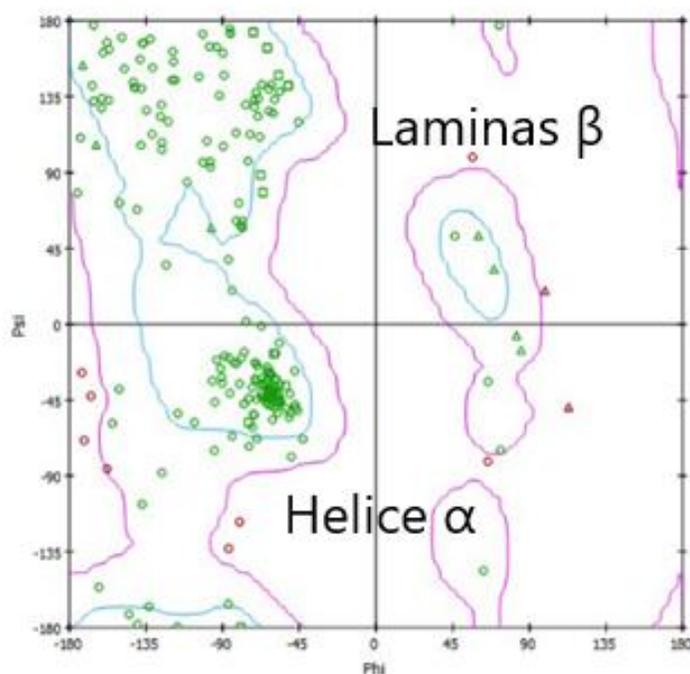


Figura 10. Imagen modificada de un ejemplo representativo del Diagrama de Ramachandran⁴⁰.

2.12 Dinámica Molecular

La dinámica molecular es una simulación computacional, basada en los principios físicos de los átomos y las moléculas³⁵, permite analizar el comportamiento o evolución de un sistema (físico, químico o biológico) a través del tiempo³⁶. Se establece un periodo de tiempo determinado para la interacción entre los átomos y las moléculas. Las trayectorias de los átomos y las moléculas vienen determinadas por las leyes de Newton y las fuerzas entre átomos y las moléculas vienen definidas por el campo de fuerza aplicado³⁵.

Operacionalmente, es un método que genera las trayectorias de un sistema compuesto de N partículas por integración numérica directa de las ecuaciones de movimiento de Newton (Ley de la fuerza y aceleración y Ley de acción y reacción)³⁴, en las que se aplica en cada partícula presente en el sistema de estudio para calcular las fuerzas que actúan en ellas y poder determinar la posición que tendrá la partícula en la dinámica a lo largo del tiempo.

2.12.1 Root Mean Square Derivation (RMSD)

El RMSD es una medida utilizada para evaluar la similitud o diferencia entre dos estructuras moleculares; esto se puede interpretar de acuerdo con el valor de RMSD que se tenga, si lo que se tiene es un valor bajo indica que existe una mayor similitud en las estructuras, pero si este valor es muy alto entonces existe diferencia en las estructuras.

Sin embargo, el RMSD no solo nos indica si las estructuras que estamos evaluando son similares, entrando en el contexto de la dinámica molecular se van evaluando los valores de RMSD en donde observamos los desplazamientos posicionales de los átomos en un tiempo determinado (puede medirse en picosegundos o nanosegundos) como por ejemplo los carbono α en una proteína utilizando las estructuras iniciales y la media de cada trayectoria como estructura de referencia³⁷ (figura 11).

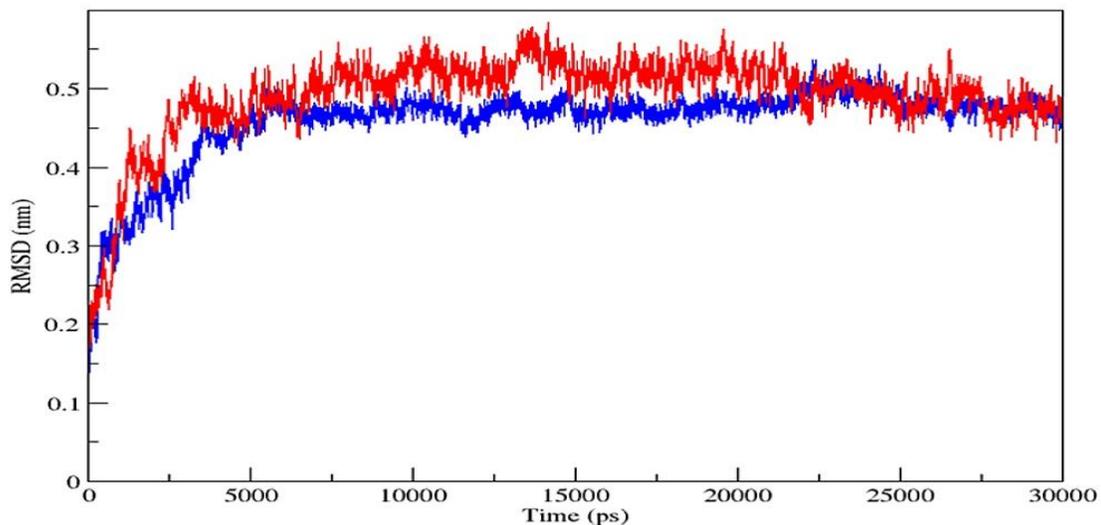


Figura 11. Ejemplo de gráfico de RMSD (nm) con respecto al tiempo (ps)⁴¹.

2.12.2 Root Mean Square Fluctuation (RMSF)

Esta es una medida numérica similar a RMSD, pero en lugar de indicar las diferencias de posición entre estructuras completas a lo largo del tiempo, RMSF es un cálculo que mide la desviación promedio de una partícula a lo largo del tiempo³⁸, es decir la fluctuación atómica explica el nivel de flexibilidad de una proteína durante una simulación en dinámica molecular³⁹, estos valores se miden utilizando la distancia medida en Å para determinar que tanto se desvían los átomos, esto se puede visualizar en la figura 12.

Si tenemos fluctuaciones más pronunciadas entre los átomos, nos indica mayor movimiento o flexibilidad en la proteína, en el caso contrario de no tener fluctuaciones tan pronunciadas los átomos se mantienen estables.

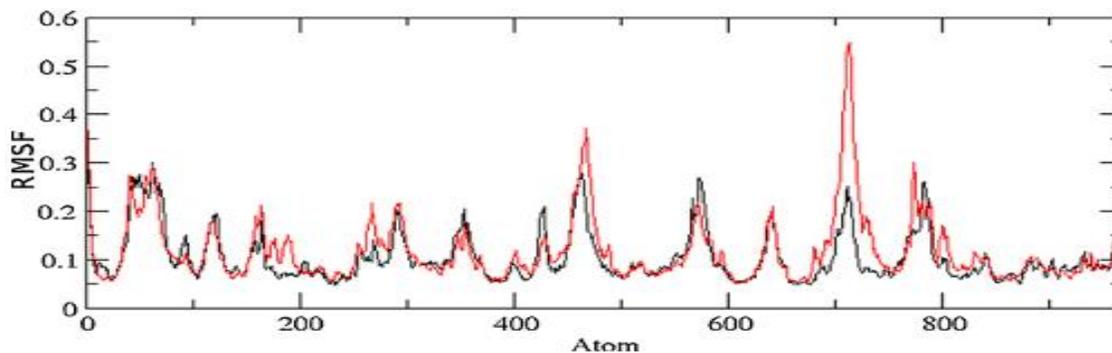


Figura 12. Ejemplo de gráfico de RMSF (Å) con respecto al número de átomos que fluctúan⁴².

2.12.3 Radio de Giro

El radio de giro (R_g) se define como la distribución de átomos de una proteína alrededor de su eje. La longitud que representa la distancia entre el punto cuando gira y el punto donde la transferencia de energía tiene el efecto máximo da R_g . El cálculo de R_g y los cálculos de distancia son los dos indicadores más significativos que se utilizan ampliamente para predecir la actividad estructural de una proteína cuando está relacionada con la interacción con un ligando ya que cuando un ligando se une a la proteína, se produce un cambio conformacional que modifica el radio de giro. La compacidad de una proteína se determina con un valor R_g menor en cambio si este valor aumenta la proteína se va deformando³⁹(figura 13).

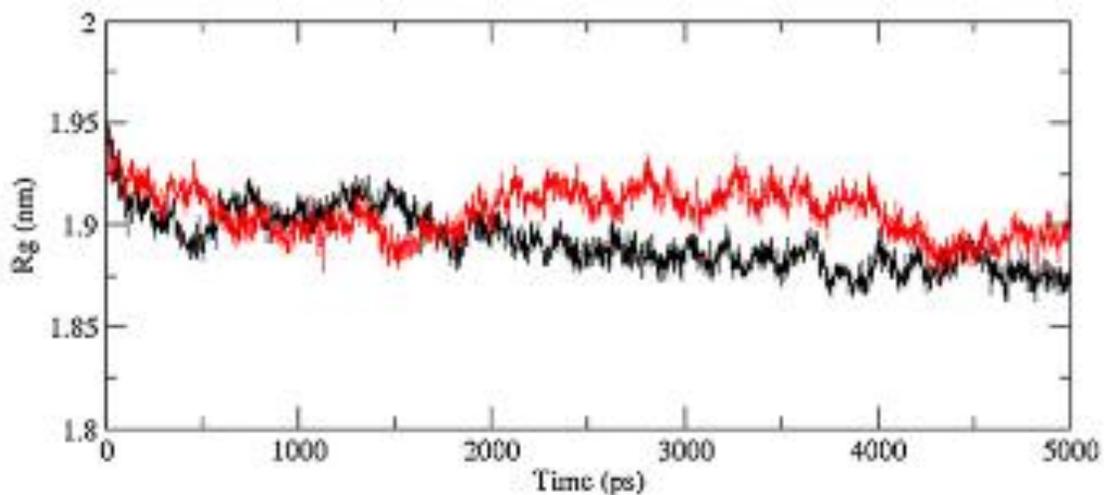


Figura 13. Ejemplo de gráfico de Radio de giro (nm) con respecto al Tiempo en (ps)⁴².

III. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas, hemos sido testigos de la creación de nuevas moléculas para la elaboración de fármacos, basándonos en los remedios utilizados por nuestros antepasados para curarse. Sin embargo, seguimos enfrentando la necesidad de buscar alternativas que mejoren nuestra salud sin generar efectos que puedan debilitar aún más nuestro organismo. Por lo tanto, se buscan mejores opciones que favorezcan el desarrollo de fármacos obtenidos mediante productos naturales, ya que estos presentan ventajas significativas en términos de sostenibilidad y una menor cantidad de efectos adversos para la salud.

El líquen cuenta con más de 700 metabolitos secundarios, de los cuales se conoce muy poco la actividad y/o comportamiento biológico que tenga cada uno de ellos. Sin embargo, el ácido lecanórico es un metabolito importante ya que se encuentra presente en la mayoría de las especies de líquenes de las que se tiene conocimiento y se ha llegado a investigar su aislamiento. Partiendo de esto, se investigó la posible actividad biológica de la molécula mediante métodos *in silico*, seleccionando aquella que tuviera un gran impacto en la población.

Desde hace varios años se ha sido testigo de los problemas de salud relacionadas con una mala alimentación, un ejemplo claro es el incremento de casos de obesidad y diabetes tanto en México como en el mundo. La pregunta que uno se haría en este punto sería ¿Cuál es relación que tienen estas dos enfermedades tan conocidas? Se conoce que es un tema del que el sistema de salud muestra una gran preocupación por las complicaciones que se tiene a largo plazo. Si no se sigue el tratamiento adecuado, una dieta balanceada y actividad física, las personas desconocen el desbalance que tienen en su cuerpo; para conocer el estado de salud es necesario que se realice la detección de los niveles de colesterol en la sangre, si estos niveles son altos pueden ocasionar problemas graves en la salud o incluso una defunción.

En el país el incremento de casos por enfermedades cardiovasculares va en aumento de manera progresiva ya que se están presentando en personas jóvenes entre los 20 y 35 años algo que es preocupante para la salud pública.

Por lo anterior es necesario redoblar los esfuerzos en la investigación sobre fármacos que mantengan los niveles de colesterol adecuados para tener una buena salud cardiovascular.

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Extraer, purificar y caracterizar el ácido lecanórico mediante métodos de extracción utilizando como material vegetal liquen (*Parmelia flaventior*); para realizar estudios *in silico* en blancos biológicos relacionados a la hipercolesterolemia que nos permita establecer la relación estructura química-actividad biológica.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Extraer el ácido lecanórico a partir de liquen (*Parmelia flaventior*) mediante algún método de extracción.
- Purificar el ácido lecanórico obtenido.
- Caracterizar el ácido lecanórico a través de técnicas espectroscópicas: IR y RMN (^1H y ^{13}C).
- Establecer los posibles blancos biológicos (Proteínas).
- Elegir los blancos biológicos para llevar a cabo los estudios.
- Realizar estudios *in silico* (Docking y Dinámica molecular) del blanco biológico seleccionado frente al ácido lecanórico.

V. METODOLOGÍA

5.2 Metodología Experimental

Sé siguió una metodología para extraer, aislar y caracterizar el ácido lecanórico, de acuerdo con el siguiente diagrama.

- a. Recolección del material vegetal (liquen).
- b. Preparar el material vegetal.
- c. Dividir el material recolectado en dos matraces etiquetados como A y B.
- d. Utilizar en el matraz A metanol y llevar a cabo un proceso de digestión. Luego en el matraz B utilizar acetona y efectuar un proceso de maceración.
- e. Observar el extracto obtenido en una placa cromatográfica.
- f. Filtrar el extracto con carbón activado y acetona fría.
- g. Realizar una columna cromatográfica para separar los componentes.
- h. Recristalizar los componentes aislados.
- i. Llevar a cabo mediante técnicas espectroscópicas la caracterización del ácido lecanórico, en IR y RMN.

5.3 Estudios *in silico* del Ácido lecanórico

Finalmente se llevó a cabo el análisis computacional para encontrar el posible blanco biológico en relación estructura química y/o actividad biológica, el cual consta de los siguientes pasos:

- a. Determinar la posible actividad biológica con PASS (Prediction of Activity Spectra for Biologically Active Substances).
- b. Realizar un consenso de proteínas y análisis en los diagramas de Ramachandran, de acuerdo con la información obtenida del PDB.
- c. Seleccionar el blanco biológico favorable para realizar los estudios *in silico*.
- d. Realizar una minimización del receptor seleccionado para ajustarse a las condiciones sin los ligandos que ayuden a la molécula.
- e. Identificar y analizar los sitios obtenidos mediante Site Finder, herramienta dentro del programa MOE.
- f. Realizar un Acoplamiento molecular del ácido lecanórico con el blanco biológico de interés con MOE.
- g. Encontrar la mejor energía de interacción Ligando-Receptor.
- h. Ejecutar una dinámica molecular del ácido lecanórico con el blanco biológico seleccionado y un fármaco de referencia.
- i. Analizar los resultados obtenidos de RMSD, RMSF y Rg de las Dinámicas realizadas.

VI. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

1.- Extracción: De acuerdo con la metodología se realizó la extracción del ácido lecanórico en dos procesos diferentes y con disolventes distintos los cuales se comparó con el compuesto de referencia del ácido lecanórico (figura 14). En el proceso de maceración se logró una extracción del ácido con un rendimiento del 0.52% que en comparación al 1% reportado ⁴⁷.

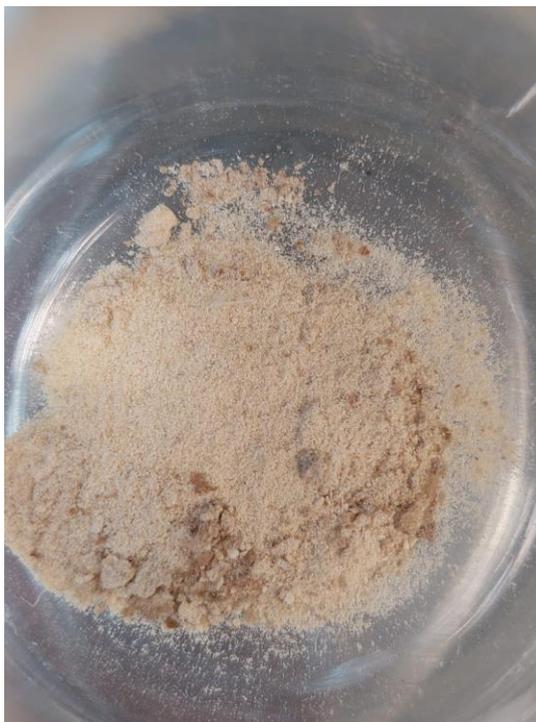


Figura 14. Compuesto sólido de Ácido Lecanórico color café claro, extraído por medio de la maceración.

Mientras que en el proceso de digestión el compuesto que se obtuvo no corresponde con el ácido lecanórico, es posible que el método alternativo que se utilizó no era el adecuado con las condiciones de extracción a la que fue sometido (figura 15). Sin embargo, se obtuvo otro componente que, de acuerdo con las condiciones experimentales donde se realizó la extracción nos arrojó un producto distinto con un rendimiento del 1.21%.



Figura 15. Compuesto sólido desconocido nacarado, extraído por medio del proceso de digestión con un rendimiento de 1.21%

En la tabla 6 se presenta algunas propiedades de ambos compuestos que fueron extraídos.

Compuesto extraído	Punto de fusión	Solubilidad	Apariencia
Ácido Lecanórico	180°C	Acetona Metanol	Polvo de apariencia amarillenta-naranja.
Desconocido	146°C	Acetona	Cristales en forma de hoja muy finos, de color aperlado.

Tabla 6. Características de los compuestos obtenidos experimentalmente.

2.- Caracterización: Posteriormente se realizó la caracterización de ambos compuestos mediante técnicas espectroscópicas como IR y RMN en DMSO, de cada compuesto extraído. Se comienza con el IR obtenido del Ácido lecanórico, en el que podemos notar las bandas más relevantes como es el caso de los ácidos carboxílicos que las podemos encontrar en un rango de 3500-2500 cm^{-1} correspondiente a los estiramientos O-H del grupo carbonilo, vibraciones C=C en 1600-1450 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} C=O- y 3000 cm^{-1} C-H como se puede mostrar en la Figura.15 IR Ácido lecanórico, estos datos se pueden confirmar en los resultados de NMR de la Tabla 7.

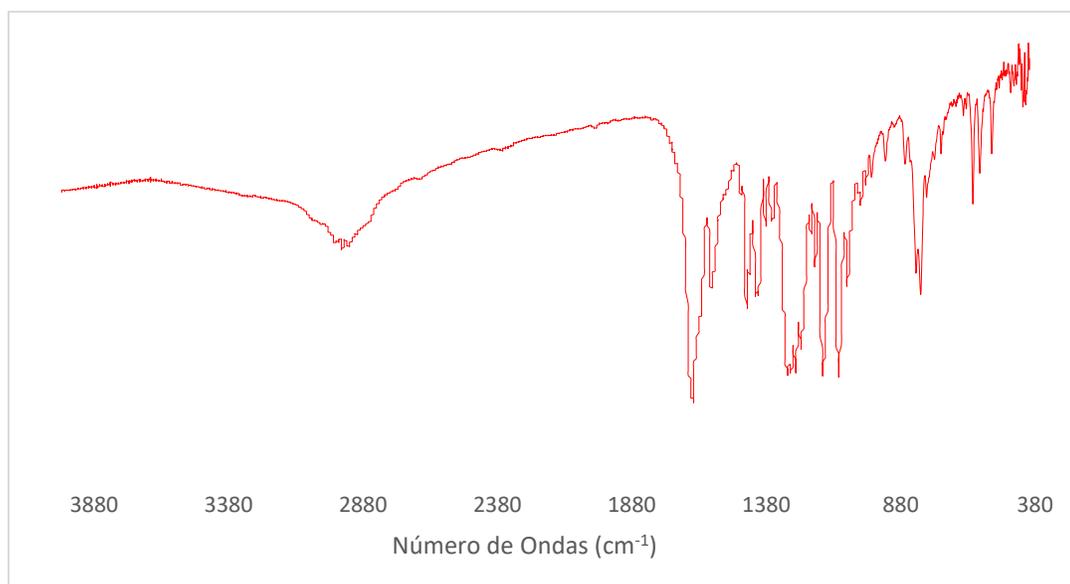


Figura 16. IR Ácido lecanórico

Resultados de ^1H NMR del Ácido Lecanórico
^1H NMR (400 MHz,) δ 10.13 (d, $J = 55.3$ Hz), 6.57 (d, $J = 82.8$ Hz), 3.74 (s), 2.64 – 2.36 (m), 2.16 (d, $J = 32.3$ Hz), 1.94 (s).

Tabla 7. Resultados de RMN ^1H para el Ácido Lecanorico.

En el IR del compuesto desconocido se observa una banda menos que es menos sobresaliente de O-H en 3399.84cm^{-1} , pero que se puede seguir siendo muy evidente, al igual que C-H en 3007.82cm^{-1} simétrico y asimétrico 2943.97cm^{-1} , $1618-1597\text{cm}^{-1}$ C=C y 1156.58cm^{-1} R-O-R (Figura 17).

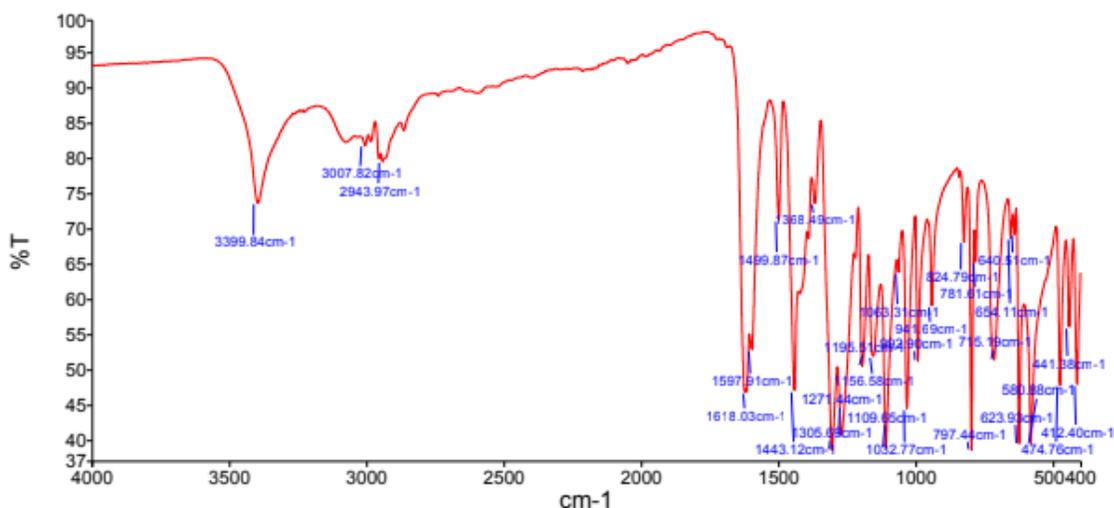


Figura 17. IR Compuesto Desconocido

En los experimentos de Resonancia Magnética Nuclear de ^1H y ^{13}C se obtuvieron los siguientes resultados descritos en la tabla 8.

Resultados de ^1H NMR del Compuesto Desconocido
^1H NMR (500 MHz, DMSO) δ 11.65 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 3.81 (d, J = 23.5 Hz, 3H), 2.32 (d, J = 37.2 Hz, 3H), 1.94 (s, 3H).
^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 171.90 (s), 161.81 (s), 160.07 (s), 138.81 (s), 110.55 (s), 108.16 (s), 103.96 (s), 51.90 (s), 23.51 (s), 8.00 (s).

Tabla 8. Resultados de RMN del Compuesto Desconocido

Con base en los resultados de los espectros de IR y RMN de ^1H y ^{13}C , se predijo la posible estructura (figura 18) del compuesto desconocido, que muestra similitud en estructura al ácido lecanórico, pero con mayores sustituyentes, esto se atribuye a las diferentes condiciones de extracción, se propone una esterificación entre el disolvente utilizado y uno de los metabolitos, extraídos del líquen, lo que ocasionó la obtención de un producto diferente.

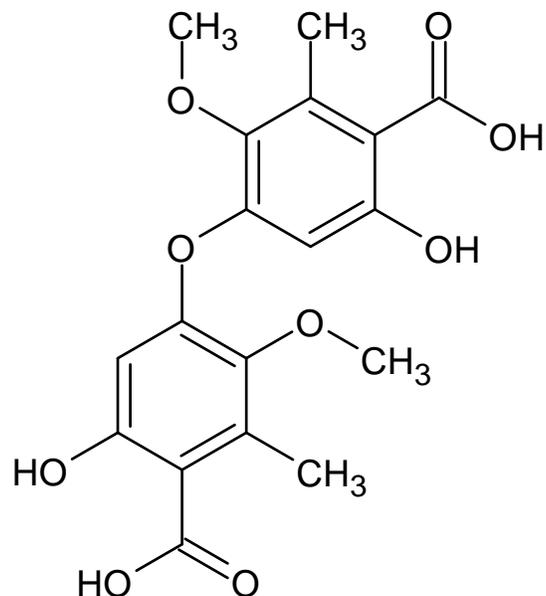


Figura 18. Posible estructura del Compuesto Desconocido.

3.- Ensayos *in silico*: Continuando ahora en la parte de los ensayos *in silico*, se investigó con ayuda del programa PASS, la posible actividad del ácido lecanórico demostrado en la tabla 9 para determinar el blanco biológico con el que se podría trabajar, obteniendo un valor favorable de Pa 0.769 como inhibidor de la síntesis del colesterol, lo que indica que puede tener una estructura similar de un fármaco ya conocido.

```
Chemical Structure File: acido lecanorico.mol
> <DRUG_LIKENESS>
0.665

> <ACTIVITY_PREDICTION>
28 Substructure Descriptors; 0 new.
287 of 900 Possible Activities at Pa > Pi.
Pa      Pi      for Activity:
0.841  0.005  Fibrinolytic
0.815  0.011  Antiseborrheic
0.769  0.022  Cholesterol synthesis inhibitor
0.722  0.007  Melanin inhibitor
0.718  0.029  Lipid metabolism regulator
0.745  0.068  Membrane integrity agonist
0.660  0.007  Keratoses actinic (solar) treatment
0.652  0.021  Topoisomerase II inhibitor
0.674  0.053  Tyrosine phosphatase inhibitor
0.628  0.014  Hypotermic
0.634  0.023  GABA C receptor agonist
0.613  0.006  Keratolytic
0.673  0.076  Phosphatase inhibitor
0.600  0.015  Spermicide
0.595  0.018  Cholesterol antagonist
0.619  0.049  Inflammatory Bowel disease treatment
0.583  0.014  5 Hydroxytryptamine release inhibitor
0.587  0.028  Antiinflammatory
0.672  0.114  Apoptosis agonist
0.569  0.012  Antipyretic
0.555  0.007  Phospholipase A2 inhibitor
0.591  0.043  Atherosclerosis treatment
0.554  0.010  Prostaglandin antagonist
0.544  0.007  Phospholipase inhibitor
0.546  0.024  Antipsoriatic
0.522  0.015  Ulcerogenic
0.538  0.032  Complement inhibitor
0.521  0.019  Antiinflammatory, intestinal
0.517  0.028  Antacid
0.511  0.024  Free radical scavenger
0.525  0.046  Dermatologic
0.503  0.025  Rheumatoid arthritis treatment
0.513  0.037  Antihypercholesterolemic
0.595  0.120  Vascular (periferal) disease treatment
```

Tabla 9. Resultados obtenidos mediante al programa PASS.

Los estudios *in silico* se desarrollaron, seleccionando a HMG-CoA reductasa, ya que es la enzima reguladora en la síntesis del colesterol como blanco biológico de estudio.

Lo que se busca es inhibirla para tratar de reducir los niveles de colesterol alto que se encuentran presentes en la sangre. De acuerdo con las enzimas encontradas en el PDB se realizó un censo para determinar la estructura con la cual se podría trabajar de acuerdo con la tabla 10.

Código PDB	Nombre de la Proteína
1HWI	COMPLEX OF THE CATALYTIC PORTION OF HUMAN HMG-COA REDUCTASE WITH FLUVASTATIN
1HWJ	COMPLEX OF THE CATALYTIC PORTION OF HUMAN HMG-COA REDUCTASE WITH CERIVASTATIN
1HW8	COMPLEX OF THE CATALYTIC PORTION OF HUMAN HMG-COA REDUCTASE WITH COMPACTIN (ALSO KNOWN AS MEVASTATIN)
1HW9	COMPLEX OF THE CATALYTIC PORTION OF HUMAN HMG-COA REDUCTASE WITH SIMVASTATIN
1HWK	COMPLEX OF THE CATALYTIC PORTION OF HUMAN HMG-COA REDUCTASE WITH ATORVASTATIN
1HWL	COMPLEX OF THE CATALYTIC PORTION OF HUMAN HMG-COA REDUCTASE WITH ROSUVASTATIN (FORMALLY KNOWN AS ZD4522)

Tabla 10. Selección de estructuras proteicas para analizar.

Posteriormente se realizó una comparación de estas estructuras mediante un consenso de proteínas (Figura 19) para poder analizar las similitudes en sus aminoácidos, mediante un proceso de comparación en su alineamiento, calculando el valor del RMSD entre las estructuras de las proteínas tridimensionales (estos valores se visualizan en la tabla 11).

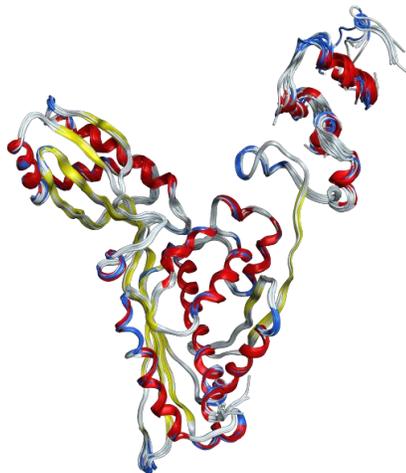


Figura 19. Alineación y superposición de las proteínas (imagen generada en MOE).

	1	5	9	13	17	21
1:1HW8		0.55	0.39	0.49	0.58	0.56
5:1HW9	0.54		0.50	0.56	0.48	0.54
9:1HWI	0.39	0.50		0.47	0.52	0.54
13:1HWJ	0.46	0.50	0.45		0.55	0.51
17:1HWK	0.53	0.46	0.49	0.48		0.57
21:1HWL	0.54	0.52	0.54	0.45	0.54	

Tabla 11. Comparación del RMSD entre las proteínas HMG-CoA reductasa encontradas en PDB.

En el caso de la HMG-CoA reductasa, obtenemos un valor de 0.484 Å, este valor es menor a 4Å, por lo cual se considera que las estructuras de las proteínas son similares, si en dado caso este valor fuera mayor a 4Å entonces tendríamos una diferencia entre las estructuras analizadas.

Así mismo, se realizó un Diagrama de Ramachadran en MOE para comprender e identificar las regiones permitidas y prohibidas en términos de energía y estabilidad conformacional de una proteína al ser flexible al plegarse (figura 20).

Este diagrama nos permitió tener un panorama de las zonas que están permitidas y prohibidas, al momento de que se llegue a su estructura tridimensional. Por lo que, si encontramos puntos dentro de las zonas permitidas de color verde y amarillo, nos indica que los aminoácidos presentes ayudan a que la proteína llegue a su forma tridimensional y sea estable, en cambio, cuando encontramos cruces rojas son los valores atípicos de los residuos.

El Diagrama de Ramachadran de la proteína 1HWK, cuando encontramos puntos en las zonas prohibidas, podemos entender que no podrían tener una estructura adecuada y estable, pero esto puede suceder en algún momento en ciertas conformaciones, por lo que no compromete la estabilidad en el plegamiento de la proteína.

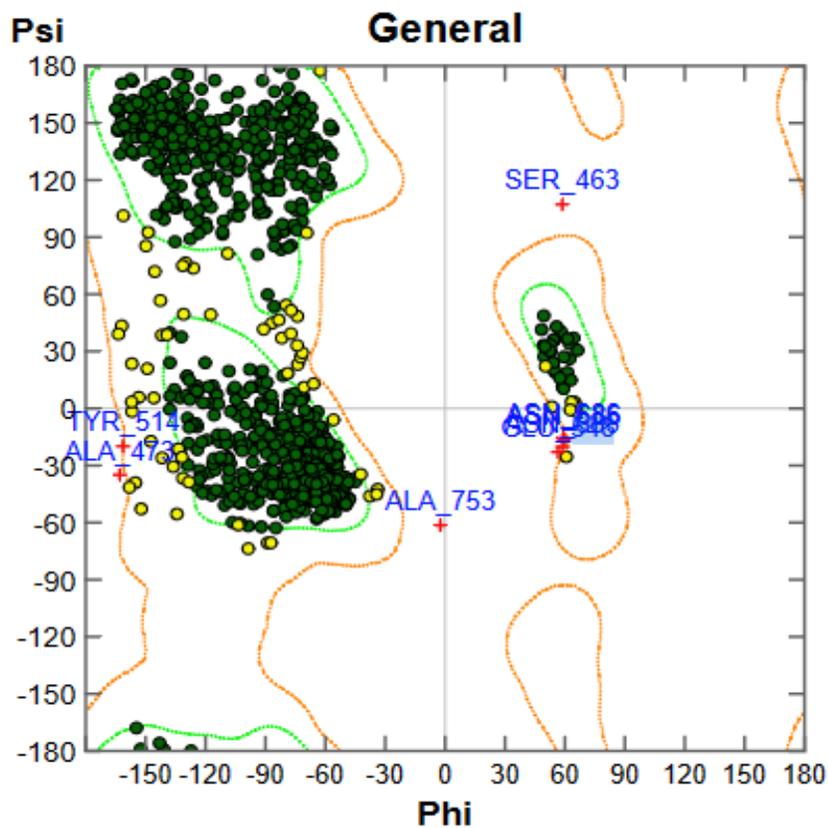


Figura 20. Diagrama de Ramachandran de la proteína 1HWK generada en MOE.

De acuerdo con la Tabla 12 se observa que se tiene un 0.32% de valores atípicos en la proteína, esta interpretación deja claro que su estructura no presentará una mayor deformidad que pueda comprometer la interacción entre la proteína y el ligando.

#	Chain	Residue	Psi	Phi	Score	Region
1	1:[1HWK.A]	SER 463	107.2	58.7	0.00017	outlier
2	1:[1HWK.A]	ALA 473	-34.9	-163.0	0.00037	outlier
3	1:[1HWK.A]	ASN 686	-20.1	58.7	0.00040	outlier
4	1:[1HWK.A]	ALA 753	-61.3	-2.5	0.00001	outlier
5	2:[1HWK.B]	TYR 514	-19.9	-161.3	0.00049	outlier
6	2:[1HWK.B]	ASN 686	-16.3	59.6	0.00040	outlier
7	4:[1HWK.D]	GLU 548	-22.9	56.5	0.00038	outlier
8	4:[1HWK.D]	ASN 686	-15.4	58.9	0.00035	outlier

Tabla 12. Valores atípicos de Residuos en la proteína 1HWK generado en MOE.

Posteriormente, se procedió a seleccionar 6 proteínas, entre las cuales se eligió el receptor con código PDB 1HWK. La razón detrás de esta elección se basó en que la investigación se llevó a cabo utilizando atorvastatina, un principio activo ampliamente conocido. Por lo tanto, se decidió examinar el comportamiento del ácido lecanórico en la proteína, tomando la Atorvastatina como referencia para el estudio.

Una vez que se obtuvo el ácido lecanórico como ligando, utilizamos el software MOE para emplear la función de Site Finder. Esta herramienta nos permitió identificar los sitios de unión, también conocidos como sitios activos, para lograr la interacción más adecuada entre el ligando y el receptor.

Para determinar el sitio óptimo de la interacción con el ligando, se investigaron en la literatura los principales aminoácidos que contribuyen a la estabilidad en dicho sitio (figura 21). Estos aminoácidos clave son **ARG590, SER565, Lys735, Leu565, Leu853, Ala856, Lys692, Asp690, Ser684, Lys691, Asp767, Val683, Leu857 y Glu559** ^{43 y 44}. Es importante mencionar que estos aminoácidos no interactúan todos al mismo tiempo ni en el mismo sitio con las estatinas. Cada estatina es única y difiere en tamaño y en la interacción con estos residuos. No obstante, la efectividad de cada estatina no depende necesariamente de estas diferencias en la interacción.

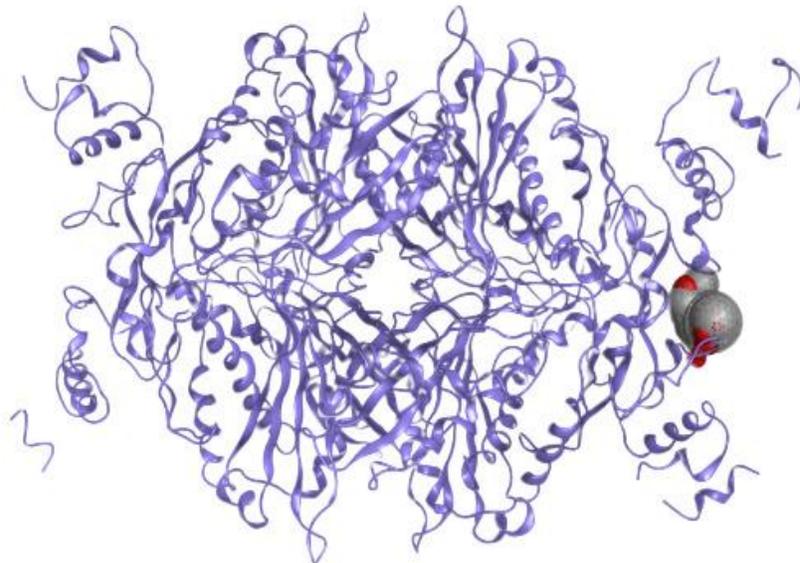


Figura 21. Selección del sitio activo, por medio del SiteFinder en el software MOE.

Una vez determinado el sitio activo, se procede a realizar un acoplamiento molecular (docking) con dos ligandos: el primero es un fármaco conocido utilizado como referencia (Atorvastatina), y el segundo es el ácido lecanórico, un metabolito de origen natural. El objetivo es comparar las energías de interacción obtenidas con ambos ligandos. Es relevante señalar que la Atorvastatina es una estatina sintética, mientras que el ácido lecanórico es un metabolito obtenido a partir de una fuente natural. De esta forma, podremos evaluar si el metabolito derivado de fuentes naturales se comporta de manera similar a una molécula sintética, tal como se predijo en el análisis PASS.

El acoplamiento molecular se realizó por un método de refinamiento inducido, de esta manera nos permite tener una mayor flexibilidad para que pueda interaccionar el ligando con el receptor. Se realizaron 300 conformaciones, seleccionando únicamente las 150 con las mejores energías de interacción con el ligando.

Posteriormente se observaron los resultados obtenidos, empezando por un “cluster” en el que se analizaron las 150 conformaciones generadas en el docking, esto ayudó a visualizar si cada una de ellas se encuentran dentro del sitio activo, como podemos ver en la Figura 22, todas las conformaciones se encuentran en el sitio activo, esto nos permite ver todas las conformaciones.

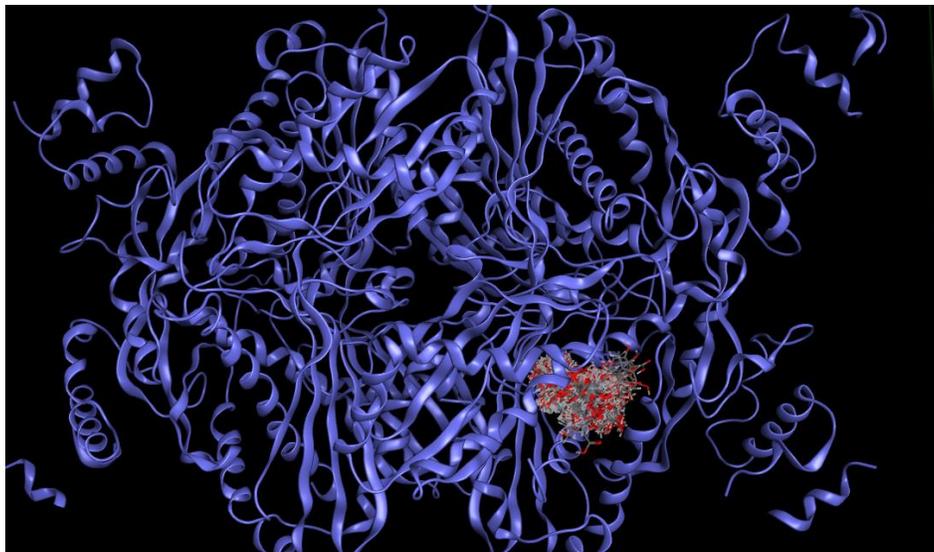


Figura 22. Cluster de las interacciones de las conformaciones del ligando en el sitio activo.

No obstante, el MOE nos proporciona un gráfico PLIF en el que nos dice los residuos del receptor que participan en la interacción con el ligando en las 150 conformaciones.

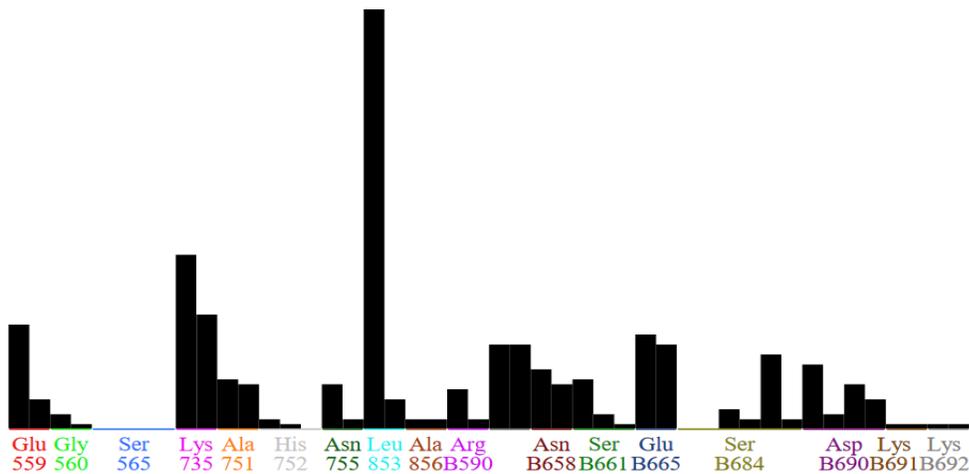


Figura 23. PLIF de los aminoácidos que interacción con el ácido lecanórico en la HMG-Coa Reductasa

Así mismo, el diagrama de la Figura 23, nos muestra las posibles interacciones que están sucediendo, pero, como se había dicho anteriormente, la literatura nos indica que existen una gran variedad de posibles residuos que interactúan con las estatinas para ayudar a inhibir la síntesis del colesterol, se analizará si el ácido lecanórico tenga un comportamiento semejante a los fármacos conocidos.

En este caso encontramos que Glu559 y Lys735 son primordiales, ya que en el caso de Glu559 puede tener interacciones para formar enlaces iónicos con los grupos cargados positivamente del ácido lecanórico, además de puentes de hidrogeno en el sitio activo. En cambio, la Lys735, forma puentes de hidrogeno con el oxígeno del grupo del ácido carboxílico y el hidrógeno que se encuentra presente en el grupo amino de la lisina.

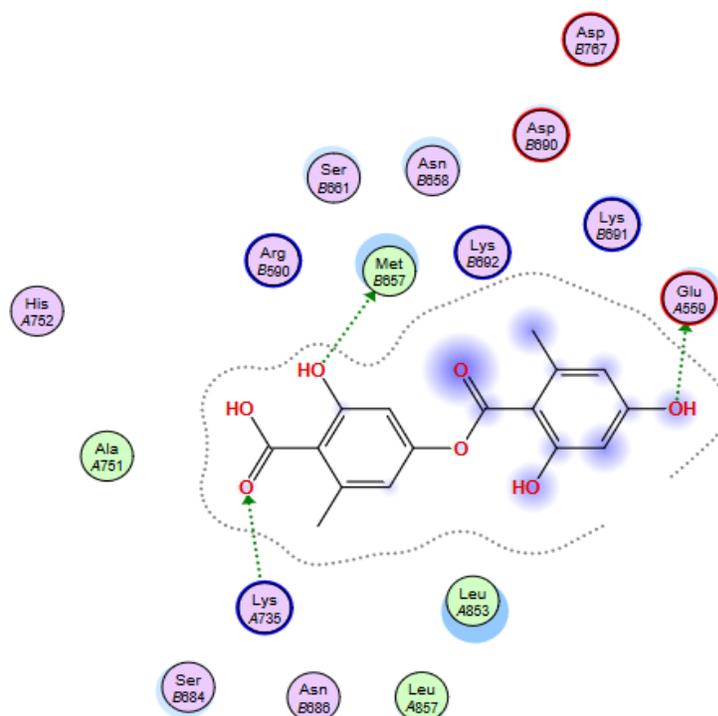


Figura 24. Interacción de los aminoácidos de HMG-Coa reductasa con el ácido lecanórico.

Otro parámetro que se evaluó en el docking fueron las energías de interacción, aunque bien si analizamos la Tabla 13, se puede el ácido lecanórico y la atorvastatina no tienen energías parecidas, pero no quiere decir que no sea un aspecto negativo, sino más bien que a pesar de que el ácido lecanórico tiene una energía de interacción muy buena tomando en cuenta que proviene de un producto natural, en comparación con la Atorvastatina que es sintetizada además de ser una molécula más voluminosa lo que hace que genere mayor cantidad de interacciones en el sitio activo.

Ligando	Energía de interacción (KJ/mol)
Ácido Lecanórico	-5.79237708
Atorvastatina	-7.67475872

Tabla 13. Energías de interacción entre el Ácido lecanórico y la Atorvastatina

Continuando con el análisis, ahora pasamos a evaluar las dinámicas moleculares en dos ligandos con la proteína. El sistema fue preparado en MOE, en donde se generó una caja de solvatación en moléculas de agua y seleccionando la sal de cloruro de sodio para representar las condiciones biológicas, en condiciones periódicas para poder obtener una simulación con mayor precisión en

la caja. Asimismo, una vez preparado el sistema, todos los átomos presentes se minimizaron y utilizando el programa NAMD se ejecutó la simulación en 100 ns.

Este programa se centra en la simulación en moléculas de gran tamaño como lo son las proteínas, ácidos nucleicos y membranas celulares (figura 25).

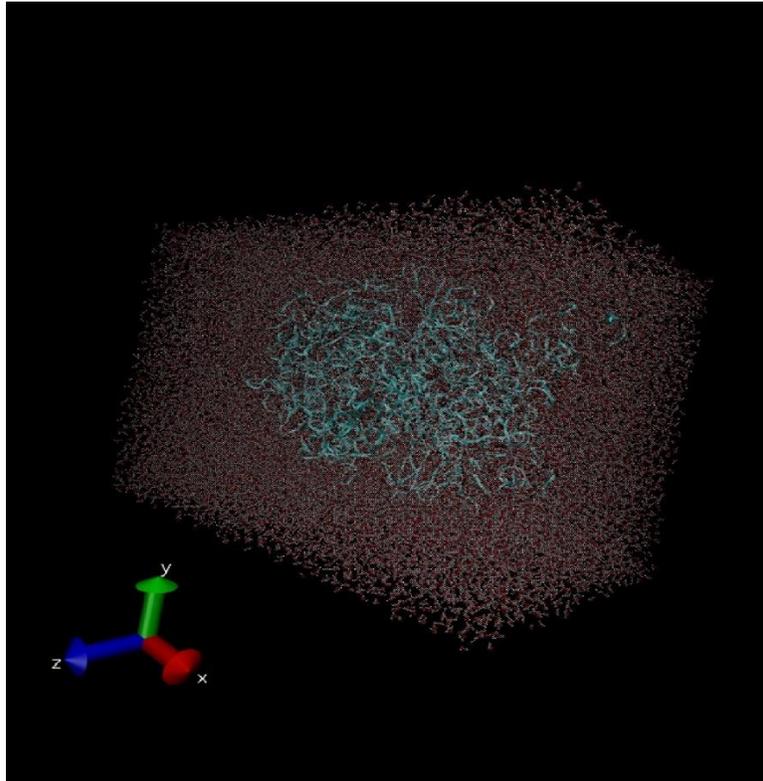


Figura 25. Demostración de la dinámica molecular de la HMG-CoA reductasa con el ácido lecanórico.

Los resultados generados de las dinámicas se analizaron mediante un gráfico en el que se evalúan las interacciones de los ligandos con la HMG-CoA reductasa.

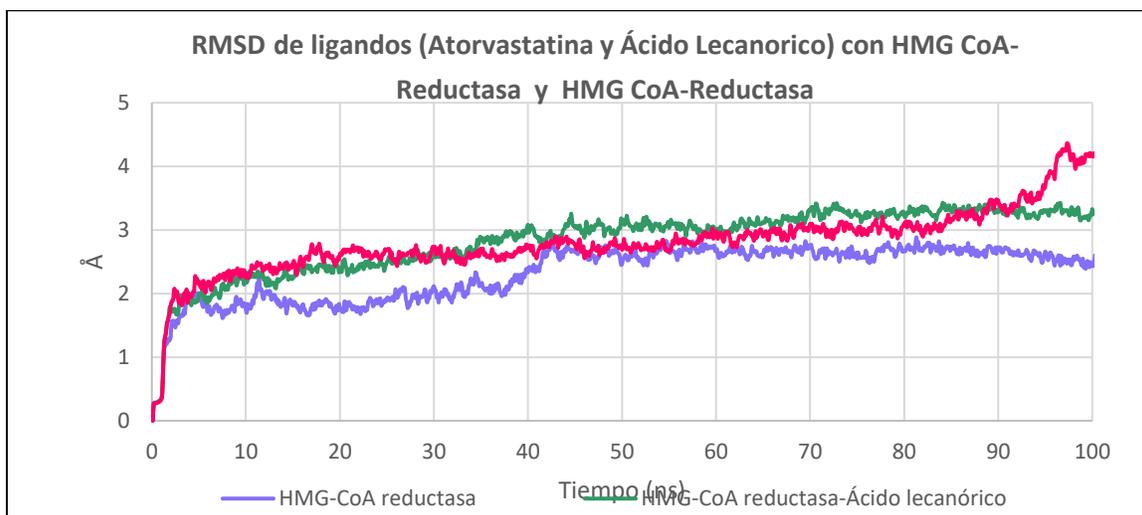


Figura 26. RMSD de los resultados obtenidos de la HMG CoA reductasa con Ácido lecanórico, Atorvastatina y sin ningún ligando.

Se realizaron dos dinámicas moleculares para analizar el comportamiento del ácido lecanórico frente a un fármaco ya conocido, como se puede observar en la Figura 26. La HMG CoA reductasa presenta un pico máximo alrededor de 2.6 Å en el que la proteína es estable a partir de 40 ns hasta pasado los 80 ns. Ahora analizando esa similitud con respecto al ácido lecanórico, en la línea verde podemos ver que la diferencia en sus fluctuaciones no es tan significativa y logra mantenerse estable a partir de 70 ns con un pico máximo en 3.4 Å, considerando que el ligando no es una molécula muy grande que logré tener muchas interacciones significativas que puedan incrementar esta distancia.

En cambio, al analizar los valores obtenidos en la Atorvastatina podemos ver que su desplazamiento tiene un comportamiento similar al que tuvo el ácido lecanórico, pero al ser una molécula más grande y con más sustituyentes, estos tienen más interacción en la que podemos ver que su pico máximo se encuentra en 3.0 Å en 60 ns como se puede observar en la línea rosa del gráfico en la Figura 26.

Sin embargo, se puede decir que la proteína durante sus interacciones logra tener pequeñas fluctuaciones como se observa en el gráfico, estas son momentáneas en ambos ligandos pero que no interfieren ya que la proteína se mantiene estable.

En la Figura 27, en la que tenemos el gráfico del RMSF, se analizó el desplazamiento promedio de los aminoácidos a partir de los carbonos α de la proteína, que están interaccionando con los

ligandos a lo largo de simulación en la dinámica molecular. En este gráfico podemos ver como en las regiones en el que se tienen valores altos de RMSF, son los aminoácidos que presentan mayor movimiento es decir tienen flexibilidad, por lo que la proteína tiene regiones en las que puede adaptarse a diferentes interacciones que se tienen con los ligandos.

Al observar su comportamiento con los aminoácidos Leu853, Met657, Glu559, Lys735, Ser565 y Arg590 en los que se puede tener una interacción, se observa que los valores de RMSF destacados en un recuadro rosa y verde, son menores por lo que hay una estabilidad en la estructura específicamente en el sitio en donde los ligandos están interaccionando por lo que el sitio no genera deformaciones cuando se están interaccionando ambos ligandos. La fluctuación es estabilizada en la interacción del ligando con los aminoácidos, por lo que la conformación de la proteína se mantiene.

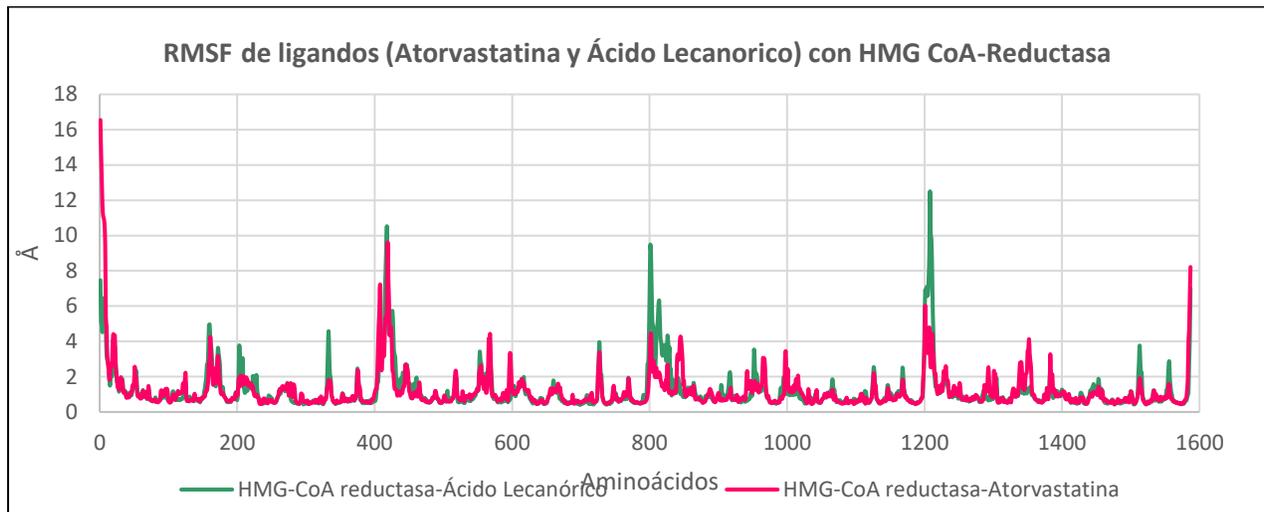


Figura 27. RMSF de HMG-CoA reductasa con Ácido lecanórico y Atorvastatina.

Finalmente analizando la gráfica mostrada en la Figura 28, se muestran los radios de giro de ambos ligandos cuando están interaccionando con la proteína, durante la simulación de la dinámica molecular en 100 ns, teniendo como referencia los valores de radio de giro cuando la proteína no cuenta con ningún ligando, para conocer si al estar la proteína en movimiento con los ligandos tuvo alguna deformación. Si algún valor en ambos ligando estuviera más elevado en comparación con los valores de la proteína sin ligando, se puede interpretar que la proteína sufrió alguna deformación en todo el tiempo de la simulación⁴⁶.

Sin embargo, inicialmente se tienen valores en 33.2 Å y al paso del tiempo, no superan los valores mayores de 34.2 Å, por lo que la proteína resulta mantener su estabilidad de forma compacta.

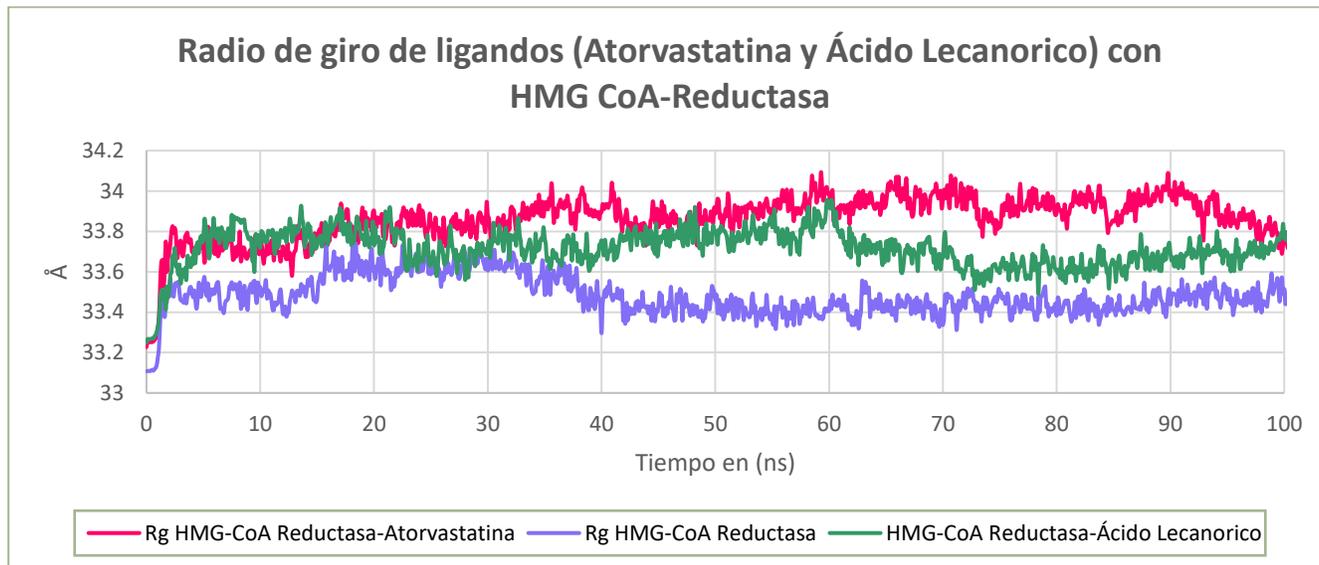


Figura 28. Radio de Giro de HMG-CoA reductasa con Ácido lecanórico y Atorvastatina.

VII. CONCLUSIONES

- 1.- La extracción y purificación del ácido lecanórico se concretó de manera adecuada bajo las condiciones experimentales determinadas con base en las propiedades fisicoquímicas que marca la bibliografía. Sin embargo, al buscar una alternativa para obtener un mayor rendimiento, se obtuvo un compuesto distinto el cual, hasta el momento, aún no se encuentra reportado.
- 2.- Los espectros obtenidos para ambos compuestos se realizaron mediante IR y Resonancia Magnética Nuclear para caracterizar ambos compuestos. Al interpretar los resultados estos corresponden a las estructuras de los compuestos.
- 3.- Así mismo, realizando los estudios *in silico* en el ácido lecanórico se puntualizó que hay una gran variedad de blancos biológicos que se pueden estudiar además de ser un posible inhibidor de la síntesis del colesterol, abarcando otros blancos de interés como fibrinolítico, antiseborreico y antiinflamatorio por mencionar algunos.
- 4.- Con respecto al estudio en su comportamiento como inhibidor de colesterol, se observa que al estar interaccionando con la proteína HMG-CoA Reductasa no hay deformaciones en ella y la interacción del ácido lecanórico resulta ser similar al de una estatina como se presenta en la atorvastatina que se estudió. Por lo que, se determina que puede actuar como posible inhibidor de la síntesis del colesterol.

VIII. PERSPECTIVAS

Actualmente se ha visto el crecimiento en áreas de investigación para nuevos fármacos, aunque sé sabe que una parte proviene de fuentes naturales, existe otra parte en la que éstos son producidos sintéticamente.

En el caso del ácido lecanórico, los estudios *in silico* indicaron que se puede determinar si pueden actuar como posible fármaco para ayudar a reducir los niveles de colesterol en el organismo, esto hace que para el futuro pueda desarrollarse de manera sustentable.

Además, producir este metabolito en específico, es necesario buscar alternativas para crear un medio adecuado y sea posible la extracción del metabolito en una mayor proporción, considerando una reducción de costos si se escala a una producción nivel industrial; ya que actualmente muchos fármacos como lo son la atorvastatina son generados mediante una síntesis química lo que puede ser costoso para las industrias.

Se espera darle continuidad a la investigación del producto desconocido que aún no se encuentra reportado, para conocer más de sus características fisicoquímicas, posibles síntesis y estudios *in silico*.

IX. REFERENCIAS

1. Vaez, M., & Davarpanah, S. J. (2021). *New Insights into the Biological Activity of Lichens: Bioavailable Secondary Metabolites of Umbilicaria decussata as Potential Anticoagulants*. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100080>
2. Goga, M., Antreich, S. J., Bačkor, M., Weckwerth, W., & Lang, I. (n.d.). *Lichen secondary metabolites affect growth of Physcomitrella patens by allelopathy*. <https://doi.org/10.1007/s00709-016-1022-7>
3. Tratamiento de dislipidemias en el adulto. Guía de Práctica Clínica: Evidencias Recomendaciones. México, CENETEC; 2022. Disponible en: <http://www.cenetec-difusion.com/CMGPC/GPC-IMSS-233-22/ER.pdf>
4. López Farré, Antonio., & Macaya Miguel, Carlos. (2009). *Libro de la salud cardiovascular del Hospital Clínico San Carlos y de la Fundación BBVA*. Fundación BBVA
5. Pak, V. v., Khojimatov, O. K., Pak, A. v., & Sh. Sagdullaev, S. (2022). Design of competitive inhibitory peptides for HMG-CoA reductase and modeling structural preference for short linear peptides. *Journal of Molecular Structure*, 1261, 132909.
6. Organización Mundial de la Salud. (17 de mayo de 2017) Enfermedades cardiovasculares. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
7. Armesto, A. R., Díaz, D. J., Peromingo, D. J., González, R. A., & Mao, C. M. (n.d.). *Lípidos, colesterol y lipoproteínas Lipids, cholesterol and lipoproteins*. <https://doi.org/10.1016/J.MOLSTRUC.2022.132909>
8. Errico, T. L., Chen, X., Martin Campos, J. M., Julve, J., Escolà-Gil, J. C., & Blanco-Vaca, F. (2013). Mecanismos básicos: Estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clinica e Investigacion En Arteriosclerosis*, 25(2), 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2013.05.003>
9. Terrados, Nicolás & Valcárcel, Gracia & Venta, Rafael. (2023). Los nuevos factores de riesgo cardiovascular y la actividad física.
10. Inhibidor de la HMG-CoA reductasa. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/inhibidor-de-la-hmg-coa-reductasa>
11. Huetos Ruiz, J. (1987). Farmacia profesional economía y gestión. In *Farmacia Profesional* (Vol. 19, Issue 10). Haymarket. <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-diferentes-estatinas-distintas-interacciones-13081501>
12. Ramos, P. M. (2015). Del concepto de estatinas de alta potencia a los efectos extralipídicos de las estatinas. *Revista Española de Cardiología Suplementos*, 15(S1), 22–27. [https://doi.org/10.1016/S1131-3587\(15\)70121-4](https://doi.org/10.1016/S1131-3587(15)70121-4)
13. *Atorvastatina*. (n.d.). Retrieved July 1, 2023, from <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13128913>
14. Vaillant Flores, Daymara I. (2014). Los líquenes, una alternativa para el control de fitopatógenos. *Fitosanidad*, 18(1), 51-57. [fecha de Consulta 13 de Junio de 2022]. ISSN: 1562-3009. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209131412009>
15. Herrera-Campos, M.Á. y R. Lücking. 2009. Líquenes. En: A. Lot y Z. Cano-Santana (Eds.) *Biodiversidad del Pedregal de San Ángel*. UNAM, Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel y Coordinación de la Investigación Científica, D.F. México. Pp. 81-94
16. De Los Ángeles Herrera-Campos, M., Lücking, R., Pérez-Pérez, R. E., Miranda-González, R., Sánchez, N., Barcenás-Peña, A., Carrizosa, A., Zambrano, A., Ryan, B. D., & Nash, T. H.

- (2014). Biodiversity of lichens in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.). <https://doi.org/10.7550/RMB.37003>
17. Büdel, B., & Scheidegger, C. (2008). Thallus morphology and anatomy. In T. Nash, III (Ed.), *Lichen Biology* (pp. 40-68). Cambridge: Cambridge University Press.
 18. Stephenson, S. L. (n.d.). *The Kingdom Fungi: The Biology of Mushrooms, Molds, and Lichens*
 19. Rankovic Branislav (2015) *Lichen Secondary Metabolites Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential*. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London.
 20. Mérillon, J.-M., Ramawat, K G, Mérillon, J.-M., Gopal, K., & Editors, R. (n.d.). *Reference Series in Phytochemistry Series Editors: Co-Evolution of Secondary Metabolites*. <http://www.springer.com/series/13872>
 21. Ácido lecanorico. CAS. (n.d.). <https://www.cas.org/es-es/solutions/cas-scifinder-discovery-platform/cas-scifinder-n>
 22. Kuklinski, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural (pp.32-37). Barcelona, España: Ediciones Omega S.A.
 23. Villar del Fresno, A. M. Farmacognosia General. España (1999): Síntesis
 24. Mauleón Casellas, D., Granados Jarque, R., & Durst, H. (1985). *Química orgánica experimental*. Editorial Reverte. <https://www-digitaliapublishing.com.pbidi.unam.mx:2443/a/103299>
 25. Voguel, A.I. A textbook of practical Organic Chemistry (pp-209-217) 3rd. Edition. Londres (1989): Longmans
 26. Cuevas Gabriel & Cortés Fernando. (2003). Introducción a la Química Computacional. (pp.15-16). Fondo de Cultura Económico: México.
 27. Vargas Aguilar, Alvaro Andre, & Fuentes Condori, Rosy. (2021). Estudios in Silico, Simulando Vida en un Entorno Virtual. *Gaceta Médica Boliviana*, 44(2), 278-279. Epub 01 de diciembre de 2021. <https://doi.org/10.47993/gmb.v44i2.263>
 28. Macías-Villamizar Víctor, Badran-Padilla Roxanna, Rodríguez-Ochoa Jessica, Silva-Roman Heber. Metabolitos secundarios, actividad biológica y etnobotánica de plantas de Santa Marta (2021). 1st Edición. Editorial Unimagdalena. Colombia.
 29. Filimonov, D., Lagunin, A., Glorizova, T., Rudik, A., Druzhilovskii, D., Pogodin, P. y Poroikov, V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3) 444-457.
 30. Lagunin, A., Stepanchikova, A., Filimonov, D., & Poroikov, V. (2000). PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 16(8), 747-748. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.8.747>
 31. Needleman, S. B., & Wunsch, C. D. (1970). A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *Journal of Molecular Biology*, 48(3), 443-453. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(70\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90057-4)
 32. Ballón Paucara, Wendy Guadalupe, & Grados Torrez, Ricardo Enrique. (2019). Acoplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Revista CON-CIENCIA*, 7(2), 55-72. Recuperado en 15 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2310-02652019000200006&lng=es&tlng=es.

33. Carrascoza, F., Zaric, S., & Silaghi-Dumitrescu, R. (2014). Computational study of protein secondary structure elements: Ramachandran plots revisited. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 50, 125–133. <https://doi.org/10.1016/J.JMGM.2014.04.001>
34. Yruela, S. A. (2014). *Bioinformática con ñ* (Alvaro Sebastián & Alberto Pascual-García, Ed.; Vol. 1). CreateSpace.
35. Yao, H., Liu, J., Xu, M., Ji, J., Dai, Q., & You, Z. (2022). Discussion on molecular dynamics (MD) simulations of the asphalt materials. *Advances in Colloid and Interface Science*, 299, 102565. <https://doi.org/10.1016/J.CIS.2021.102565>
36. Lozano-Aponte, Jorge, & Scior, Thomas. (2014). ¿Qué sabe Ud. Acerca de... Dinámica Molecular?. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 45(1), 86-88. Recuperado en 19 de marzo de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S187001952014000100010&lng=es&tlng=es.
37. Pitera, J. W. (2014). *Expected Distributions of Root-Mean-Square Positional Deviations in Proteins*. <https://doi.org/10.1021/jp412776d>
38. RMSD/RMSF Analysis (2018) <https://ctlee.github.io/BioChemCoRe-2018/rmsd-rmsf/>
39. Sneha, P., & Priya Doss, C. G. (2016). Molecular Dynamics: New Frontier in Personalized Medicine. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 102, 181–224. <https://doi.org/10.1016/BS.APCSB.2015.09.004>
40. D-Kerynd, B., & Gaviria-Duverney. (2022). Modelamiento in silico de la liasa organomercurial (MerB) de *Pseudomonas fluorescens*. *Revista Colombiana de Química*, 51(1), 96–102. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v51n1.98381>
41. Naidu Chitralla, Kumaraswamy; Yeguvapalli, Suneetha (2015): Backbone RMSD versus time plot during the 30 ns molecular dynamics simulation for Glucocorticoid Receptor (blue) and Glucocorticoid Receptor-MCDF complex (red).. PLOS ONE. Figure. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109185.g005>
42. Kumar, A., & Purohit, R. (2012). Computational screening and molecular dynamics simulation of disease associated nsSNPs in CENP-E. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 738–739(1), 28–37. <https://doi.org/10.1016/J.MRFMMM.2012.08.005>
43. Istvan Eva S. and Deisenhofer Johan. Structural Mechanism for Statin Inhibition of HMG-CoA Reductase. *Science*, 292(5519), 1155–1160. <https://doi.org/10.1126/science.1061020>
44. Lateef, T., Naeem, S., & Qureshi, S. A. (2020). In-silico studies of HMG-Co A reductase inhibitors present in fruits of *Withania coagulans* Dunal (Solanaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 19(2), 305–312. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v19i2.13>
45. Colesterol. <https://www.gob.mx/profeco/es/articulos/colesterol?idiom=es>
46. S. Dastmalchi, M. Hamzeh-Mivehroud, B. Sokouti, “Methods and Algorithms for Molecular Docking-Based Drug Design and Discovery (Advances in Chemical and Materials Engineering)”, IGI Global, Ed 1, 2016.
47. Reginensi, S., Martínez, I., Ramírez, A., Velázquez, A. M., Abrego, V., Camacho, B., López-Castañares, R., & Angeles, E. (n.d.). *Antibacterial activity of lecanoric acid isolated from *Parmelia flaventior**.

X. ANEXOS

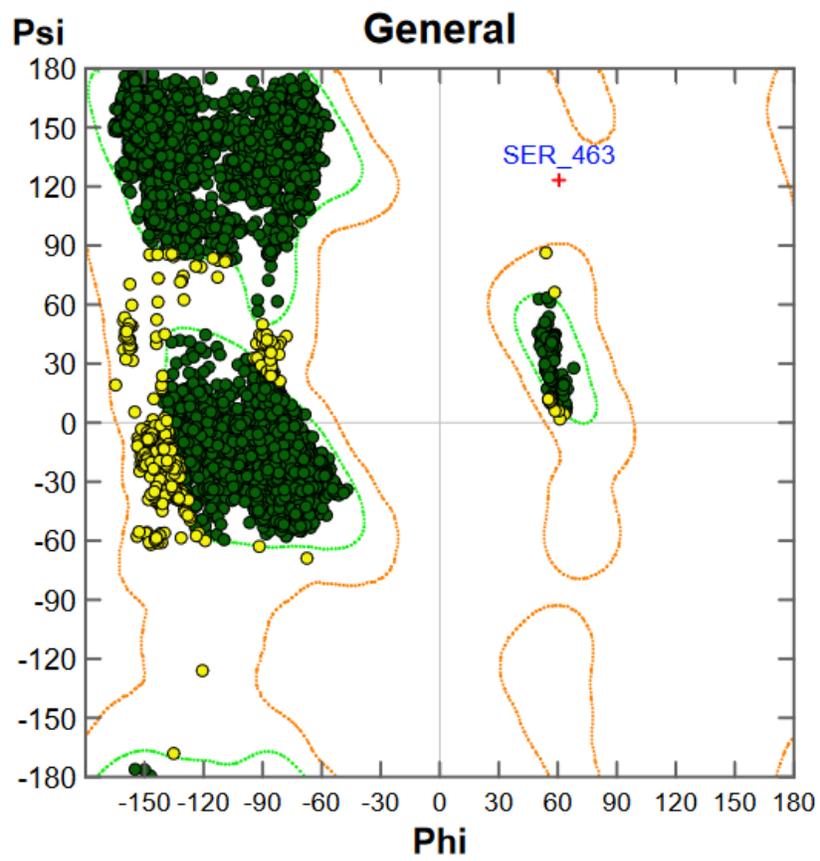


Figura 29. Diagrama de Ramachadran de las proteínas analizadas de HMG CoA reductasa

NMR (400 MHz) δ 10.13 (d, $J = 55.3$ Hz), 6.57 (d, $J = 82.8$ Hz), 3.74 (s), 2.64 – 2.36 (m), 2.16 (d, $J = 32.3$ Hz), 1.94 (s).

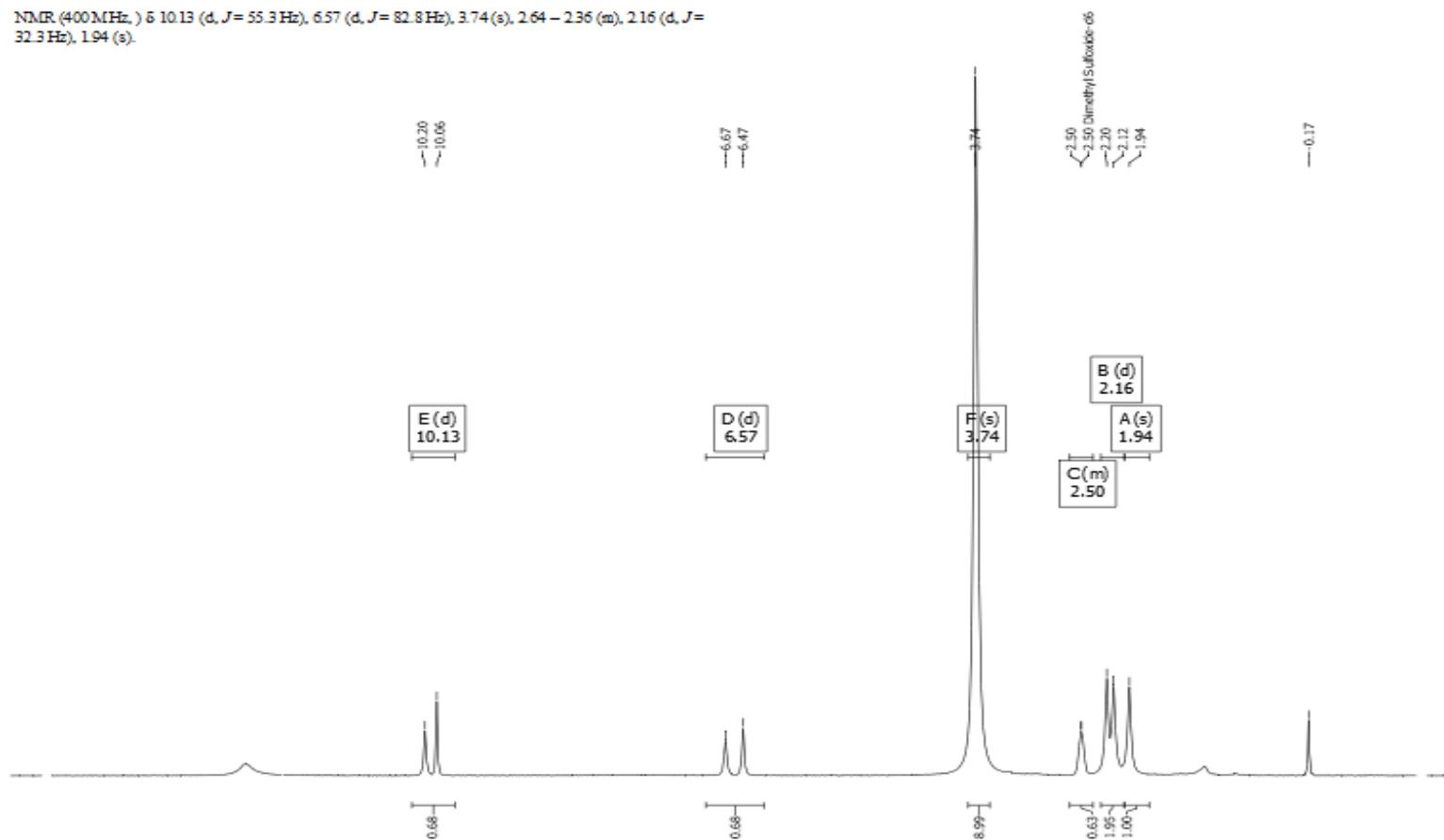


Figura 30. RMN H^1 del Ácido Lecanórico

SLR-desnocio-15122022

¹H NMR (500 MHz, DMSO) δ 11.65 (s, 1H), 10.09 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 3.81 (d, *J*=23.5 Hz, 3H), 2.32 (d, *J*=37.2 Hz, 3H), 1.94 (s, 3H).

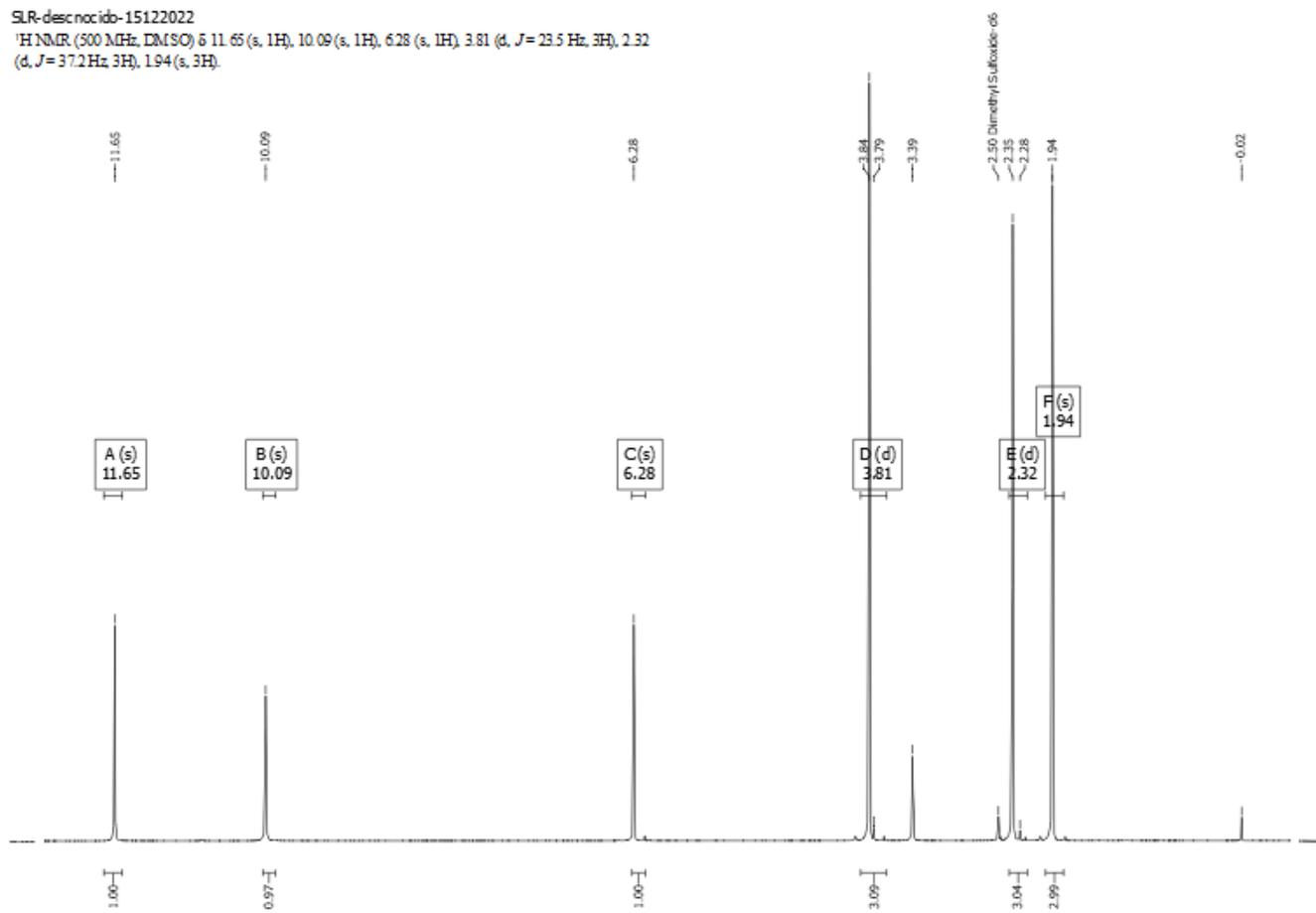


Figura 31. RMN ¹H del Compuesto Desconocido.

SLR-desconocido-15122022

^{13}C NMR (126 MHz, DMSO) δ 171.90 (s), 161.81 (s), 160.07 (s), 138.81 (s), 110.55 (s), 108.16 (s), 103.96 (s), 51.90 (s), 23.51 (s), 8.00 (s).

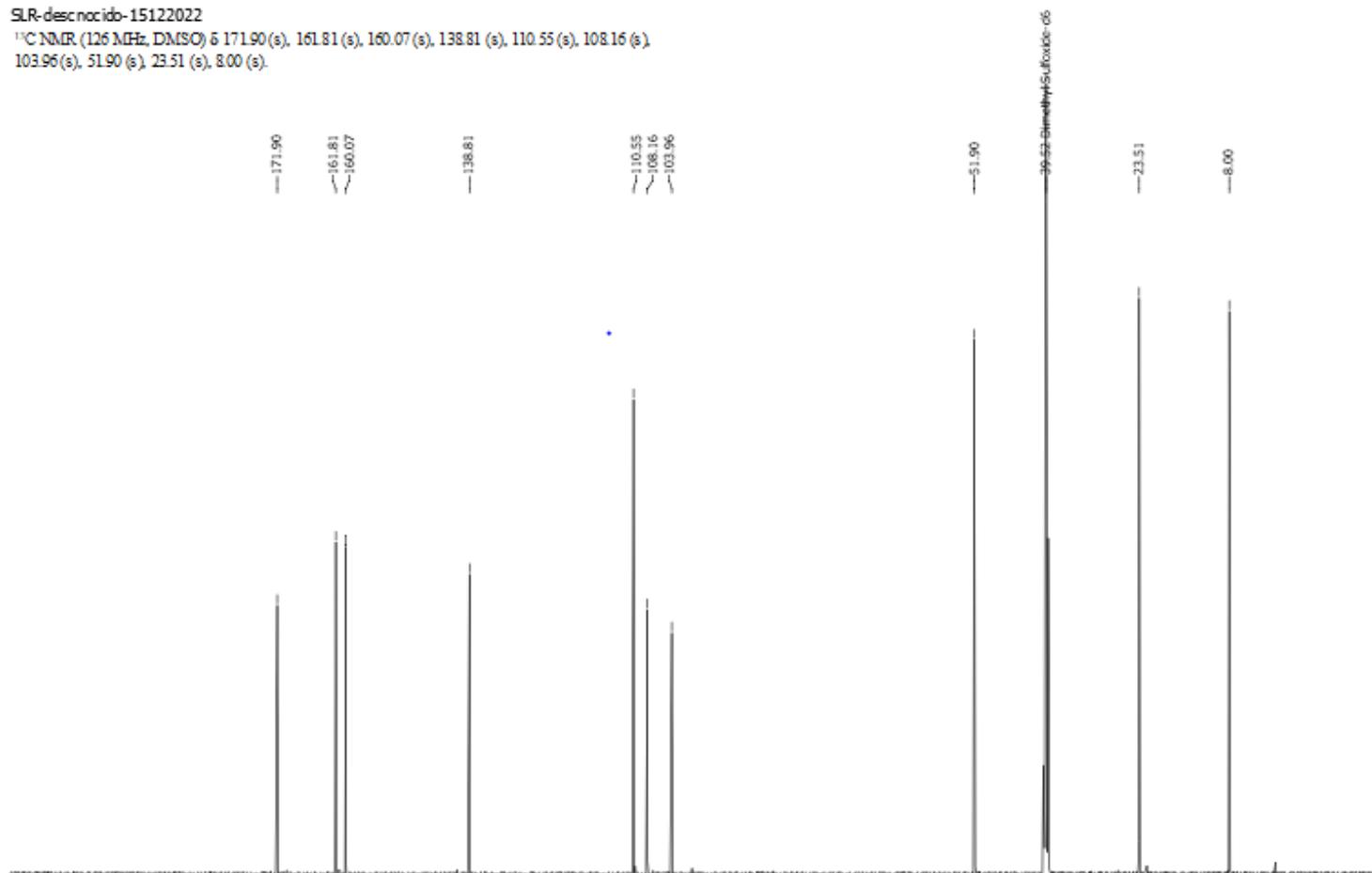


Figura 32. RMN ^{13}C del Compuesto Desconocido